

MELEK YANAŞIK

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2018



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

(DOKTORA TEZİ)

**KAN MERKEZİNE BAŞVURAN BAĞIŞÇILARDA
RHD GENOTİPLERİNİN DAĞILIMI**

MELEK YANAŞIK

**DANIŞMAN
PROF. DR. FATMA SAVRAN OĞUZ**

**TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIBBİ BİYOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2018

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Programında Doktora öğrencisi Melek YANAŞIK tarafından Prof. Dr. Fatma SAVRAN OĞUZ'un danışmanlığında hazırlanan "**Kan Merkezine Başvuran Bağışçılarda RhD Genotiplerinin Dağılımı**" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 09/02/2018 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.



Jüri Başkanı (Danışmanı)
Prof. Dr. Fatma SAVRAN OĞUZ
İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Jüri

Prof. Dr. Sevgi KALAYOĞLU BEŞİŞİK
İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi
Hematoloji Anabilim Dalı

Jüri

Prof. Dr. Filiz AYDIN
İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Jüri

Prof. Dr. İlhan YAYLIM
İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar
Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü
Moleküler Tıp Anabilim Dalı

Jüri

Doç. Dr. Jülide TOZKIR
Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
İmmünoloji Anabilim Dalı

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Melek YANAŞIK(İmza)



İTHAF

Rahmetli Biricik Anneme
“Koşulsuz Sevmeye”
ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Yoğun iş ortamında sabırla benim çalışmalarımı tamamlamamı bekleyen tez danışmanım Prof. Dr. Fatma Savran Oğuz'a, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda sevecen bir ortam ve olanaklar sağlayan Prof. Dr. Filiz Aydın'a, tezimin gelişmesinde motivasyonumu artıran, ruhani ve fiziki ortam desteği sağlayan Kan Merkezi Sorumlusu Hocam Prof. Dr. Sevgi Kalayoğlu-Beşışık'a, yaşantım ve tezim için yol göstermiş Hocam Prof. Dr. Gülyüz Öztürk'e, tez olgularımı toplamam sırasında tarifsiz gayret gösteren her bulduğumuz olguda benimle eş heyecanlanan 12 yıllık çalışma arkadaşım Mukadder Huslu'ya, zorlu tez aşamalarında beni rahatlatan sohbet ve çay ortamı için İstanbul Tıp Fakültesi Kan Merkezi çalışma arkadaşlarıma ve tabii ki başhemşiremiz, arkadaşım Ülkü Yüksel'e, zaman kavramsız desteklerini sunan Dr. Sonay Temurhan'a ve Dr. Sebahat Usta'ya, laboratuvar çalışmalarında arkadaşlık ve çalışma ortaklığı sunan Ferhat Taylan'a, istatistik değerlendirmeleri ile tezime katkıda bulunan Dr. Hayriye Şentürk Çiftçi'ye, İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı çalışanlarının tümüne ve güzel fotoğraflar için arkadaşım Ayşe Özçelik'e,

Yaşamımı yönlendiren kimliğimi etkileyen öğretmenlerime, yaşamıma bir şekilde dokunan benim güzeli hissetmemi sağlayan her dokuya, her canlıya

Tüm zorluklara rağmen akademik yaşama tutunmaya yönlendiren Anneme ve bana annemden kalan herşeyim Aileme benimle oldukları için

teşekkür ederim

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 40636

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|------|
| TEZ ONAYI | İİ |
| BEYAN..... | İİİ |
| İTHAF..... | İV |
| TEŞEKKÜR..... | V |
| İÇİNDEKİLER | VI |
| TABLolar LİSTESİ..... | İX |
| ŞEKİLLER LİSTESİ | Xİ |
| SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ | Xİİİ |
| ÖZET | XİV |
| ABSTRACT..... | XV |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ..... | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 4 |
| 2.1. Kan Grubu Antijenleri | 4 |
| 2.2. Rh Sistemi..... | 4 |
| 2.2.1. Rh Tarihçesi | 6 |
| 2.2.2. Major Antijenleri..... | 7 |
| 2.2.3. Terminoloji..... | 7 |
| 2.2.4. Sıklık | 9 |
| 2.2.5. Biyokimya ve Moleküler Genetik..... | 9 |
| 2.3. D Antijeni (Rh1, Rh ⁰) | 17 |
| 2.4. Varyant D..... | 18 |
| 2.4.1. Varyant D Fenotipinin Oluşumu..... | 20 |
| 2.5. D Antijenin Klinik Önemi | 25 |
| 2.6. RhD Testleri..... | 28 |
| 2.7. C/c ve E/e Antijenleri RH2, RH4, RH3, RH5) | 28 |
| 2.8. Rh Sistemi Antikorları | 30 |
| 2.9. Jel Santrifügasyon ve Kolon Agglütinasyon Yöntemi..... | 31 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM..... | 34 |
| 3.1. Bireyler | 34 |
| 3.2. Yöntem..... | 34 |

| | |
|---|----|
| 3.2.1. Periferik Venöz Kan Alımı | 34 |
| 3.2.2. Major Kan Grubu Tayini..... | 34 |
| 3.2.3. ABO /RhD Test Çalışması..... | 35 |
| 3.2.3.1. Kan Grubu Testlerinin Yorumu | 36 |
| 3.3. Zayıf D Fenotipin Saptanması | 37 |
| 3.3.1. IAT ile Zayıf D Doğrulama Testi | 37 |
| 3.3.2. Testin Yapılışı | 38 |
| 3.3.3. Testin Yorumlanması..... | 38 |
| 3.4. Rh Altgrupların Saptanması..... | 39 |
| 3.5. Direkt Coombs Testi | 39 |
| 3.6. DNA İzolasyonu | 39 |
| 3.7. Polimerize Zincir Reaksiyonu (PZR)..... | 39 |
| 3.7.1. PZR Reaksiyon Karışımı | 40 |
| 3.7.2. PZR Programları | 40 |
| 3.7.3. Agaroz Jelin Hazırlanması | 41 |
| 3.7.4. PZR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroferezinde Görüntülenmesi | 41 |
| 3.7.5. PZR Testlerinin Yorumu..... | 42 |
| 3.8. İstatiksel İncelemeler | 44 |
| 4. BULGULAR..... | 45 |
| 4.1. Bağışçıların Demografik Bilgileri..... | 45 |
| 4.2. Bağışçıların Major Kan Grubu Dağılımı | 45 |
| 4.2.1. Bağışçıların RhD Kan Grubu Dağılımı..... | 46 |
| 4.3. Çalışma Grubu Bulguları | 47 |
| 4.4. Varyant D Genotiplerin Dağılımı | 49 |
| 4.4.1. Varyant D Genotiplerinin Major Kan Gruplarına Dağılımı..... | 50 |
| 4.4.2. Zayıf D Tip 1..... | 53 |
| 4.4.3. Zayıf D Tip 2..... | 54 |
| 4.4.4. Zayıf D Tip 3..... | 55 |
| 4.4.5. Zayıf D Tip 5..... | 56 |
| 4.4.6. Zayıf D Tip 11..... | 57 |
| 4.4.7. Zayıf D Tip 15..... | 58 |
| 4.4.8. DVI Tip 3 | 59 |
| 4.4.9. DVa İlişkili Genotipler..... | 60 |

| | |
|---|----|
| 4.4.10. DAU (0, 1, 2, 3) | 61 |
| 4.4.11. DFR | 62 |
| 4.4.12. Tanımlanamayan Varyant Fenotipli Bağışçılar | 63 |
| 4.5. Bağışçıların Rh Alt Grup Dağılımları | 64 |
| 5. TARTIŞMA | 70 |
| KAYNAKLAR | 79 |
| HAM VERİLER | 83 |
| ETİK KURUL KARARI | 88 |
| İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI..... | 90 |
| ÖZGEÇMİŞ | 91 |



TABLOLAR LİSTESİ

| | |
|--|----|
| Tablo 2-1: Rh sistemi antijenleri | 5 |
| Tablo 2-2: Sekiz Rh haplotipinin İngiliz, Nijerya ve Çin popülasyonlarındaki sıklığı | 8 |
| Tablo 2-3: Alloanti-D üretimiyle ilişkili bazı D varyant fenotipleri | 19 |
| Tablo 2-4: Varyant D fenotipleri ile ilişkili Rh düşük sıklıkta antijenler | 19 |
| Tablo 2-5: Bazı Rh antijenlerinin ve parsiyel D fenotiplerinin moleküler temeli | 23 |
| Tablo 2-6: Klinik önemi olan kan gruplarında rölatif antijenite* | 27 |
| Tablo 3-1: Jel santrifügasyon / kolon agglütinasyon yöntemi ile RhD fenotipi belrilemede kullanılan antikorlar | 35 |
| Tablo 3-2: ABO kan grubu reaksiyonlarının değerlendirilmesi | 36 |
| Tablo 3-3: RhD fenotipin direkt kan gruplama testi sırasında değerlendirilmesi..... | 37 |
| Tablo 3-4: IAT ile zayıf D doğrulama testinde kullanılan antikorlar | 38 |
| Tablo 3-5: IAT ile zayıf D doğrulama testi sonrası sonuçların değerlendirilmesi | 38 |
| Tablo 3-6: Zayıf D ve parsiyel D tiplendirme için PZR testinde kullanılan program | 41 |
| Tablo 4-1: İstanbul Tıp Fakültesi Kan Merkezi'ne Ocak 2011-Şubat 2017 döneminde başvuran tüm bağışçıların yaş gruplarına dağılımı | 45 |
| Tablo 4-2: Major kan gruplarının İstanbul Tıp Fakültesi Kan Merkezi popülasyonundaki dağılımı | 46 |
| Tablo 4-3: İstanbul Tıp Fakültesi Kan Merkezi bağışçılarının ve beyaz ırktan insanların ABO kan grup sıklığının karşılaştırılması | 46 |
| Tablo 4-4: İstanbul Kan Merkezi bağışçılarının RhD dağılımı. | 47 |
| Tablo 4-5: İstanbul Tıp Fakültesi Kan Merkezi bağışçılarının major kan grubu dağılımı | 47 |
| Tablo 4-6: İstanbul Tıp Fakültesi Kan Merkezi'nde varyant D fenotipindeki bağışçıların major kan grubu dağılımı..... | 47 |
| Tablo 4-7: Çalışmamızdaki bağışçıların tanımlatıcı özelliklerinin dağılımları | 48 |
| Tablo 4-8: Çalışmamıza katılan kan bağışçılarının genotip dağılımları | 50 |
| Tablo 4-9: Varyant D genotiplerinin kan gruplarına göre dağılımları..... | 51 |
| Tablo 4-10: Çalışmamızda elde ettiğimiz zayıf D / parsiyel D genotip dağılımı sonuçlarının Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yapılan çalışma ile karşılaştırılması | 52 |

| | |
|--|----|
| Tablo 4-11: Çalışmamızda elde ettiğimiz zayıf D Tip 1 dağılımı sonuçlarının Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi çalışması ve Almanya'da yapılan iki çalışma ile karşılaştırılması..... | 52 |
| Tablo 4-12: Çalışmamızda elde ettiğimiz zayıf D Tip 2 dağılımı sonuçlarının Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi çalışması ve Almanya'da yapılan iki çalışma ile karşılaştırılması..... | 53 |
| Tablo 4-13: Çalışmamızda zayıf D tip 1 olarak tespit edilen bağışçıların özellikleri | 54 |
| Tablo 4-14: Çalışmamızda zayıf D Tip 2 genotipi tespit edilen altı bağışçının özellikleri | 55 |
| Tablo 4-15: Zayıf D tip 3 olduğu tespit edilen iki bağışçının özellikleri | 56 |
| Tablo 4-16: Çalışmamızda zayıf D tip 5 olarak tespit edilen bağışçının özellikleri..... | 57 |
| Tablo 4-17: Çalışmamızda Zayıf D tip 11 olarak tespit edilen bağışçıların özellikleri.. | 58 |
| Tablo 4-18: Çalışmamızda zayıf D tip 15 olarak tespit edilen kan bağışçıları..... | 59 |
| Tablo 4-19: Çalışmamızda parsiyel D ^{VI} tip 3 olarak tespit edilen bağışçının özellikleri. | 60 |
| Tablo 4-20: Parsiyel DVa tip ile ilişkili bir genotipte tespit edilen üç bağışçının özellikleri | 61 |
| Tablo 4-21: Çalışmamızda parsiyel DAU-0, 1, 2, 3 olarak tespit edilen bağışçının özellikleri | 62 |
| Tablo 4-22: Parsiyel DFR olarak tespit edilen bağışçıların nitelikleri | 63 |
| Tablo 4-23: Çalışmamızda genotipi belirlenemeyen varyant D fenotipli bağışçıların özellikleri | 64 |
| Tablo 4-24: Çalışmaya katılan bağışçılarda Rh alt grup ve Kell dağılımı..... | 65 |
| Tablo 4-25: Çalışmamızdaki kan bağışçılarının varyant D genotipleri ve RhCE fenotip dağılımı | 66 |
| Tablo 4-26: Cinsiyete göre kan grupları ve RhCE fenotiplerinin değerlendirilmesi..... | 67 |
| Tablo 4-27: Varyant D genotipleri ile Rh antijenlerinin ilişkisi..... | 68 |

ŞEKİLLER LİSTESİ

| | |
|---|----|
| Şekil 2-1: Rh genleri | 10 |
| Şekil 2-2: <i>RHD</i> ve <i>RHCE</i> genleri | 11 |
| Şekil 2-3: RhCE ve RhD polipeptitlerinin amino asit sekansları. | 12 |
| Şekil 2-4: RhD ve RhCE polipeptitlerinin membran içi yerleşimi | 13 |
| Şekil 2-5: Ekzonlar tarafından kodlanan membran bölgelerinin gösterildiği RhD ve RhCE polipeptit modeli | 13 |
| Şekil 2-6: Cis konumda <i>RHD</i> ve <i>RHCE</i> arasında oluşan RH gen konversiyon mekanizması | 14 |
| Şekil 2-7: Rh proteinlerini içeren iki farklı membran kompleks modeli | 15 |
| Şekil 2-8: Eritrosit membranında RhD, RhCE ve RhAG proteinlerinin yerleşimi | 16 |
| Şekil 2-9: D pozitif (üstte) ve D negatif (altta) haplotiplerin Rh genlerinin organizasyonu | 18 |
| Şekil 2-10: Zayıf D ve parsiyel D fenotiplerinin yapısal modelleri | 21 |
| Şekil 2-11: Zayıf D fenotiplerin moleküler temeli | 22 |
| Şekil 2-12: RHD ve RHCE yeniden gen düzenlenmeleri sonucu oluşan RhD ve RhCE varyantları | 23 |
| Şekil 2-13: Farklı D varyant fenotiplerinden sorumlu olan genler. | 24 |
| Şekil 2-14: RhD ve RhCE proteinlerinin membran yerleşimleri [29]..... | 30 |
| Şekil 2-15: Jel santrifügasyon / kolon agglütinasyon yönteminde reaksiyonların değerlendirilmesi | 33 |
| Şekil 3-1: Zayıf D PZR testi sonrası elde edilen reaksiyonların değerlendirilmesi..... | 43 |
| Şekil 3-2: Parsiyel D PZR testi sonrasında elde edilen reaksiyonların değerlendirilmesi | 44 |
| Şekil 4-1: Çalışma grubuna katılan varyant D fenotipindeki kan bağışçılarının cinsiyet dağılımları | 48 |
| Şekil 4-2: Çalışma grubunun kan grubu dağılımı | 49 |
| Şekil 4-3: Varyant D tanımlamalarının dağılımı | 49 |
| Şekil 4-4: Varyant D genotiplerinin sayısal ve yüzdesel olarak dağılımları | 50 |
| Şekil 4-5: Zayıf D Tip 1 genotipindeki bağışçı | 53 |
| Şekil 4-6: Zayıf D Tip 2 genotipindeki bağışçı örneği | 54 |
| Şekil 4-7: Zayıf D Tip 3 olarak tanımlanan bağışçı..... | 55 |

| | |
|--|----|
| Şekil 4-8: Zayıf D tip 5 genotipindeki bağışçı..... | 56 |
| Şekil 4-9: Zayıf D tip 11 genotipinde olan bağışçılardan biri | 57 |
| Şekil 4-10: Zayıf D tip 15 fenotipinde bağışçı | 58 |
| Şekil 4-11: Çalışmamızda tespit edilen parsiyel D ^{VI} tip 3 genotipli (CcD ^{VI} ee fenotipli) bağışçı. | 60 |
| Şekil 4-12: Parsiyel DVa ile ilişkili bir genotipte ve CcD ^{Va} ee fenotipindeki bağışçı | 61 |
| Şekil 4-13: Parsiyel DAU-0, 1, 2, 3 olarak tanımlanan bağışçı..... | 62 |
| Şekil 4-14: Parsiyel DFR olarak tespit edilmiş bir bağışçı..... | 63 |
| Şekil 4-15: Çalışma grubunda Rh alt grup fenotiplerinin dağılımı | 65 |
| Şekil 4-16: Varyant D tanımlamalarına göre E antijeni dağılımları..... | 69 |



SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

| | |
|------|---|
| AHG | Anti-Human Globulin |
| Ala | Alanin |
| Asn | Asparagin |
| Bç | Baz Çifti |
| C | Santigrad derece |
| CD | Farklılaşma Kümesi (Cluster of Differentiation) |
| Cys | Sistein |
| EDTA | Etilendiamintetraasetik asit |
| EIA | Enzim İmmün Assay |
| DSA | Düşük Sıklıkta Antijenler |
| HTR | Hemolitik Transfüzyon Reaksiyonu |
| IAT | İndirekt Anti-globulin Testi |
| IgA | İmmünglobulin A |
| IgG | İmmünglobulin G |
| IgM | İmmünglobulin M |
| Ile | İzolösin |
| Kb | Kilobaz |
| Leu | Lösin |
| LISS | Low Ionic Strenght Solution |
| Met | Metiyonin |
| mL | mililitre |
| Pro | Prolin |
| Trp | Triptofan |
| Tyr | Tirozin |
| PZR | Polimerize Zincir Reaksiyonu |
| RIA | Radio İmmün Assay |
| rpm | rotation per minute |
| YDHH | Yenidoğanın Hemolitik Hastalığı |
| YSA | Yüksek Sıklıkta Antijenler |
| µL | mikrolitre |

ÖZET

Yanaşık M. Kan merkezine başvuran bağışçılarda RhD genotiplerinin dağılımı. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul. 2018

RhD antijeni hemolitik transfüzyon reaksiyonları (HTR) ve yenidoğanın hemolitik hastalığı (YDHH) gelişimindeki rolü nedeniyle transfüzyon tıbbi pratiğinde önemli bir yer tutmaktadır. Bu çalışmanın amacı zayıf serolojik fenotipteki kan bağışçılarının Polimerize Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemiyle varyant D genotip dağılımını belirlemektir. Çalışma, 01.01.2011-01.02.2017 yılları arasında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Kan Merkezi'ne kan bağışığı için başvuran yaşları 20 - 52 (ortanca 35) arasında değişen 6 kadın, 61 erkek toplam 67 standart sağlıklı kan bağışıcısında yapılmıştır. Kan bağışçılarının jel santrifügasyon/kolon agglütinasyon yöntemi ile ABO-D kan grubu tayini yapılmış ve +4 şiddetinden zayıf reaksiyon veren veya D negatif olarak saptanan tüm vericiler farklı antikorlarla hem direkt test hem (IAT) ile zayıf D doğrulama testleriyle RhD yönünden test edilmiş; ayrıca RhCE fenotiplenmeleri yapılmıştır. Tüm vericilerin PZR testi ile varyant D genotipleri araştırılmıştır. Kan merkezi bağışçılarının % 84,77'si RhD pozitif iken % 15,11'i RhD negatif fenotipinde olduğu ve serolojik zayıf D ekspresyonu % 0,12 olarak saptanmıştır. Çalışma grubundaki 67 kişinin %68,7'sinde zayıf D ve %22,4'ünde parsiyel D genotipi izlenmiş; 6 (%8,9) bağışıcı tanımlanamamıştır. Çalışmamızda zayıf D Tip 15 (%26,9), Tip 11 (%14,9), Tip 1 (%13,4), Tip 2 (%9,0), Tip 3 (%3,0) ve Tip 5 (%1,5), DFR (%14,9,) DVa (%4,5), DVI tip 3 (%1,5) ve DAU (0,1,2,3) (%1,5) varlığı tespit edilmiştir. Çalışmamızda tespit edilen DFR (n=10), zayıf D Tip 2 (n=6) ve zayıf D Tip 5 (n=1) varyantları ülkemizdeki ilk genotipik olgulardır. Sonuç olarak zayıf D / parsiyel D genotip dağılımı açısından çalışmamızda elde edilen verilerle beyaz ırktaki literatür bilgileriyle farklılık, Zayıf D genotiplerin parsiyel D genotiplere oranla daha fazla gözlenmesi bakımından da benzerlik bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Kan donörleri, zayıf D, varyant D, parsiyel D, moleküler RhD tayini

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 40636

ABSTRACT

Yanasik M. Distribution of RhD genotypes in blood center donors. Istanbul University, Institute of Health Sciences, Department of Medical Biology, PhD thesis. Istanbul. 2018.

Rh antigen plays an important role in the practice of transfusion medicine due to its role in hemolytic transfusion reactions (HTR) and hemolytic disease of newborn (HDN) development. The aim of this study was to determine the variant D genotypes distribution by PCR method of serological weak D phenotypes in blood donors. In this study, blood samples of 67 (6 female - 61 male) healthy blood donors between the ages of 20 – 52 (median 35) who were admitted to Istanbul University, Istanbul Medical School Hospital Blood Center for blood donation between 01.01.2011 and 01.02.2017 were investigated. Major and RhD group blood phenotyping were performed on all donors in this study with gel centrifugation/column agglutination method and red blood cells which were RhD negative or intensity of the antigen – antibody reaction less than +4 were analysed for the weak D phenotype with indirect anti-globulin test (IAT). Also RhCE phenotyping performed. Variant D genotypes were investigated by PCR test of all donors. It was observed a frequency of 84.77% of the blood donors as RhD positive and 15.11% as RhD negative phenotype and serologically weak D expression was found 0.12%. 68.7% had weak D and 22.4% partial D genotype of 67 donors. Six cases (8.9%) were not identifiable. In our study, weak D Type 15 (26.9%), Type 11 (14.9%), Type 1 (13.4%), Type 2 (9.0%), Type 3 (3.0%), Type 5 (1.5%), DFR (14.9%) DVa (4.5%), DVI-3 (1.5%) ve DAU(0,1,2,3) (1.5%) genotypes were found. Partial DFR (n=10), weak Type 2 (n=6) and Type 5 (n=1) variants detected in our study are the first genotypic occurrences in our country. Consequently our results about distribution of variant D genotypes showed differences with studies on Caucasian people and weak D genotypes was observed more than partial D genotypes as in Caucasian people.

Key Words: Blood donors, weak D, variant D, partial D, molecular RhD typing

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 40636

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Transfüzyon tıbbının en korkulan yan etkilerinden birinin hemolitik transfüzyon reaksiyonları olduğu bilinmektedir. Akut veya geç evrede açığa çıkan bu reaksiyonlardan alıcı serumunda bulunan ve donörün eritrositleri üzerindeki antijenlerden bir veya daha fazlasına karşı gelişen antikorlar sorumlu tutulmaktadır [1]. Transfüzyon sonrası gelişen hemolitik reaksiyonların klinik şiddeti ve önemi antijenin eritrositlerdeki ekspresyon miktarı, alıcıdaki antikorun tipi ve titresi, antikorun reaksiyon gösterdiği optimum ısı, kompleman sistemini aktive etme yeteneği gibi çeşitli faktörler tarafından belirlenmektedir. Hemolitik transfüzyon reaksiyonuna yol açan antikorların bir kısmı herhangi bir eritrosit antijeni ile karşılaşmaksızın doğal olarak doğumdan birkaç ay sonra kişilerin serumunda oluşurken (Ör: anti-A ve anti B) bir grup antikorun oluşması için kişinin kendinde bulunmayan eritrosit antijenleri (Ör. Rh antijenlerine karşı gelişen antikorlar) ile uyarılması (transfüzyon, gebelik vb.) gerekmektedir [2]. Transfüzyon pratiğinde birinci grup antikorlara doğal veya izo-antikor, ikinci grup antikorlara ise allo-antikor denmektedir. Alıcılarda hemolitik transfüzyon reaksiyonu yapma potansiyeli en yüksek olan antijen ve antikorlar ABO ve Rh kan sistemine aittir. Rh sistemi içinde özellikle D antijeni sık görülüşü ve antijenik özelliğinin belirgin olması nedeni ile hemolitik transfüzyon reaksiyonları açısından yüksek risk taşıdığından ABO sistemi antijenleri ile birlikte “**major kan grubu antijenleri**” içinde yer almaktadır ve transfüzyon uygulamaları sırasında ABO ve D tiplendirmesi rutin olarak yapılmaktadır. Ayrıca transfüzyon pratiğinde hemolitik transfüzyon reaksiyonlarına yol açabilen birçok allo-antikor yenidoğanın hemolitik hastalığına (YDHH) da neden olabildiğinden klinik açıdan önem taşımaktadır.

Rh kan grubu sistemi insanda bilinen en polimorfik ve immünojenik kan grubu sistemlerinden biridir. Bu sistem içinde günümüzde 50’den fazla antijen yer almasına rağmen klinik açıdan en önemli sayılanlar **D, C, c, E ve e** antijenleridir. Eritrosit tiplendirmesi sırasında D antijeni taşıyan bireyler Rh pozitif, taşımayanlar ise Rh negatif olarak adlandırılmaktadır. Bir ünite Rh-pozitif eritrositin Rh negatif alıcılara verilmesinden sonra % 70 oranında bir allo-antikor olan anti-D gelişmektedir. Rh sisteminin diğer antijenleri ise **Rh alt grupları** olarak adlandırılmaktadır ve bu antijenlerin negatif kişilere verilmesi ile allo-antikor geliştirme olasılığı % 10’un altındadır.

Rh kan grup sistemini 1. kromozomun kısa kolu (p34-36) üzerinde bulunan iki *RHD* ve *RHCE* genleri oluşturmuştur. Bu genler birbirinden 31 ile 35 aminoasit farklılık gösteren RhD ve RhCcEe proteinlerini kodlarlar. Rh proteinleri 12 transmembran segmentten, 6 ekstrasellüler ve 5 intrasellüler ilmikten oluşan karmaşık bir polipeptittir. Proteinin transmembran segmentindeki aminoasit değişiklikleri antijenik yapının bozulmasına ve yeni antijenik bölgelerin oluşmasına yol açabilir. *RHD* genindeki mutasyonlar varyant D fenotiplerinin oluşumuna neden olmaktadır [3]. Varyant D fenotipler iki ana gruba ayrılmaktadır: D antijeninin tamamıyla ama zayıf olarak eksprese edildiği '**zayıf D**' ve D antijeninin bir kısmının eksprese edildiği hatta eksik epitop ekspresyonunun gözleendiği '**parsiyel D**' olarak tanımlanmıştır. Bu durumlarda major kan gruplama sırasında RhD antijenine rutin kan bankacılığı testlerinde kullanılan anti-D antikorları ile bakıldığı zaman beklenenden daha zayıf şiddette ya da negatif reaksiyon gözlenmektedir. Bu kişiler '**serolojik zayıf D**' olarak adlandırılmaktadır. Günümüzde 105 parsiyel D ve 147 zayıf D tipi tanımlanmıştır [4, 5].

Zayıf D fenotipindeki kişiler D antijeniyle karşılaştıkları zaman alloantikör oluşumu gözlenmesi beklenmemektedir. Beyaz ırkda en sık gözlenen zayıf D tipleri Tip 1, Tip 2 ve Tip 3 olarak (toplamda >%90) [6] gözlenmektedir. Ancak zayıf D Tip 4.2 (DAR), Tip 11, Tip 15 fenotipleri alloanti-D oluşturma potansiyelindedirler [5, 7]. Ekstrasellüler bölge mutasyonlarının daha çok gözleendiği parsiyel D fenotipleri DII-DVII arasında sınıflandırılmıştır, beyaz ırkda en sık DVI (%5) [6] olarak isimlendirilen parsiyel D tipi gözlenmektedir. Varyant D fenotipinde olan kişiler D antijeni taşıyan eritrositlerle karşılaştıkları zaman eksik epitopa karşı alloantikör geliştirebilmektedir. Bu durumun transfüzyon pratiği açısından önemi şu şekildedir: Eğer zayıf D fenotipini taşıyan kişi verici ise parsiyel D ekarte edilmediği için bu kişi de D pozitif olarak yorumlanması gerekmektedir. Aksi durumda aslında D antijeninin tüm veya bir kısım epitoplarını taşıyan bu vericiler D negatif olarak yorumlanıp bu kişilerin bağışladığı eritrositlerin D negatif alıcılara transfüzyon yapılması durumunda bu alıcılar immünize edilmekte ve D antijenine karşı alloantikör gelişimine yol açılmaktadır. Eğer zayıf D fenotipini taşıyan kişi alıcı ise ve bu durum özellikle parsiyel D fenotipine bağlı ise alıcının D negatif olarak yorumlanması gerekmektedir. Çünkü bu kişilerde eksik olan epitopa karşı alloantikör geliştirme olasılığı bulunduğu için transfüzyon pratiği açısından D negatif eritrosit almaları daha yararlı olacaktır. Dolayısıyla zayıf D tanımı günümüzde giderek

geçerliliğini kaybetmekte olup, rutin incelemede zayıf reaksiyon gösteren D antijenleri pratik olarak varyant D kabul edilmektedir.

Günümüzde rutin olarak yapılan kan bankacılığında jel santrifügasyon / kolon agglütinasyon yöntemi ile pozitif antijen-antikor reaksiyonları +1 ile +4 arasında derecelendirilebilmektedir. D pozitif eritrositler anti-D ile +4 şiddetinde reaksiyon verirler. D eritrositlerin anti-D ile +4 şiddeti dışındaki pozitif reaksiyonları zayıf D fenotipindeki kişilerin saptanmasını sağlamaktadır. Negatif reaksiyon izlenmesi ise zayıf D ve parsiyel D fenotipini ekarte ettirmemektedir. Bu kişilerde reaksiyonun antihuman globülin (IAT) ile kuvvetlendirilmesi ile (IAT ile zayıf D doğrulama testi) direkt olarak saptanmayan zayıf fenotiplerin görünür hale gelmesini sağlamaktadır. İmmünohematolojik testlerle varyant D fenotipi belirlenmekte ancak kesin bir şekilde tanımlaması yapılamadığından moleküler testlerle zayıf D / parsiyel D genotipinin belirlenmesi sağlanmaktadır.

Bu çalışmanın amacı jel santrifügasyon/kolon agglütinasyon yöntemi ile farklı anti-D antikorları kullanılarak varyant D fenotipindeki kan bağışçılarını belirlemek, bu bağışçıların RHCE fenotiplerini çalışmak, PZR (Polimerize Zincir Reaksiyonu) yöntemi ile zayıf D / parsiyel D genotiplerini belirlemek ve zayıf D/parsiyel D genotip dağılımını saptamaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kan Grubu Antijenleri

Lipid, karbonhidrat ve proteinlerden oluşan eritrosit membranı eritrositlerin etrafını sararak hücre içi ile plazma arasında bir sınır oluşturur. Bu membran eritrosit hücresi ile plazma arasındaki iyon ve metabolit dengesini sağlar. Hücre için gerekli sodyum, potasyum ve kalsiyum iyonlarının taşınmasını sağlayan pompalar ve kanalların da bulunduğu eritrosit membranı eritrositin bikonkav şeklini ve yapısal bütünlüğünü de korur [1]. Bu işlevlerin yanı sıra eritrosit membranı kan grubu antijenlerini de barındırmaktadır. Eritrosit kan grubu antijenleri eritrosit dış membranına yerleşmiş polimorfik, nesilden nesile geçen karbonhidrat veya protein yapılarıdır. Bu antijenlerin 'yüksek sıklık veya halk antijenleri' diye bilinenleri insanların tümünün eritrositlerinde bulunurken bazıları da 'düşük sıklık veya özel antijenler' olup eritrosit membranında çok nadir ekprese edilirler [8].

Kan grubu antijen ve antikorlarını tespit edebilme kan transfüzyonu pratiğinde güvenliği ve YDHH riski taşıyan hamilelerde uygun yaklaşımı bulmayı sağlamıştır. Bazı alıcılarda bireyin kendi eritrositlerinde olmayan antijenleri taşıyan eritrositlerin transfüzyonu bir immün yanıt başlatabilir. Bu nedenle kan grubu antijenleri allojenik kan transfüzyonlarında, maternofetal kan grubu uyumsuzluklarında, otoimmün hemolitik anemide ve organ nakillerinde önemlidir [8, 9].

2.2. Rh Sistemi

Rh sistemi 54 antijeni ve RH1 ile RH61 arasında numaralandırılmış (Tablo 2-1) sayısız fenotipi ile polimorfik kan gruplarından biridir [10-12]. Rh kan grubu sistemi transfüzyon pratiğinde ABO kan grubu sisteminden sonra ikinci önemdedir [1]

Bu sistem ilk olarak 1939 yılında Stetson ve Levine tarafından eritroblastosis fetalisli bir bebek dünyaya getiren ve kocasından yapılan kan transfüzyonu sonrasında şiddetli hemolitik reaksiyon gösteren bir kadının serumunda D antijeni diye tanımlanan bir antijene karşı oluşan antikorların (anti-D) gösterilmesi ile tanımlanmıştır [13].

Tablo 2-1: Rh sistemi antijenleri

| No | Sembol | Özellik |
|-------|---------------------|---|
| RH1 | D | Polimorfik |
| RH2 | C | Polimorfik, c ile antitetik |
| RH3 | E | Polimorfik, e ile antitetik |
| RH4 | c. | Polimorfik, C ile antitetik |
| RH5 | e. | Polimorfik, E ile antitetik |
| RH6 | ce, f | Polimorfik, c ve e ile aynı genden kodlanır |
| RH7 | Ce, rh ₁ | Polimorfik, C ve e ile aynı genden kodlanır |
| RH8 | C ^w | Polimorfik, C ^x ve MAR ile antitetik |
| RH9 | C ^x | DSA, C ^x ve MAR ile antitetik |
| RH10 | V | ce ^s VS+ ile ilişkili ama (C) ce ^s VS+ ile ilişkili değil |
| RH11 | E ^w | E varyant ile ilişkili DSA |
| RH12* | G | Polimorfik, C veya D olduğunda eksprese olur |
| RH17 | Hr ₀ | YSA; Rh _{null} ve D—de bulunmaz. |
| RH18 | Hr | YSA; E- e+ hr ^{s-} , D--, Rh _{null} da bulunmaz. |
| RH19 | hr ^s | e varyant |
| RH20 | VS | Ce ^s V+ ve (C) ce ^s V- ile ilişkili |
| RH21 | C ^G | r ^G nin C-benzeri antijeni |
| RH22 | CE | DSA, aynı gen tarafından kodlanan C ve E |
| RH23* | D ^w | DSA, DV ile ilişkili |
| RH26 | c-benzeri | Varyant c |
| RH27 | Ce | Polimorfik, aynı gen tarafından kodlanan c ve E |
| RH28 | hr ^H | Varyant VS |
| RH29 | Total Rh | YSA, sadece Rh _{null} da bulunmaz |
| RH30 | Go ^a | DSA, DIVa ve DAU-4 ile ilişkili |
| RH31 | hr ^B | e varyant |
| RH32 | | DSA, D (C) (e) R ^N ve DBT ile ilişkili |
| RH33 | | DSA, DHAR ile ilişkili |
| RH34 | Hr ^B | YSA; E- e+ hrB-, D- -, Rh _{null} da bulunmaz |
| RH35 | | DSA, D (C) (e) ile ilişkili |
| RH36 | Be ^a | DSA, d (c) (e) ile ilişkili |
| RH37 | Evans | DSA, D.. ve DIVb ilişkili |
| RH39 | | Anti-C benzeri antikor |
| RH40 | Tar | DSA, DVII ilişkili |
| RH41 | | Ce-benzeri |
| RH42 | Cce ^s | (C) ce ^s VS+ V- ilişkili |
| RH43 | Crawford | DSA, ceCF, d (C) (e) ilişkili |
| RH44 | Nou | YSA, DIV(C)- ve yaygın fenotiplerde |
| RH45 | Riv | DSA, DIV(C)- ilişkili |
| RH46 | Sec | YSA, R ^N , D--, Rh _{null} hücrelerde bulunmaz |
| RH47 | Dav | YSA, D.. ve yaygın fenotiplerde |
| RH48 | JAL | DSA, D (C) (e) ve D (c) (e) ilişkili |
| RH49 | STEM | DSA, hr ^{S-} ve hr ^{B-} ilişkili |
| RH50 | FPTT | DSA, DFR ve DHAR ilişkili |
| RH51 | MAR | YSA, C ^w ve C ^x ile antitetik |
| RH52 | BARC | DSA, DVI-3, -4 ilişkili |
| RH53 | JAHK | DSA, r ^G ilişkili |
| RH54 | DAK | DSA; DIIIa, DOL, R ^N ilişkili |
| RH55 | LOCR | DSA, c+ Rh:-26 ilişkili |
| RH56 | CENR | DSA, (C) C ^w (e) NR ilişkili |
| RH57 | CEST | YSA; JEL ile antitetik |
| RH58 | CELO | YSA, Crawford ile antitetik |
| RH59 | CEAG | YSA, e varyant ile ilişkili |
| RH60 | PARG | DSA |
| RH61 | ceMO | YSA, RHCE*ceMO da bulunmaz. |

YSA ve DSA, yüksek ve düşük sıklıkta antijenler *RH 13-16, RH24, RH25 kullanılmamaktadır [12].

Stetson ve Levine bunun bilinen ABO, MN ve P kan grubu sistemlerinden farklı yeni bir antijen olduğunu göstermişler ancak isimlendirmemişlerdir.

2.2.1. Rh Tarihçesi

Rh tanımlaması ilk kez 1940'da Landsteiner ve Wiener tarafından *Macaca mulatta* (*Macaca rhesus*) maymunu eritrositleri ile immünize edilmiş tavşanlarda insan eritrositlerine karşı antikor oluşmasına neden olan bir antijen için [14, 15] kullanılmıştır. Bu rhesus maymunlarının eritrositlerini ve aynı zamanda beyaz Amerikalıların %85'inin de eritrositlerini agglutine eden antikorlar, anti-Rh diye isimlendirilmiştir. Altmış aile üzerinde yapılan çalışmada Rh-pozitifliğin dominant karakter olarak kalıtıldığı gösterilmiştir [14]. Bulunan bu antijenin Levine tarafından 1939'da bildirilen [16] antijenle aynı olduğu; insan ve rhesus maymunlarının eritrositleri üzerinde Rh adında bir ortak faktörün var olduğu düşünülmüş ve böylece Rh faktörü ve anti-Rh antikoru terimleri kullanılmaya başlanmıştır.

Fisk ve Foord 1942'lerde [17] insan ve hayvan anti-Rh antikorları arasındaki farklılığı ortaya koymuş; insan anti-Rh ile belirlenen yeni doğan tüm bebekler ve Rh pozitif ve Rh negatif olarak tanımlandı ve bu bebeklerin eritrositleri hayvan anti-Rh ile de pozitif reaksiyon verdiği düşünülmüştür. İnsan ve hayvan Rh antikorlarının aynı insanda aynı antijen ile reaksiyon vermediği ancak 20 yıl sonra anlaşılmıştır. İnsan antikorları tarafından tanınan Rh antijenlerinin adı değişmemiş ve Levine hayvan anti-rhesus antikoru ile reaksiyon veren bu antijene kaşiflerinin onuruna Landsteiner ve Wiener **LW** adını vermiştir [18]. Bu iki antijenin farklı olduğu anlaşılincaya kadar bu heteroantikor için anti-LW (kaşiflerinin anısına), insan allo-antikoru için anti-D ifadeleri kullanılmıştır.

1943'de Race farklı Rh spesifiteleri yedi allel ile belirlenen olan dört antiserum [19] ve Wiener altı allel ile belirlenen üç farklı antiserum [20] belirlemiştir. Günümüzde Rh pozitif (D pozitif) tanımı eritrositlerinde D antijeni olan kişiler için kullanılmaktadır [21].

Levine ve arkadaşları YDHH'na neden olan anne ve fetüs arasında uyumsuzluğu göstermişlerdir [22-24]. 1960'lı yıllarda bebeği ile Rh uyumsuz bir gebeye doğum sonrası anti-D immünglobulin uygulamasıyla primer D immünizasyonunun keşfi D antijeninin önemini daha da artırmıştır.

2.2.2. Major Antijenleri

Transfüzyon ve gebelik sonrası oluşan antikorlarının heterojenitesi nedeniyle en kompleks kan grubu sistemlerinden olan Rh sistemi beş yaygın antijeni (D ve non-D antijenleri olan CcEe) ile elliye aşkın sayıda yüksek ve düşük sıklıktaki antijenden oluşur. D antijeni immünojenitesi nedeniyle sistemin en önemli antijenidir ve bireyin RhD pozitif veya RhD negatif olmasını belirler. G, c, E, C ve e antijenleri de yıkıcı antikorların üretimini stimüle ettikleri için klinik olarak önemli antijenlerdir. Bu antijenler özellikle sensitize olmuş hamileler, çok fazla kan transfüzyonuna gereksinim duyan hastalar (ör: sickle cell anemi) ve nadir bir Rh antijeni taşıyan bireyler için önemlidir [20].

2.2.3. Terminoloji

Rh sistemini oluşturan genleri ve antijenleri isimlendirmek için birkaç terminoloji kullanılmaktadır.

Rh kan grubu sisteminin antijenlerini isimlendirme çabaları Rh sisteminin biyokimyasal ve genetik yapısını bütünüyle anlaşılmasından önce olmuştur. Kullanılmakta olan farklı terminolojinin ortak amacı Rh sisteminin tüm antijenlerini isimlendirmektir. Bu terminolojiler şunlardır:

- Fisher-Race terminolojisi
- Wiener terminolojisi
- Rosenfield terminolojisi
- Tippett iki lokuslu modeli

Fisher-Race terminolojisinde eritrosit yüzeyindeki Rh antijeninin spesifitesini belirleyen üç adet birbiriyle bağlantılı üç gen vardır: C/c, E/e ve D yani D bir lokus, C ve c ikinci bir lokus, E ve e de üçüncü bir lokus tarafından ebeveynlerden bireye geçmektedir [11]. D, C, c, E, ve e ise bu genlerin ekspresyonu ile oluşan antijenik yapılarıdır. Bu terminolojide sekiz farklı gen kompleksi veya haploidi bulunmaktadır (Tablo 2-2). D antijeninin varlığı D ile gösterilir fakat lokusda yokluğunda bulunan ikinci bir gen olmadığından D antijeninin yokluğu d ile ifade edilir. Bu durumda d sadece D'nin antijen ve gen olarak yokluğunu göstermek, D negatif fenotipini belirtmek ve sonuçta ifade karışıklığını önlemek için kullanılmaktadır. D kendi lokusunda nesilden nesile geçen tek gendir.

Wiener terminolojisine göre Rh antijenleri tek bir lokustaki tek bir genin ürünüdürler. Wiener haplotip terimi yerine agglutinojen, Rh antijeni yerine kan faktörleri deyimini kullanmıştır. Wiener terminolojisine göre Rh antijenleri tek bir lokustaki tek bir genin çoklu allelleridir. (R^1 , R^2 , R^0 vb, Tablo 2-2) ürünüdürler R1 tarafından üretilen agglutinojen en azından üç kan faktörünü Rh_0 , rh' ve hr'' (Fisher – Race terminolojisindeki D, C ve e) eksprese eder [12]. Yenilenmiş Wiener terminolojisinde Rh haplotipi kullanılır. Büyük harf R D antijenini üreten haplotipi simgeler; küçük r ise D'nin olmamasını simgeler. C veya c, E veya e D ile birlikte olduğunda Ce 1 ile (R^1), cE 2 ile (R^2), ce 0 ile (R^0) ve CE z ile (R^z) ifade edilmektedir. Kesme işaretleri tek (') ve çift (") olarak CcEe antijenlerini Ce r', cE r'' ve CE r^y olarak gösterir. R ve r terminolojisi bir kromozomdaki bir fenotipin Rh antijenlerinin varlığını anlatmaya yarar. Kısa çizgiler nadir delesyonların olmayan antijenlerini göstermek için kullanılır. Örneğin D—ifadesi C/c ve E/e yoktur anlamına gelmektedir [25].

Tablo 2-2: Sekiz Rh haplotipinin İngiliz, Nijerya ve Çin popülasyonlarındaki sıklığı

| DCE (Fisher - Race) | Rh-Hr (Weiner) | Numerik (Rosenfield) | İngiliz | Nijerya | Çin |
|------------------------|-------------------|----------------------|---------|---------|-----|
| Rh pozitif | | | | | |
| <i>DCe</i> | R^1 | $RH^*1,2,-3,-4,5$ | 42 | 6 | 73 |
| <i>Dce</i> | R^0 | $RH^*1,-2,-3,4,5$ | 3 | 59 | 3 |
| <i>DcE</i> | R^2 | $RH^*1,-2,3,4,-5$ | 14 | 12 | 19 |
| <i>DCE</i> | R^z | $RH^*1,2,3,-4,-5$ | <1 | 0 | <1 |
| Rh negatif | | | | | |
| <i>dce</i> | r | $RH^*-1,-2,-3,4,5$ | 39 | 20 | 2 |
| <i>dcE</i> | r'' | $RH^*-1,-2,3,4,-5$ | 1 | 0 | 0 |
| <i>dCe</i> | r' | $RH^*-1,2,-3,-4,5$ | 1 | 3 | 2 |
| <i>dCE</i> | r^y | $RH^*-1,2,3,-4,5$ | 0 | 0 | <1 |

Rosenfield terminolojisinde ise her antijenin bir numarası vardır (Tablo 2-2). Örneğin D antijeni Rh1, C antijeni Rh2, E antijeni Rh3, c antijeni Rh4, e antijeni Rh5 ifadelerine karşılık gelir. Bu terminolojide D antijenin varlığı Rh:1 ile, yokluğu ise Rh:-1 ifade edilir. Fisher – Race terminolojisinde D, Weiner terminolojisinde Rh_0 iken

Rosenfield terminolojisinde Rh1, Rosenfield terminolojisinde D pozitif fenotip Rh:1 ve D negatif Rh:-1 olarak ifadelendirilmektedir. Bu fenotipleri üreten alleller sırasıyla R¹ ve R⁻¹ olarak tanımlanır. Rosenfield terminolojisi Rh antijenlerinin genetik kontrolüne çözüm getirmez. Sözel kullanımı zor olmakla beraber günümüzde bilgisayarlı veri sistemlerinde yazım kolaylığı açısından tercih edilmektedir [12].

Tippett iki lokuslu modeli [26] 1986'da ortaya atılmış biri D antijenini diğeri CcEe antijenlerini kodlayan yapısal iki Rh genin varlığını öneren bir modeldir. D geninin ve CcEe geninin kısmi parçalarını içeren füzyon genleri üreten bu genlerdeki mutasyonlar ve iki gen arasındaki rekombinasyonlar Rh antijenlerinin anormal ekspresyonlarının olduğu nadir Rh fenotiplerin bazılarının oluşumunu açıklar.

Günümüzde bu Rosenfield terminolojisi modifiye edilerek tüm kan grupları için ISBT (International Society of Blood Transfusion) terminolojisi kullanılmaktadır [12]. Buna göre D:RH1, C:RH2, E:RH3, c:RH4 ve e:RH5'tir. Bir antijenin varlığı ve yokluğu şöyle anlatılır: D varsa Rh;1 yoksa Rh:-1.yaygın Rh fenotipi D+ C+ c+ E- e+ (DCcEe) RH:1,2,-3, 4, 5 olarak tanımlanır [25]. Son yıllarda kullanılan terminolojide antijen, gen ve proteinler arasında da farklılaşma olmuştur. Antijenler D, C, c, E ve e ile gösterilirken RH genleri büyük ve italik olarak ifade edilmiştir: *RHD*, *RHCE* ve *RHAG*. Alleller ise geni takiben yıldızla gösterilir: *RHCE* geni alleli *RHCE*ce*, *RHCE*Ce*, *RHCE*cE*. Rh proteinleri de taşıdıkları antijenlere göre RhD, RhCE veya taşıdıkları spesifik antijenlere göre Rhce, RhCe, RhcE veya RhCE olarak ifade edilir [25].

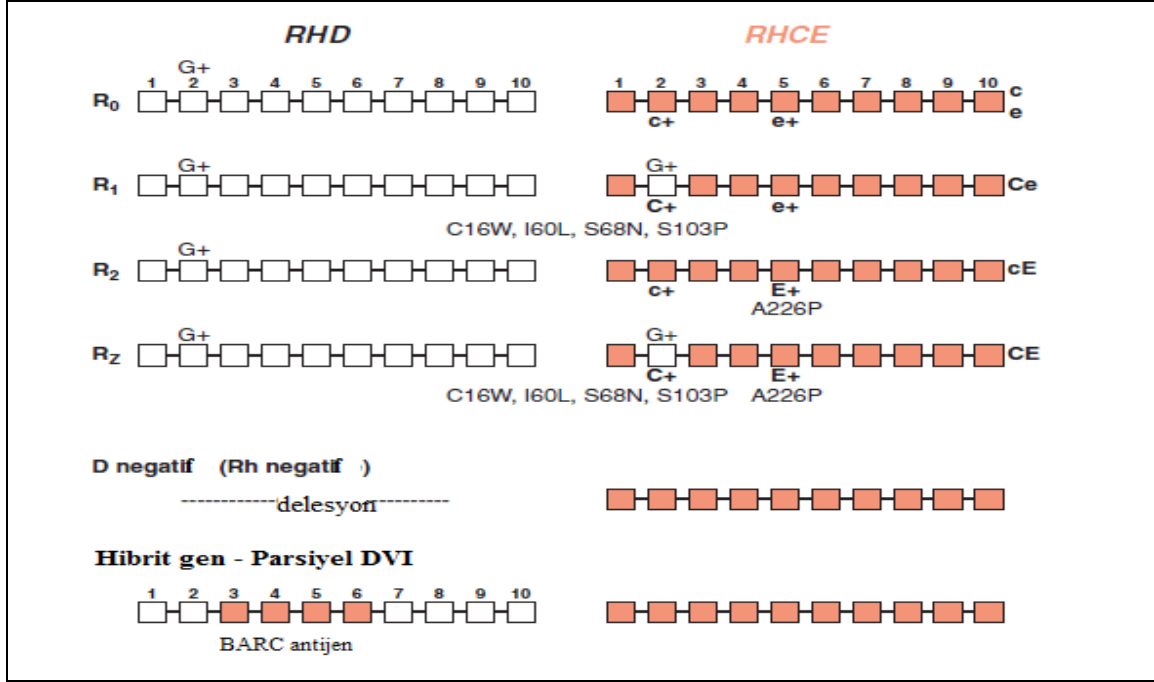
2.2.4. Sıklık

Fisher tarafından ortaya konan CDE terminolojisi ile tanımlanan sekiz farklı Rh haplotip farklı toplumlarda farklı sıklıklar ile izlenmektedir (Tablo 2-2). Haplotip sıklığı Avrupalılarda küçük farklılıklar ile gözlenir; Güney ve Kuzey Avrupalılarda dce daha düşük oranda DcE daha yüksek oranda gözlenir. Afrika'da, Sahra'nın aşağısında Dce daha dominant olarak görülürken, Doğu Asya, Pasifik bölgesi ve Amerika yerlilerinde D pozitif olmayan haplotipler nadir olarak bulunur veya hiç bulunmaz [12].

2.2.5. Biyokimya ve Moleküler Genetik

Rh antijenleri 1. Kromozomun kısa kolunda bulunan (1p36.11) homolog yakından bağlantılı, zıt durumda (5'-*RHD*-3'-3'-*RHCE*-5') yerleşmiş iki gen tarafından kodlanmıştır: Her biri 10 ekzondan oluşur ve tüm intron ve ekzonları dahil olmak üzere %93,8 oranında sekans benzerliği gösterirler. En dikkat çekici farklılık *RHD* geninde

intron 4'teki 600 bç'lik bir delesyonun olmasıdır [1, 2]. Bu genler D antijenini üreten *RHD* ve *Cc*, *Ee* (*ce*, *cE*, *Ce* veya *CE* kombinasyonlarında) antijenlerini üreten *RHCE* genleridir (Şekil 2-1). *RHD* ve *RHCE* genlerinin kodladığı RhD (CD240D) ve RhCcEe (CD240CE) proteinleri yüksek hidrofobik, eritrosit membranını 12 kere geçen



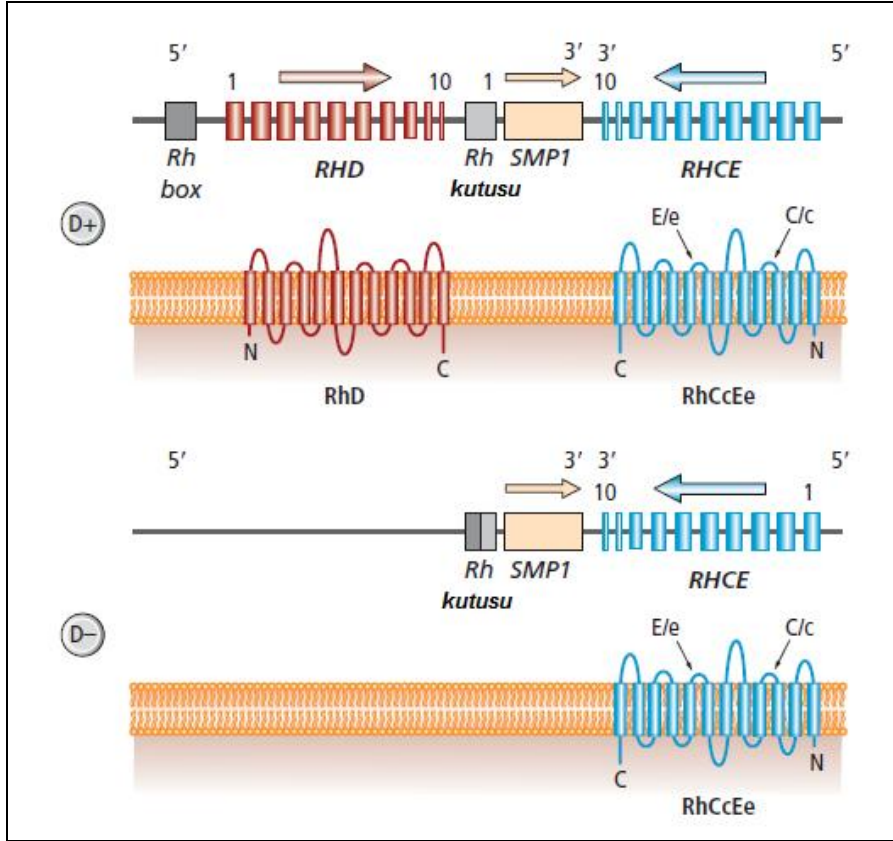
Şekil 2-1: Rh genleri

Yaygın antijen polimorfizmleri ile ilişkili değişikliklerin gösterildiği *RHD* ve *RHCE* genleri, hibrit bir gen örneği olan Parsiyel DV, haplotipler (R^0 , R^1 , R^2 , R^3). *RHD* genlerinin kodlayan ekzonlar beyaz renk ile, *RHCE* genlerini kodlayan 10 ekzon kırmızı renkle gösterilmiştir. Yaygın antijenlerle ilişkili aminoasit değişimleri de gösterilmiştir; örneğin *RHCE* geninin 5. ekzonundaki 226 pozisyonundaki Alanin (A) aminoasitinin Prolin (P) ile değişimi (A226P)E+ bir eritrosit oluşumu ile sonuçlanır. *RHD* ve *RHCE* genlerinde ortak ekzon 2 RhCe ve RhD proteinlerindeki G antijen (G+) ekspresyonunun nedenidir. Rh negatif (D negatif) fenotipin çoğunlukla nedeni RHD geni delesyonudur. *RHD* ve *RHCE* genleri arasındaki gen yeniden düzenlenmelerine örnek parsiyel D fenotip ve yeni bir Rh antijeni, BARC oluşumudur [25].

glikozillenmemiş proteinlerdir (Şekil 2-2). *RH* genlerinin arasında, küçük bir membran proteinini kodlayan bir başka gen *SMP1(TMEM50A)* yer alır. *RHD* geninin her iki ucunda, birbirine %98,6 benzerlik gösteren ve RH kutuları olarak isimlendirilen 9 kb'lik iki bölge bulunur. RhD ve RhCE proteinleri, *RHCE* alleleine bağlı olarak, birbirlerinden 31 ve 35 aminoasitlik farklılık gösterirler. Rh antijenleri membrandaki Rh proteinlerinin konformasyonuna bağlı ve iki veya daha fazla hücre dışı döngüleri arasındaki etkileşimler içerebilir [3, 11, 12, 25].

RHD ve *RHCE* genleri 417 aminoasitlik protein kodlarlar ve N-terminal metiyonin olgun proteinlerden kesilerek uzaklaştırılır (Şekil 2-2 ve Şekil 2-3).

Aminoasit sekansları incelendiğinde Rh proteinlerinin her ikisinin de 12 membran geçiş bölgesi ve 6 ekstrasellüler halkalarının olduğu, N- ve C- terminallerinin sitozolde (Şekil 2-4) olduğu anlaşılmıştır [12]. İki Rh geni 1-7 ekzonlardaki 50-60 aminoasit ve 8-10 ekzonlardaki sonda bulunan 58 rezidü benzerdir (Şekil 2-5).



Şekil 2-2: RHD ve RHCE genleri

Karşıt yönde konumlanmış *RHD* ve *RHCE* genlerinin 10 ekzonu, Rh kutuları ve *SMP1* (*TMEM50A*) geni ile altında N- ve C- terminalleri, 12 membran geçiş bölgesi ve 6 ekstrasellüler halkası ve Rh proteinleri gösterilmektedir. C/c ve E/e polimorfizmleri, RhCcEe proteininin 2. ve 4. (N-terminalinden itibaren) hücre dışı halkalarındaki aminoasit değişiklikleri ile belirlenir. Üstte: D+ haplotip, Altta: D- (delesyon) haplotip [3].

Son yıllarda RH lokusunda yapılan çalışmalarla *RHD* alleleri Rhesus veritabanında [7], *RHD* ve *RHCE* alleleri Ulusal Bioteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI; National Center of Biotechnology Information) İnsan Kan Grubu Antijeni Mutasyonları (BGMUT; The Blood Group Antigen Gene Mutation Database) veri tabanında [27] sunulan 275 *RHD* alleli ve 50 *RHCE* alleli olduğu bulunmuştur [11].

D negatif fenotip (Şekil 2-2) genellikle RhD proteinlerin tamamıyla yokluğunda ortaya çıkar ve bu D antijenine karşı oluşan yüksek immünojeniteyi açıklar [11, 12]. RhCE proteinleri nerdeyse tamamıyla daima vardır. Rh antijenleri yapısal olarak, yani molekülün şekline göre belirlenirler ve herhangi bir antijenin yapısında birden fazla

sayıda ekstrasellüler halka yer alabilir. Mebran-geçiş bölgelerinden birinde meydana gelebilecek tek bir aminoasit değişikliği gibi küçük bir farklılık bile yapısal değişikliklere neden olarak yeni bir antijen oluşumuna veya varolan antijenlerin ekspresyonunun etkilenmesine yol açabilir [11, 12, 28].

| | | | |
|----|---|---|-----|
| CE | C | mSSKYPRSVR RCLPL ^C ALTL EAALILLYFY FTHYDASLED QKGLVASYQV | 50 |
| D | c | -----W----- | |
| CE | C | GQDLTVMAA ^I GLGFLTS ^S FR RHSWSSVAFN LFMLALGVQW AILLDGFLSQ | 100 |
| D | c | -----I-----S----- | |
| CE | C | FP ^S GKVVITL FSIRLATMSA MSVLISAGAV LGKVNLAQLV VMVLVEVTAL | 150 |
| D | c | --S-----L-----VD----- | |
| CE | C | GTLRMVISNI FNTDYHMNLR HFYVFAAYFG LTVAWCLPKP LPKGTEDNDQ | 200 |
| D | c | N-----MM-I-----S-----E-----K----- | |
| CE | E | RATIPLSLSAM LGALFLWMFW PSVNS ^P LLRS PIQRKNAMFN TYALAVSVV | 250 |
| D | e | T-----F-A-----E-V-----V----- | |
| CE | C | TAISGSSLAH PQRKISMTYV HSAVLAGGVA VGTSCHLIPS PWLAMVLGLV | 300 |
| D | c | -----G-----K----- | |
| CE | C | AGLISIGGAK CLPCCNRVL GIHHISVMHS IFSLGGLLGE ITYIVLLVLH | 350 |
| D | c | -----V-----Y-----G-----P-S-I-GY N-----I-----D | |
| CE | C | TVWNGNGMIG PQVLLSIGEL SLAIVIALTS GLLTGLLLNL KIWKAPHVAK | 400 |
| D | c | -----GA-----E----- | |
| CE | C | YFDDQVFWKF PHLAVGF | 417 |
| D | c | ----- | |

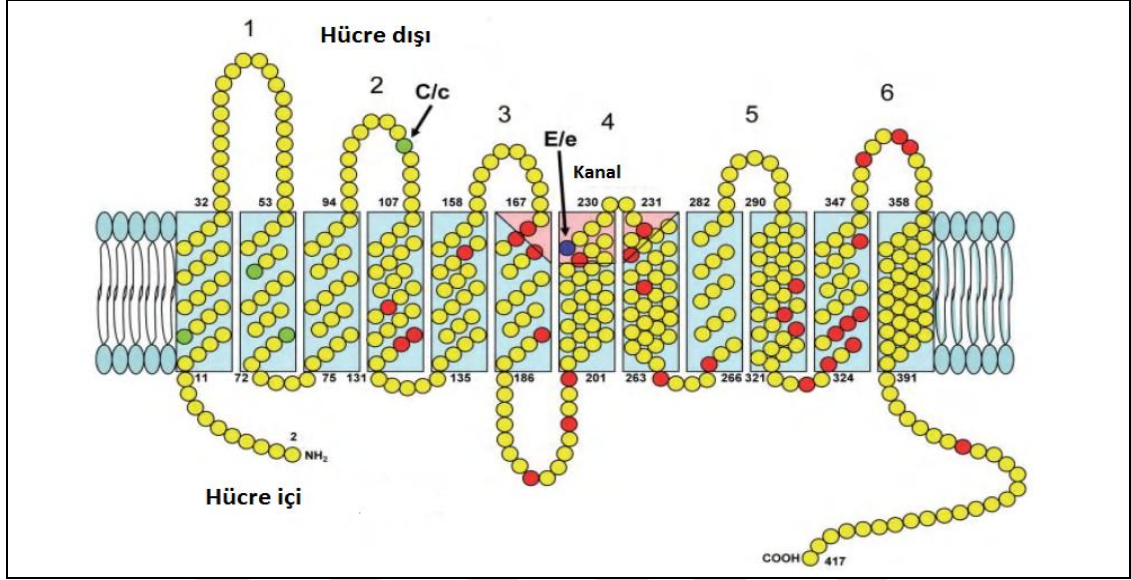
Şekil 2-3: RhCE ve RhD polipeptitlerinin amino asit sekansları.

Her iki polipeptitin aminoasitleri aynı olduğu yerler D polipeptiti çizgi (-) ile gösterilmiştir. N-terminal ucu metiyonin (1 pozisyonadaki m) olgun proteinden kesilerek uzaklaştırılmıştır. Cc ve Ee polimorfizmi gösterilmektedir [12].

RhD ve RhCE polipeptitleri sırasıyla beş ve altı sistein kalıntısı taşırlar. RhCE polipeptitinin sistein kalıntılarının üç tanesi ve RhD polipeptitinin iki tanesi lipid çift membranının sitoplazmik tarafına polipeptit giriş noktasındaki Cys-Leu-Pro motiflerini oluşturur ve bu noktalar palmitik asitin başlıca bağlanma yeri olabilirler. Palmitik asitin bağlanmasının proteinin dördüncü yapısının stabilizasyonunda etkili olabileceği düşünülmektedir [12].

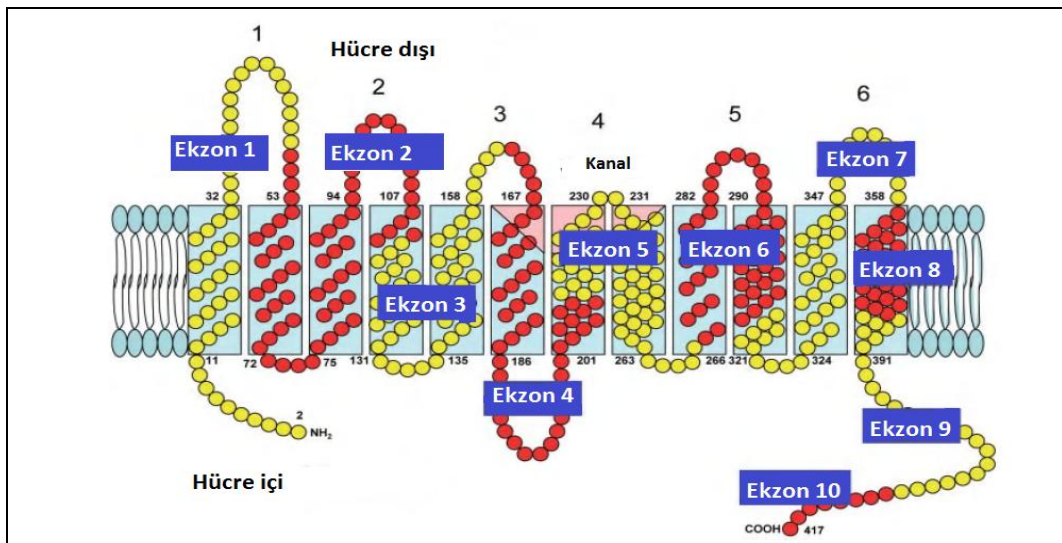
RHCE geni C/c ve E/e antijenlerini kodlar. C ve c antijenleri birbirinden 4 aminoasit ile farklıdır. Ekzon 1'deki Cys16Trp ve ekson 2'deki Ile60Leu, Ser68Asn ve

Ser108Pro aminoasit değişimleri ile bu farklılık oluşur. E ve e sadece 5. ekzonda oluşan Pro226Ala tek bir aminoasit değişimi ile oluşur [11, 25].



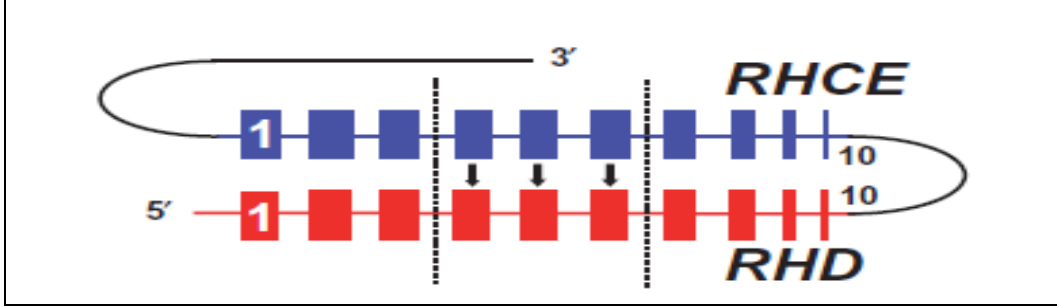
Şekil 2-4: RhD ve RhCE polipeptitlerinin membran içi yerleşimi

Membran içi halka (12), sitoplazmik N- ve C-terminalleri ve ekstrasellüler kanal (pembe renkli) yapının gösterildiği eritrosit membranı içinde RhD ve RhCE polipeptitleri gösterilmiştir. Sarı renkli daireler RhD ve RhCE polipeptitlerindeki benzer aminoasit kalıntılarını, kırmızı renkli daireler farklı olabilecek aminoasit kalıntılarını ifade etmektedir. Yeşil renkli daireler C/c (en önemli C/c işaretlenmiştir) ve mavi renkli daireler E/e polimorfizmlerini gösterir [12].



Şekil 2-5: Ekzonlar tarafından kodlanan membran bölgelerinin gösterildiği RhD ve RhCE polipeptit modeli

Genetik yeniden düzenlemeler ve gen konversiyonları *RHD-CE-D* ve *RHCE-D-CE* hibrit genlerinin oluşumuyla varyant Rh fenotiplerinin oluşumundan sorumludur [2, 3, 12]. *RHD* ve *RHCE* genleri zıt konumda yerleşimlidirler ve cis konumda *RHD* ve *RHCE* genleri arasındaki gen konversiyonuyla (Şekil 2-6) hibrit bir gen oluşmuştur [12].

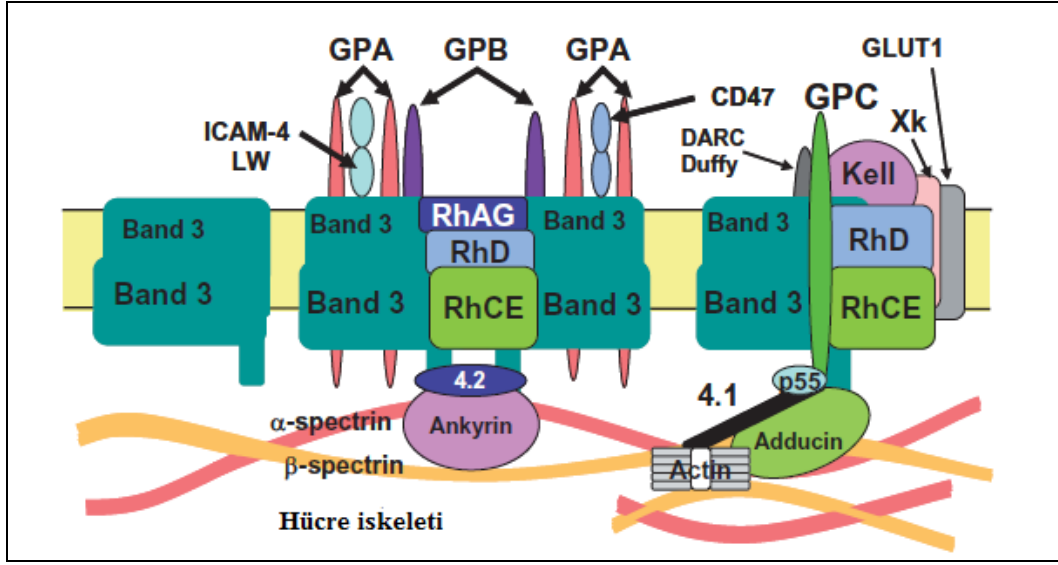


Şekil 2-6: Cis konumda *RHD* ve *RHCE* arasında oluşan RH gen konversiyon mekanizması

Bu örnekte *RHD* geninin 4-6 ekzonları *RHCE* geninin aynı ekzonları ile yer değiştirmiş ve DVI-2 varyantında gözlenen *RHD-CE(4-6)-D* geni oluşmuştur [12].

Rh proteinleri eritrosit membranında Rh-ilişkili glikoprotein (RhAG) olarak isimlendirilen bir glikoprotein ile yakın ilişkide bulunurlar. RhAG 6. kromozom (6p12.3) üzerinde bulunan ve RHAG kan grubu sisteminin 3 antijenini eksprese eden *RHAG* geni tarafından üretilen Rh protein ailesinin bir üyesidir [12]. RhAG(Rh50; CD241) RhD ve RhCE proteinleri ile %37 oranında benzerlik oranına sahiptir ve benzer membran yerleşimini (Şekil 2-7) gösterir [2, 12]. Rh proteinlerinden farklı olarak birinci ekstrasellüler halkasında bulunan N-bağlı tek bir şekerle glikozillenmiş (Şekil 2-8) olan RhAG, RHAG kan grubu sisteminin (Tablo 2-1) antijenlerini taşır [3]. *RHAG* geni *RH* genleri ile %47 oranında identiktir ve aynı şekilde 10 ekzondan oluşur [2, 12].

Eritrosit membranında RhAG ve Rh proteinlerinden oluşan membran protein kompleksi Band 3 (AE1), Glikoforin A ve B (GPA, GPB), LW ve CD47'yi de içeren “band 3/Rh ankrin” membran protein makrokomplesinin bir bileşenini oluşturur (Şekil 2-7). Rh proteinlerinin, Band 3, Glikoforin C (GPC), Duffy, Kell ve Xk proteinleri ile birlikte diğer bir protein bağlantı kompleksinin parçasını (Şekil 2-7) oluşturmaktadırlar [3, 12].

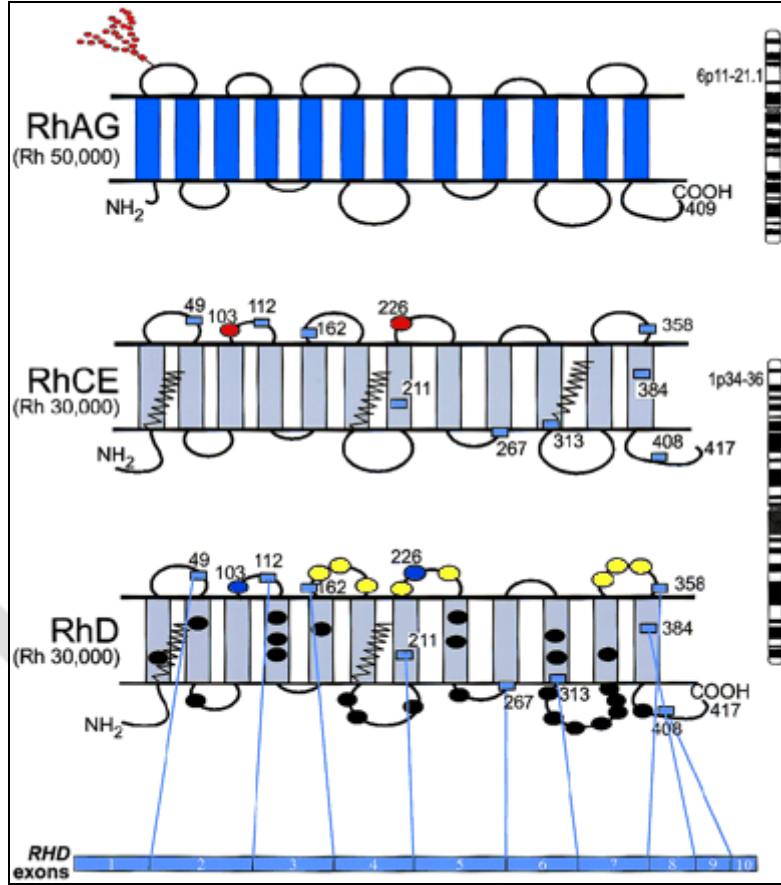


Şekil 2-7: Rh proteinlerini içeren iki farklı membran kompleks modeli

RhD, RhCE ve RhAG heterotrimerlerini içerir ve hücre iskeletinin spektrin matriksine Band 3, protein 4.2 ve ankrin aracılığı ile bağlanır. Band 3, RhD ve RhCE proteinlerini içerir ve spektrin-aktin bileşkesine glikoforin C (GPC), p55 ve protein 4.1. ile bant 3 ve adducin aracılığı ile bağlanır [12].

RhAG polimorfik değildir ve Rh antijeni taşımaz. RhAG herhangi bir Rh antijeni taşımamakla birlikte varlığı Rh antijenlerinin ekspresyonunda önemlidir [2, 3]. RhAG yokluğunda hiçbir Rh antijeni eksprese edilemez. RhAG proteini RhD ve RhCE proteinlerinin membrana yerleşiminde rol oynar çünkü RhAG eksprese edilmediğinde veya mutasyona uğradığında Rh antijeninin eksprese olmadığı Rh_{null} veya düşük miktarlarda Rh antijeni ekspresyonunun gözlemlendiği Rh_{mod} fenotipleri ortaya çıkmaktadır [2, 3, 12].

Rh defektli fenotip Rh_{null} tipi eritrositler Rh sistemi antijenlerinin hiçbirini eksprese etmezler. *RHAG* geninin homozigot olarak inaktifleştiren mutasyonlar, inaktif *RHCE* geni ile birlikte bir *RHD* geni delesyonunun sonucu oluşan Rh_{null} eritrositler morfolojik ve fonksiyonel olarak anormaldir [3, 12].



Şekil 2-8: Eritrosit membranında RhD, RhCE ve RhAG proteinlerinin yerleşimi

RhAG ve Rh proteinleri basit canlılarda amonyak taşıyıcı proteinlerle sekans benzerliği gösterirler. Amonyum taşıyıcı proteini bulunmayan maya hücreleri düşük amonyumlu ortamda yeterince çoğalamaz. Fakat *RHAG* -geni transfeksiyonları sonrasında amonyum analoglarının membran içine taşınmasında 8-9 kat artış gözlenirken *RHAG* geni inaktive edilmiş fare eritrositlerinde ise amonyum transportu ileri derecede bozulmuştur. Eritrositlerdeki RhAG ve Rh protein kompleksinin işlevi amonyum transportu olabilir: böylece eritrositler amonyumu, beyinden karaciğere veya böbreklere, metabolizma ve boşaltım amaçlı taşımada rol oynuyor olabilirler [3, 12].

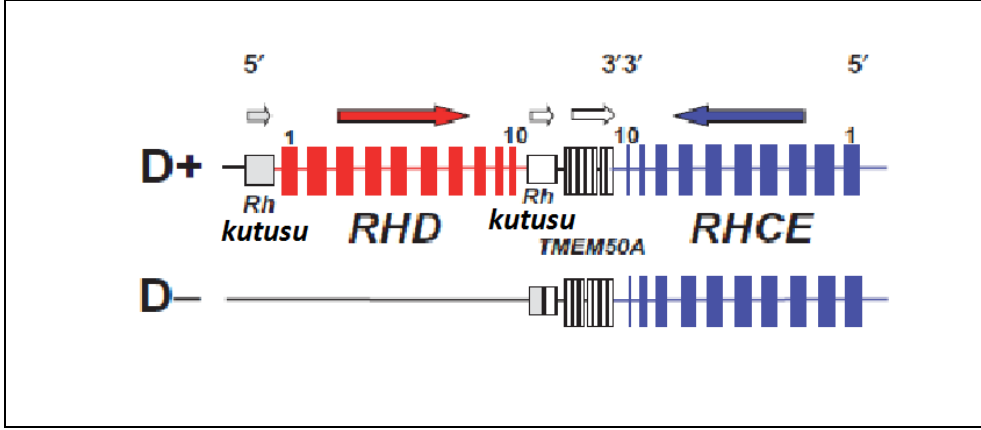
Eritrositlerin temel işlevlerinden ikisi, oksijen taşınması ve eritrosit sitoplazmasında bulunan karbonik anhidraz enzimi ile karbondioksitin bikarbonata dönüştürülmesidir. Rh_{null} eritrositlerde membran karbondioksit geçirgenliğinin belirgin derecede azalmış olması, RhAG ve Band 3 içeren membran makrokompleksinin, karbondioksit ve muhtemelen oksijen için bir gaz değişim kanalı olabileceğini düşündürmektedir. Band 3 makrokompleksi, karbondioksitin karbonik anhidraza, oksijenin ise hemoglobine rahatça ulaşabildiği ideal bir pozisyonda yerleşmiştir [3, 12].

2.3. D Antijeni (Rh¹, Rh⁰)

D pozitif (D+) ve D negatif (D-) fenotipler Rh pozitif ve Rh negatif olarak adlandırılır. Avrupalı ve Kuzey Amerikalı beyaz ırk insanların %82'si ve %88'i D pozitif iken siyah ırk insanların %95'i D pozitiftir. D antijeni Doğu Asya'da bazı toplumlarda %100'e varan oranda gözlenir. Hong Kong'da yaşayan Çinlilerde ve Japonlarda %99,7 oranında D pozitifliği standart kan gruplama testleri ile saptanmıştır. Ancak D negatif olarak tanımlanan Asya kökenli bireylerin önemli bir oranında, C pozitif olan bireylerin tamamına yakın kısmında (%0,3) çok hassas immünohematolojik testler ile (adsorbsiyon/elüsyon) ile tespit edilebilen bir varyant D tipi *DEL* denen çok zayıf bir D antijeni bulunmuştur [5, 29] Siyah Afrikalılarda D negatif kişilerin %67'sinde *RHD* geni bulunur, ancak *RHD* psödogeni *RHD*Ψ* olarak isimlendirilen bu inaktif *RHD* geni D proteinini ve D antijenini üretmez. Bu *RHD* psödogeni *RHD*Ψ* oluşumunda 4. ekzonun ilk 18 nükleotidi ve 3. intronun son 19 nükleotidi kapsayan 37 bç'lik duplikasyonu gözlenmiştir. Bu duplikasyon bir çerçeve değişimi mutasyonuna neden olabilir ve bu mutasyon sonucu erken bir translasyon stop kodunu oluştur. 6. eksondaki Tyr269 kodonu bir stop kodona dönüşümü ile oluşan bir nonsense mutasyonu da *RHD* psödogeni *RHD*Ψ* da gözlenmiştir [5, 12].

D negatif fenotip eritrosit membranındaki D polipeptidinin bir bütün olarak yokluğu ile oluşur ve bu polipeptidin yokluğu D antijeninin tüm epitoplarının olmamasıdır. Bu d antijenin (D antijenine allelik olan bir antijen) neden bulunmadığını açıklamaktadır [12, 29]. D negatif fenotipin Avrupalı insanlarda en yaygın nedeni *RHD* geninin homozigot tamamıyla delesyonudur (Şekil 2-9). D pozitif beyaz ırk insanları *RHD* geni varlığı için ya homozigottur ya da heterozigottur. İlgili delesyon *RHD* geninin iki yanında bulunan *Rh* kutuları yapısı içinde iki 1463 bç'lik bölgede oluşur. Beyaz ırkda D negatif fenotipe neden olan diğer nedenler nadiren gözlenir [12].

D antijeni ekspresyonu yaygın fenotiplerde bile kantitatif olarak değişir, C varlığında daha az D eksprese edilir; DcE/DcE hücreler DcE/DcE hücrelere kıyasla anti-D ile daha yüksek titrasyon değerleri verir [12].



Şekil 2-9: D pozitif (üstte) ve D negatif (altta) haplotiplerin Rh genlerinin organizasyonu

Karşıt yönde konumlanmış *RHD* 10 ekzonu, homolog iki *Rh kutusu* ve 5' den 3' yerleşimde *TMEM50A* (*SMP1*) ve 3' den 5' yerleşimde *RHCE* genleri. D- haploidde *RHD* geninde ve *RH kutusunun* bir kısmında delesyon vardır [12].

2.4. Varyant D

Çoğu insanın D pozitif veya D negatif olmasına rağmen, D antijeninin zayıf veya kısmi eksprese edildiği D varyantları da bulunmaktadır. D antijeninin çoğunlukla *RHD* geninde oluşan mutasyonlar nedeni ile çok sayıda varyantı bulunur. D varyantları iki gruba ayrılmıştır: zayıf D (D^u , kantitatif varyant D) ve parsiyel D (D mozaik, kalitatif varyant D).

D mozaik; normal D antijeni tüm parçaları ile mozaik bir yapı olduğunu ve varyant fenotiplerin eksik parçaları olduğunu savunan 1960'larda (Tippett ve Sanger; Wiener ve Unger) ortaya atılmış bir modeldir [5]. D antijeninin mozaik parçaları eksik olan bir birey normal bir D antijeni ile immünize olabilir ve eksik olan parçalara karşı antikor üretebilir. 1980'li yıllarda monoklonal antikorların keşfedilmesi ile mozaik modeli yerini D epitopları modeline bırakmıştır. 2001 yılında varyant D eritrositlerin farklı monoklonal antikorlar ile karşılaştırıldığı "4. Uluslararası Monoklonal Antikorlar Workshop" çalıştayında [30] otuz epitop, epD1 ile epD9 arası (epD7 hariç) belirlenmiş ve yedi epitop bölgesine ait alt gruplar da (epD6.4 gibi) tanımlanmıştır. D epitopları sadece reaksiyon paternlerini belirler. Reaksiyon paterni, özellikle epitopların düşük affinitesine ve antikor konsantrasyonuna bağlı olabilir bu nedenle aynı antikorun farklı grupları farklı sonuçlar üretebilir. Reaksiyon ısı ve pH gibi diğer faktörler de farklı spesifik reaksiyonlara neden olabilir [12].

Kalitatif varyantlar, birkaç veya çok sayıda epitopun olmadığı, D-benzeri antikorun üretme ihtimali olan varyant D tipi olarak anılırlar. Yapılan testler sonucunda D parsiyel eritrositleri kategorilere ayrılmış ve roma rakamı ile numaralandırılmışlardır.

DII ile DVII (DI sonra çıkartılmıştır) arasında ve bazı serolojik davranışlarına göre alt tiplere ayrılmışlardır. Daha ileri analizler, monoklonal antikorlar teknolojisi ve antijenleri kodlayan genlerin sekanslanması sonucu D antijenlerinin tanımlamada bolluğa neden olmuştur: DFR, DBT ve DHAT gibi yeni D parsiyel fenotipler bulunmuştur (Tablo 2-3). Bu anti-D ile parsiyel D antijenlerinin reaktivite kuvveti normal D pozitif hücrelerden daha zayıf (ör. DVI) veya D pozitif hücrelerle aynı

Tablo 2-3: Alloanti-D üretimiyle ilişkili bazı D varyant fenotipleri

| | | |
|------|------|---------------------------|
| DII | DFL | DWI |
| DIII | DFR | Zayıf D tip 1 |
| DIVa | DFV | Zayıf D tip 2 |
| DIVb | DHAR | Zayıf D tip 4 |
| DV | DHMI | Zayıf D tip 11 |
| DVI | DMH | Zayıf D tip 15 |
| DVII | DMI | Zayıf D tip 21 |
| DAR | DNAK | Zayıf D tip 57 |
| DAU | DNB | D ^{EL} -5 |
| DBT | DOL | D ^{EL} -ex 8 del |

kuvvette (DIII gibi) olabilir; bazı varyantlarda ise (DVIa) azalmış D antijeni ekspresyonu gözlenebilir [5]. Tablo 2-4’de gösterilen Düşük Sıklık Antijenleri (DSA) ile ilişkili DIV, DV, DVI alt sınıflara ayrılmış ve zamanla DIII, DVII, DFR, DBT, DAU-5 ve DHAR varyantları bu sınıflara dahil olmuştur [5, 12].

Tablo 2-4: Varyant D fenotipleri ile ilişkili Rh düşük sıklıkta antijenler

| D Varyantları | Düşük Sıklıkta Rh Antijenleri |
|---------------|-------------------------------|
| DIII | DAK (RH54) |
| DIVa | Go ^a (RH30) |
| DIVb | Evans (RH37) |
| DV, DAU-5 | D ^W (RH23) |
| DVI | BARC (RH52) |
| DVII | Tar (RH40) |
| DBT | RH32 |
| DFR | FPTT (RH50) |
| DHAR | RH33, FPTT |

D^u tanımını ilk kez Stratton 1946 yılında bazı anti-D antikorları ile tespit edilebilen D antijeni için kullanmıştır. Bu D antijenleri klasik IgM yapısındaki anti-D antikorları ile agglutine olmazken indirekt antiglobulin test (IAT) ile IgG yapısındaki anti-D antikorları ile reaksiyon vermekte idi. D^u antijeninin normal D antijeninden eritrosit hücresi üzerindeki antijen bölgesi sayısı bakımından farklı olan bir kantitatif D varyantı olduğu düşünülmüştür. Bir D^u antijeni ve anti-D^u varlığının olmaması nedeniyle 1990'lı yıllarda D^u, zayıf D kavramı ile yer değiştirmiştir [5, 12]. Londra'da kan bağışçılarında yapılan bir çalışmada zayıf D antijeni sıklığı beyaz ırkta %0,3 ve siyah ırkta %1,7 oranında bulunmuştur [31].

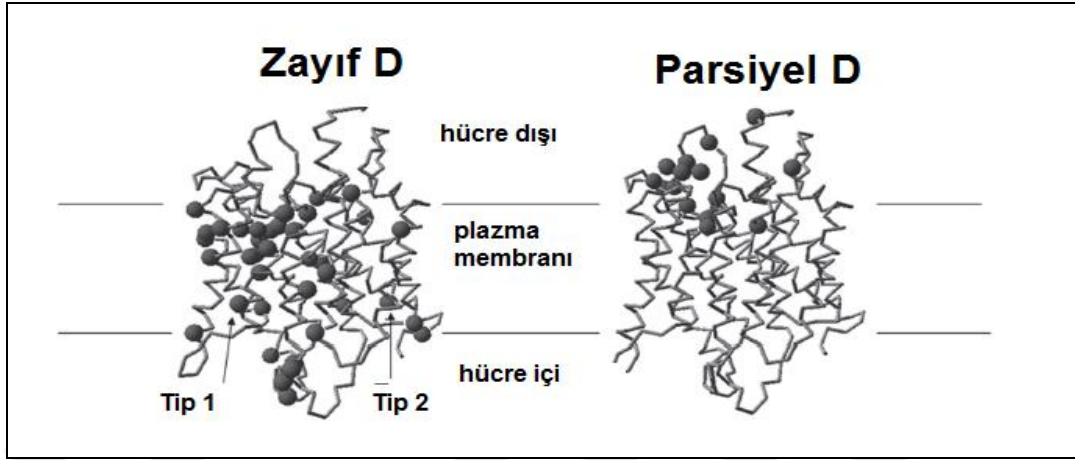
Zayıf D fenotipinde, D antijeninin yapısı bozulmamıştır ancak D antijeni zayıf olarak eksprese edilir. Tüm D epitopları bulunmaktadır; zayıf D bireyler normal bir D antijeni ile immünize olduklarında anti-D antikorunu oluşturmazlar. Zayıf D fenotipine yol açan aminoasit değişiklikleri genellikle RhD proteinin membran-geçiş veya sitozolik bölgelerinde meydana gelir, membranın dış yüzünde görülmez [12]. Parsiyel D fenotipi D antijeninin kalitatif varyantı olarak düşünülürse zayıf D kantitatif varyanttır. Parsiyel D fenotipine neden olan aminoasit değişimleri RhD polipeptidinin ekstrasellüler halkalarında bulunan aminoasitleri kapsamaktadır [12].

Zayıf D ve parsiyel D terimlerinin ayrı ayrı kullanımı transfüzyon gerekliliği ve anti-D immünglobulin profilaksisi durumlarında gereklilik kazanmıştır. Ancak tam anlamıyla tanımlamada etkin değildirler. Aynı üç aminoasit değişimlerine sahip olan ve alloanti-D bulunan D varyant DAR ve zayıf D tip 4.2 farklı olarak isimlendirilmiştir. Proteinin aminoasit sekansını etkilemeyen tek bir sessiz mutasyon farklılığı vardır. Sonuç olarak, fenotipik ve neredeyse genotipik olarak identik olan DAR ve zayıf D tip 4.2 fenotipleri parsiyel D ve zayıf D olarak farklı sınıflara konmuştur [5, 12]. Zayıf D tip 4.2 ve zayıf D tip 15 fenotipleri zayıf D olarak sınıflandırılır ancak alloanti-D oluşumunun gözlemlendiği bu fenotipte hastalar bildirilmiştir [2, 32]. Sonuçta parsiyel D / zayıf D ayrımı D varyantları tarif etmekte yetersiz kalmaktadır. Zayıf D ve parsiyel D isimlerinin D varyant gibi tek bir isimle birleştirilmesi daha uygun olacaktır [5].

2.4.1. Varyant D Fenotipinin Oluşumu

Halen 1 ile 144 arasında tanımlanmış tipi olan [7] zayıf D fenotiplerinin oluşumunun temel nedeni RhD proteininin hücre içi veya membran içinde bulunan

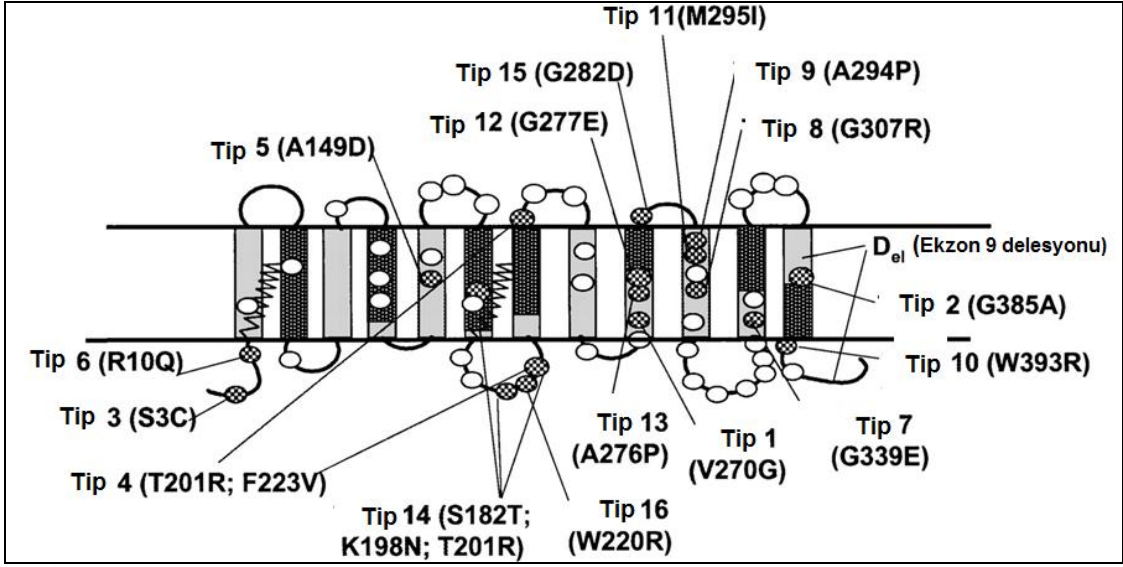
(Şekil 2-10) aminoasitlerin değişimiyle sonuçlanan sayıları 80’i aşkın farklı tek nokta mutasyonlarıdır [2, 5, 9, 11, 29, 33]. Beyaz ırkta en yaygın olarak görülen zayıf D tip 1



Şekil 2-10: Zayıf D ve parsiyel D fenotiplerinin yapısal modelleri

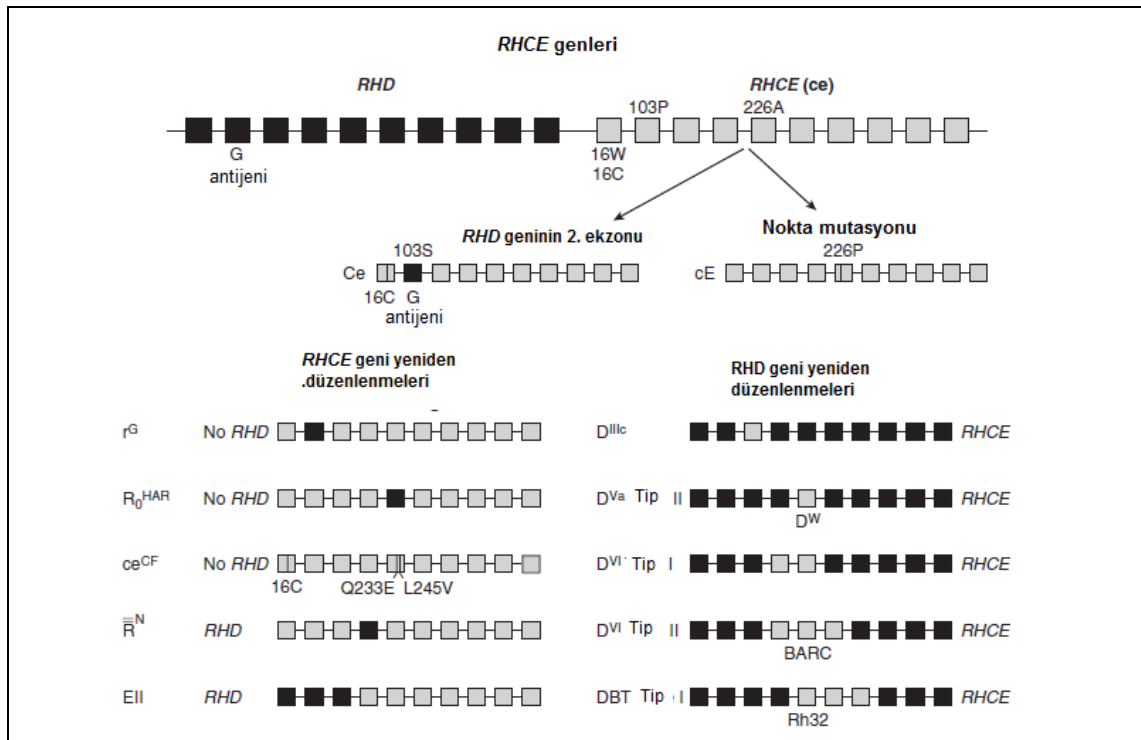
genotipi 270. pozisyondaki valin ile glisin aminoasitlerinin değişimi (Şekil 2-11) ile oluşur. Avrupa kökenli beyaz ırkta yapılan çalışmada [34] zayıf D tip 1, 2 ve 3 birlikte görülen tüm zayıf D genotiplerin %90’nını oluşturmaktadır [11]. Zayıf D 1, 2 ve 3 anti-D yapma özelliği olmadığı için bu genotipteki kişiler güvenle D negatif eritrosit alabilirler [29].

Geleneksel kan merkezi testleri ile tespit edilemeyen ancak elusyon / adsorbsiyon testleri ile tespit edilebilen çok zayıf D formu D-elusyon veya D_{EL} olarak isimlendirilmektedir [11]. Her bir eritrosit hücresinde antijen yoğunluğu en fazla 36 olacak şekilde bulunmuştur; çoğu normal olguda yoğunluk 22’den daha azdır. Doğu Asya’da rutin kan merkezi testleriyle D negatif bulunan olguların %10-30 oranında D_{EL} olduğu bulunmuştur [11, 12, 29] ve bulunan bu Asya kökenli D_{EL} fenotipi oluşumundan mRNA’da 9. ekzonun bulunmaması [2] ile sonuçlanan ekzon 9’daki 3’ nükleotidindeki sessiz mutasyon (1227G>A, Lys409Lys) sorumludur [5].



Şekil 2-11: Zayıf D fenotiplerin moleküler temeli

Asya'da gözlenen D_{EL} fenotipi anti-D üretimi ile ilişkili değildir. Anti-D antikorlu olan 104 hamile Çinli kadının hiçbirinde D_{EL} bulunmamıştır. D negatif olan ve gebelik geçirmiş 199 Çinli kadının 44'ünde D_{EL} varyant ve anti-D üretimi olmadığı görülmüştür. D negatif kan grubundaki 155 kadının 38'inde anti-D antikorlu tespit edilmiştir [5, 35]. Beyaz ırkta en sık gözlenen D_{EL} alleli Met295Ile (zayıf D tip 11) ve *RHD* (IVS3+1g>a) mutasyonu sonucu oluşmaktadır. Bu *RHD* (IVS3+1g>a) mutasyonun görüldüğü 4 olguda da anti-D antikorlu tespit edilmiş ve bu olgulardan birinde var olan antikorların YDHH'na neden olduğu bildirilmiştir [5].



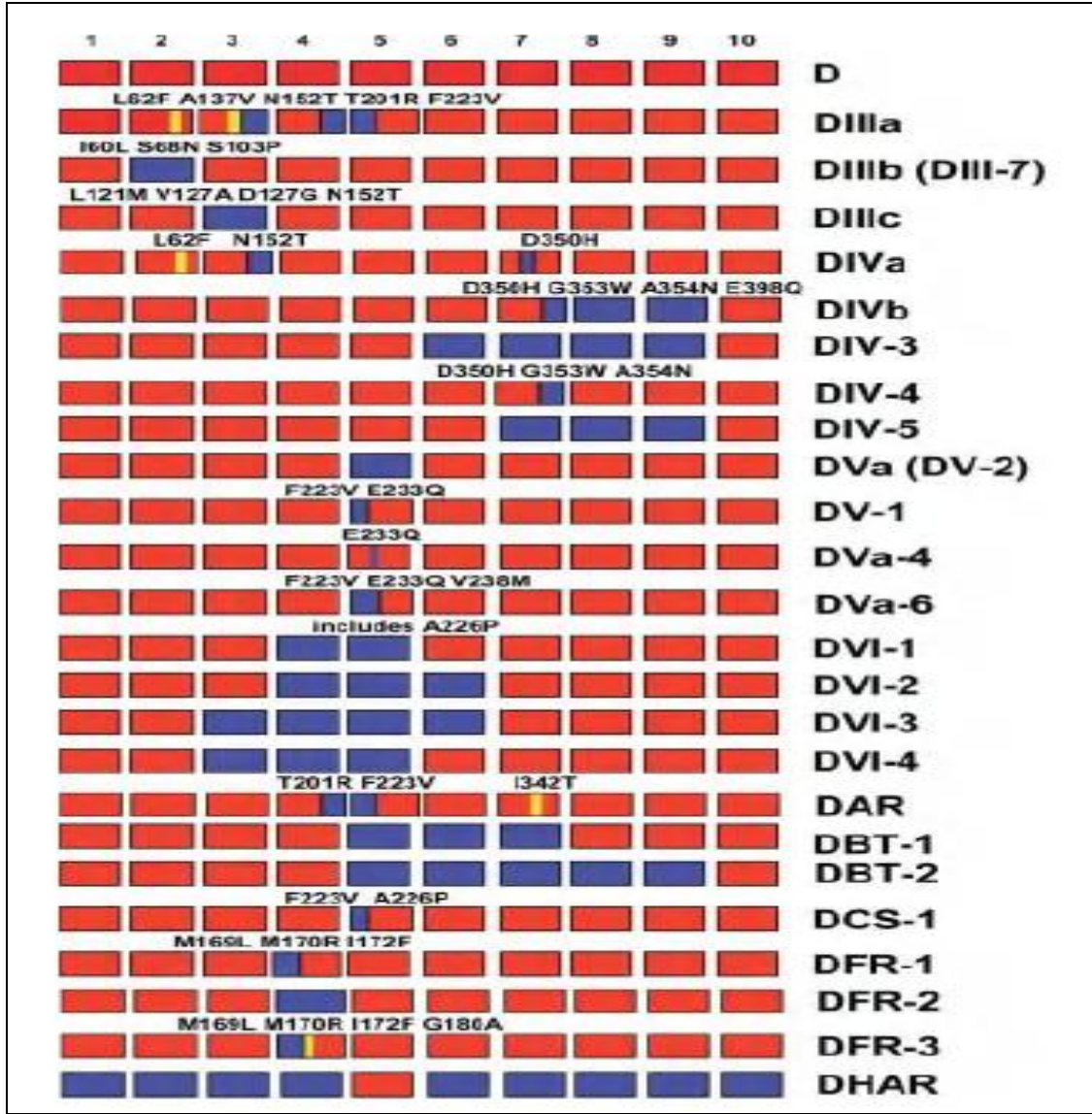
Şekil 2-12: RHD ve RHCE yeniden gen düzenlenmeleri sonucu oluşan RhD ve RhCE varyantları

Tablo 2-5: Bazı Rh antijenlerinin ve parsiyel D fenotiplerinin moleküler temeli

| Moleküler Temeli | Gen | Fenotip/ Antijen/ Genotip |
|---|------------------|---|
| Tek nokta mutasyonları | <i>RHD</i> | Parsiyel D: DMH, DVII, DHR, DVa, DII, DNB, DHO Zayıf D |
| | <i>RHCE</i> | C^X , C^W , Rh-26, E tip I, IV |
| Çoklu mutasyonlar (gen konversiyonları) | <i>RHD</i> | Parsiyel D: DIIIa, DIVa, DVa, DFR-1 |
| | <i>RHCE</i> | E tip III, IV Parsiyel D: DIIIb, DIIIc, DIVb, DVa, DVI, DFR-2, |
| Yeniden düzenlenmiş genler | <i>RHD-CE-D</i> | DBT |
| | <i>RHCE-D-CE</i> | DHAR, rG |
| | <i>RHD-CE</i> | E tip II |

Parsiyel D varyantlarının oluşumundan iki genetik mekanizma sorumludur (Şekil 2-12) : (1) *RHD* geninde bir veya genellikle birkaç nükleotid değişimi ile sonuçlanan RhD proteininde oluşan aminoasit değişimi. (2) Genetik rekombinasyon ürünü; muhtemelen gen konversiyonu sonucu *RHD* geninin bir parçasının yerine *RHCE* genin

bir parçasının yerini almasıyla oluşan bir hibrit *RHD-CE-D* geni [2, 11]. Bu hibrit genin sırasında değişen kısımlar tam *RHCE* bir ekzonu, ekzonun bir parçası veya birkaç



Şekil 2-13: Farklı D varyant fenotiplerinden sorumlu olan genler.

Kırmızı renkli kutular *RHD* geni ekzonlarını, mavi renkli kutular *RHCE* geni ekzonlarını, sarı çizgiler amino asit değişimlerini göstermektedir. *RHD*HAR* genotipi *RHCE-D-CE* geninin 10 ekzonu bulunmaktadır.

ekzon olabilir. Örneğin DHAR varyantında *RHD* geninde bir delesyon (D- gibi) vardır; ancak *RHCE* geninin 5. ekzonu *RHD* geninin 5. ekzonuna yerleşmiştir (Şekil 2-9). Bu 5. ekzon bazı D epitoplarının ekspresyonundan sorumludur [5]. Bu mutasyon sonucunda eritrosit membranındaki epitoplar kaybolabilir ve yeni antijenler oluşabilir (Tablo 2-1 ve Tablo 2-4). Örneğin DVI eritrositler BARC antijeni (Rh52) taşırlar [33]. Parsiyel D varyantlarının bazıları sadece IAT testi ile tespit edilebilir [11].

Yeniden gen düzenlenmeleri parsiyel D varyantlarında serolojik olarak da tanımlanmış alttiplerin oluşumuna neden olmaktadır: örneğin *RHD*DV1*'nin dört tipi vardır. Hepsinde bir *RHD-CE-D* hibrit geni vardır: *DV1* tip 1'de *RHCE* kaynaklı 4 ve 5 ekzonlar, tip 2'de *RHCE* kaynaklı 4-6 ekzonlar, tip 3'te *RHCE* kaynaklı 3-6 ekzonlar ve tip 4'de *RHCE* kaynaklı 3,4,5 ekzonları bulunmaktadır (Şekil 2-12 ve 2-13). Tüm bu değişimler RhD proteinin eksternal halkalarında gözlenmektedir [2, 5, 12, 33, 36] ve oluşan D antijeni *DV1* varyantının tipik epitopunun karakteristik özelliğindedir [2, 5, 12, 33]. Oluşan fenotipler benzer değildir, *DV1*-ilişkili antijen olan BARC antijeninin dayanıklılığı ve ekspresyonu farklıdır. Yedi tip *RHD*DV* vardır ve tüm alt tiplerde Glu233Gln değişimi bulunurken *DV* tip 4'de 5. ekzonda fazladan bir mutasyon bulunur [5].

DV1 kişilerde az sayıda D epitopları vardır ve çoğu anti-D antikorları *DV1* hücreleri ile reaksiyona girmez. *DV1* sıklığı Avrupa, Amerika ve Avustralya'da %0,015 ile %0,04 arasında gözlenirken bu sıklık zayıf D olgular içinde %5-16 arasında sıklık belirlenmiştir. Beş milyon Japon kan bağışçısında sadece 1 olguda *DV1* bulunmuştur. Çinlilerde *DV1-3* en sık ve İspanyollarda ise *DV1-4* en sık gözlenen *DV1* alt tiptir [12].

RHCE ve *RCD* genleri arasındaki çoklu amino asit değişimleri yanında tek nokta mutasyonları ile de oluşan *DVII*, *DFM* ve *DMH* gibi (Tablo 2-5) D parsiyel varyantları da bulunmaktadır [2].

2.5. D Antijenin Klinik Önemi

Transfüzyon öncesi testler alıcıda sorun oluşturmayacak kanın seçilmesi amacıyla yapılmaktadır. Yıllarca bu grupta yer alan en önemli testin cross-match olduğu düşünülmüştür. Ancak kan merkezlerinde bilgisayar kullanımının yaygınlaşması ve transfüzyon reaksiyonlarının bildirimine ilişkin standartların gelişmesi, transfüzyon öncesi en önemli testin kan gruplarının saptanması olduğunu göstermiştir. Transfüzyon öncesi hem alıcıda hem de bağışçıda klinik önemi olan kan grup sistemleri test edilmelidir. Herhangi bir kan grup sisteminin klinik önemini;

- 1- sistemle ilgili alloantikörlerin görülme sıklığı
- 2- alloantikörlerin tipi
 - immünglobulin tipi/alt sınıfı
 - komplemanı aktive edebilme yeteneği belirlemektedir.

Bu özellikler hemolitik transfüzyon reaksiyonlarında antikorun eritrositleri tahrip etme şeklini ve şiddetini belirleyen faktörlerdir.

Farklı donörlere ait eritrositlerde de kantitatif farklar vardır. Bu farklılık antijenin homozigot veya heterozigot olmasından, antijeninin reaktivitesinin bireyden bireye değişmesinden, bireyin yaşından kaynaklanabilir. Tablo 2-6'da klinik önemi olan kan gruplarında antijenite gösterilmiştir.

Alloantikor taşıyan eritrositlerin uygun antijenle reaksiyon vermesi nedeniyle oluşan eritrosit yıkımı transfüzyon tıbbı açısından önemli olan klinik komplikasyonların nedenidir. Anti-D anti-A ve anti-B antikorlarından sonra klinik olarak en önemli eritrosit antikorudur (Tablo 2-6). D antijeni yüksek oranda immünojeniktir ve RhD antijenlerine karşı oluşan alloimmunize cevapta hemolitik transfüzyon reaksiyonları ve YDHH'ye neden olan yüksek affinitede IgG antikor oluşmaktadır. D negatif hastaların mutlaka D negatif eritrosit ürünlerini alması gerektiğinden çoğu ülkede her transfüzyon işleminde bağışçı ve alıcısına RhD tiplendirilmesi rutin olarak yapılmaktadır. Ayrıca serumlarında anti-D antikorunu var olan bireylerde bu antikor hızla artan bir oranda transfüze edilen zayıf D pozitif eritrositleri yıkabilmektedir. D antijeninin zayıf bir formunu eksprese eden eritrositler normal yapıdaki D antijeni kadar antijenik özellik taşımamasına rağmen D antijen epitoplarının tümü eksik olan bireyler D antijeninin bir veya daha fazla epitopuna karşı antikor oluşturabilmektedirler. Bu özellikle menopoza girmemiş kadınlarda yapılan kan transfüzyonlarının gebelik süresince fetusa zarar verme potansiyeli nedeniyle önemlidir. Eğer hamilelik öncesi annenin kan grubu D negatif ise annenin kanı varyant D açısından incelenmelidir. Bu annenin kan grubu D negatif ve bebeğin kan grubu D pozitif olması durumunda oluşan fetomaternal kanamaların tespitini kolaylaştırmak için gereklidir. Ayrıca bebek D negatif, anne D negatif ve annenin serumunda anti-D antikorları varsa yeni doğanın kanı da D antijeni bakımından incelenmelidir [3, 37].

Şiddetli akut ve gecikmiş tipte HTR'ye neden olma potansiyeli bulunduğundan anti-D antikorunu bulunan bir hastaya kesinlikle D pozitif kan verilmemelidir: D pozitif eritrositler D negatif alıcılara transfüze edilmemelidir.

Tablo 2-6: Klinik önemi olan kan gruplarında rölatif antijenite*

| Kan Grup Antijeni | Antikor Oluşturma Olasılığı (%) |
|--------------------------|--|
| D | 70,00 |
| C | 0,22 |
| c. | 4,10 |
| E | 3,38 |
| e. | 1,12 |
| K | 10,00 |
| k. | 3,00 |
| Jk ^a | 0,14 |
| Jk ^b | 0,06 |
| Fya | 0,46 |
| S | 0,08 |
| s. | 0,06 |

* spesifik antijen açısından negatif bir kişiye pozitif bir ünite kan verilmesi durumunda antikor oluşturma olasılığı

Anti-D antikoruna ciddi YDHH'ye yol açabilir. Bu durum immünize olan annenin kanındaki IgG yapısındaki anti-D antikorlarının plasentaya geçerek fetal eritrositleri yıkması ile ortaya çıkmaktadır. Anti-D antikoruna kaynaklı YDHH'da en kötü olasılık gebeliğin fetal ölümle sonuçlanmasıdır. Eğer doğum gerçekleşirse bebekte hidrops, sarılık ve kernikterus sonucu ölüm veya kalıcı beyin hasarı oluşabilir. YDHH olgularının çoğunda anne daha önceki bir gebelik süresinde ve doğum aşamasında transplasental kanama ile maternal dolaşıma geçen D pozitif fetal eritrositlerle immünize olmuş ve bunun sonucunda anti-D antikoruna oluşmuştur. Olguların çoğunda D pozitif bir bebek doğuran D negatif annelere doğumdan hemen sonra bir doz anti-D immünglobulin uygulaması ile anti-D immünizasyonu önlenmektedir. Gebelik sırasında oluşabilecek immünizasyonu azaltabilmek için D negatif gebelere antenatal anti-D immünglobulin uygulanması çoğu ülkenin rutin gebe takibi pratiğinde yer almaktadır [3].

D negatif kadınlara kesinlikle D pozitif eritrosit transfüzyonu yapılmamalıdır. D negatif bir genç kadına herhangi bir nedenle D pozitif D pozitif kan ürünü verilmesi durumunda transfüzyonu takiben hemen anti-D immünglobulin uygulanmalıdır. Varyant D annede gelişen anti-D antikoruna normal D antijenine sahip fetusta ciddi YDHH'ye neden

olabilir. Varyant D olarak tanımlanan ve D pozitif bir bebek doğuran kadınlara anti-D immünglobulin uygulanması unutulmamalıdır.

Zayıf D Tip 1, 2 ve 3 genotipindeki kişiler çok nadiren alloanti-D üretmektedir. Bu nedenle bu genotipteki hastalar D pozitif olarak ve diğer tüm varyant genotipteki hastalar D negatif değerlendirilmelidir. Anti-D profilaksisi Zayıf D tip 1, 2 ve 3 genotiplerinden farklı D varyant eritrositleri (özellikle DVI) olan annelere gebelik süresinde ve doğum sonrası uygulanmalıdır. D varyant (DVa ve zayıf D tip 3) genotipinde fetuslara gebe D negatif annenin immünize olduğu olgular vardır [5].

2.6. RhD Testleri

İngiltere’de transfüzyon merkezlerinde anti-D antikoruna ile kan grubu testi aşamasında +3’den zayıf reaksiyon veren tüm hastalara varyant DVI eritrositler ile negatif reaksiyon veren iki IgM tipinde monoklonal anti-D antikoruna ile direkt testin yapılması önerilmektedir [38]. Amerika Birleşik Devletleri’nde ise gebeler dışındaki hastalara IAT ile zayıf doğrulama testi gelişen monoklonal IgM antikor teknolojisi nedeniyle önerilmemektedir [11]. Her iki ülkede de D varyant fenotiplerinin daha zayıf formlarının tespit etmeye yönelik IAT ile varyant D doğrulama testlerinin hastalara uygulanması önerilmemektedir. Ülkemizde hastalar için belirlenmiş kan merkezi standartları bu iki ülkenin uygulamaları ile aynı paralelliktedir.

Kan merkezlerinde anti-D üretme kapasitesileri nedeniyle D negatif hastaları immünize edebilecek bağışçı eritrositlerini D pozitif olarak etiketlemek kuraldır. Kan bağışçılarının varyant D fenotiplerini belirlemek için DVI eritrositler ile pozitif veren reaktifler seçilir. Bu nedenle DVI varyant kişiler D pozitif bağışçı, D negatif hasta olarak değerlendirilirler.

D^{DEL} gibi bazı D varyantları IAT ile varyant D doğrulama testi uygulanmasına rağmen kan merkezi agglütinasyon testleri ile tespit edilemez. D^{EL} , eritrositlerin D negatif hastalara transfüzyonunun immünizasyona neden olduğu bilinmektedir. Zayıf D Tip 2, zayıf D Tip 26, *dCe* trans zayıf D Tip 1 gibi farklı D çok zayıf formları da rutin serolojik testler ile tespit edilememektedir [5].

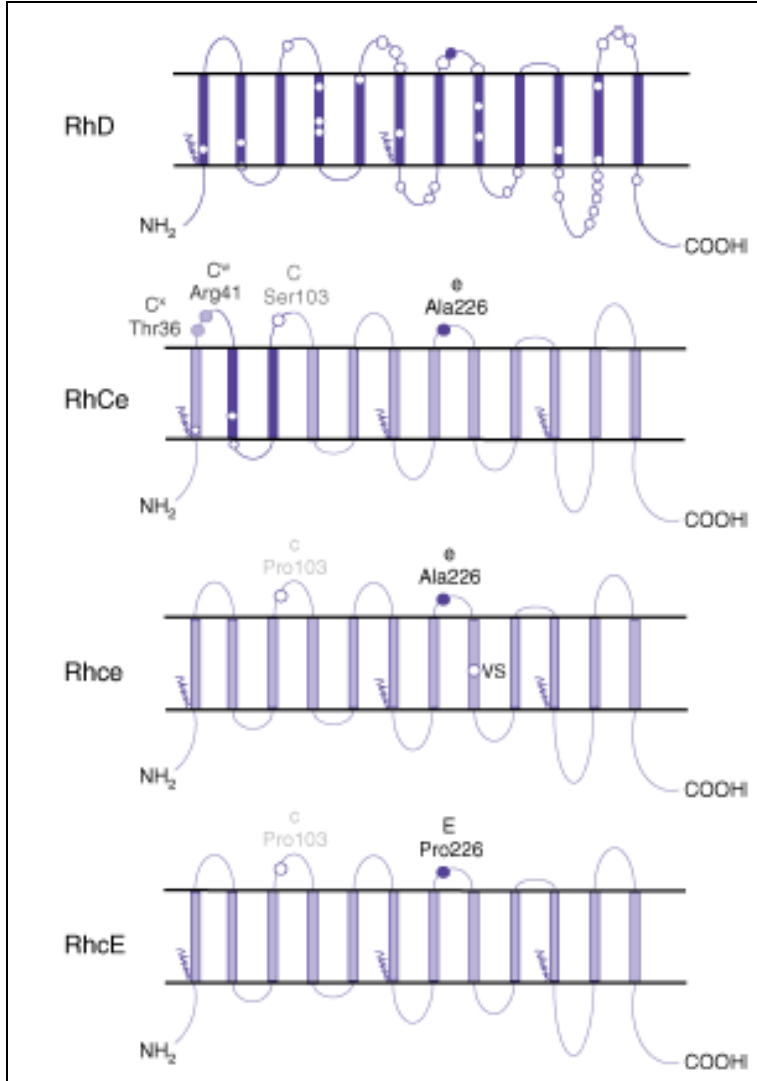
2.7. C/c ve E/e Antijenleri RH2, RH4, RH3, RH5)

RHCE genleri C veya c ve E veya e antijenlerini kodlarlar: ve dört farklı protein oluşur. RhCe, Rhce, RhCE ve RhcE (Şekil 2-14). C/c ve E/e polimorfizmleri RhCcEe proteinindeki aminoasit değişiklikleri ile ilişkilidir. C/c *RHCE* geninin 2. Ekzonu

tarafından kodlanan ikinci ekstrasellüler halkadaki Ser103Pro değişikliğine bağlıdır. C antijeni ekspresyonu Ser103Pro tek başına yeterli değildir: proteinin yapısında ser103 ile Cys16 ve RhCE proteinlerinin diğer karakteristik aminoasitlerinin bulunması gereklidir. Ancak zayıf ve anormal C eksprese eden bazı nadir varyantlarda Cys16 olmaması tüm C epitoplarının varlığı için gerekli olmadığını ortaya koymuştur. E/e polimorfizmi RHCE genindeki 5. ekzon tarafından kodlanan dördüncü ekstrasellüler halkadaki Pro226Ala değişikliğinden kaynaklanmaktadır (Şekil 2.14) [29].

İngiliz bağışçılarda C ve c antijen sıklığı %68 ve %81 olarak bulunmuştur. Siyah Afrikalılarda c sıklığı daha yüksek ve C sıklığı daha düşük iken Doğu Asyalılarda tam tersi bir şekilde C sıklığı daha yüksek (%100) ve c sıklığı daha düşük olarak görülür. E ve e ise bir başka alel çifti tarafından üretilir. Tüm populasyonlarda e, E'den daha yaygın olarak görülür [12].

RHCE geninde olan nükleotid değişiklikleri C/c ve E/e antijen ekspresyonunda kalitatif ve kantitatif değişikliklere neden olur. Mutasyonlar sonucu oluşan varyant fenotipleri C^W, C^X, RN, R0^{Har}, RG, EI, EII, EIII, eU (RH6), C varyant (Rh-26), VS olarak sayılabilir. C^W (RH8) genellikle varyant R¹ veya r' genlerinin ürünüdür. C^X (RH9) de R¹ ve r'-varyant genleriyle ilişkilidir. İngiliz toplumunda yaklaşık %2,6 oranında bir sıklıkta görülen C^W(Gln41Arg), C^X(Ala36Thr)antijeninden daha sık olarak görülür. Bu değişimler proteinde C antijeninin ekspresyonunun azalmasına neden olmaktadır. Anti-C^W tespiti rutin kan bankacılığı testlerinde yaygın olarak yapılmaktadır[11, 37] C-like (Rh39) ve c-like (Rh26) antijenleri Cc lokusunda bulunan diğer alleller tarafından kodlanan antijenlerdir [37]. E antijeninin varyant formları arasında daha çok siyah ırkta bulunan E^W (RH11) ve E^T (RH24) antijenleri yer almaktadır. E^T E pozitif hücrelerin çoğunda bulunan E antijeninin bir komponenti olarak gözükmemektedir. E^W ise E antijen bir parçası değildir ve E lokusunda genetik olarak bulunan bir başka alternatif allelin ürünü olma ihtimali olduğu düşünülmektedir. Anti-E^W olan tüm olgular immünizedir ve YDHH'ne neden olmuştur [12].



Şekil 2-14: RhD ve RhCE proteinlerinin membran yerleşimleri [29]

Zayıf D ekspresyonu *RHD* geninin diğer genlerle etkileşimi sonucu da oluşabilir. Özellikle beyaz ırktan insanlarda Dce ve DcE haplotipi ile ilişkili olarak gözükabilir. Bu *RHCE**C geninin *RHD* genine pozisyon etkisi sonucu ortaya çıkmaktadır. C geni D genine trans pozisyonda (yani *Dce/Ce*) kalıtıldığında D antijeninin zayıf ekspresyonu görülürken C geni ve D geni birlikte kalıtılmadığında (yani *dce* veya *dcE*) normal D antijeni ekspresyonu gözlenmektedir [11]. C geni ve D geni birlikte kalıtılmadığında (yani *dce* veya *dcE*) normal D antijeni ekspresyonu gözlenmektedir [12].

2.8. Rh Sistemi Antikorları

Hamilelik veya eritrosit transfüzyonu nedeniyle kişilerin kendilerinde olmayan antijenlerle karşılaşmaları ile bu antijenlere karşı immünize olduklarında bu bireyde

olmayan antijenlere karşı ancak Rh sistemi antikorları oluşmaktadır. Rh sistemi antikorları IgG sınıfı genellikle de IgG1 veya IgG3 alt grubundan (IgG2 ve IgG4 grubunda da tespit edilmiştir) olmaktadır. IgG sınıfı antikorların içinde IgM sınıfına ait küçük bir komponentin olduğu veya IgA sınıfı anti-D antikorlarının görüldüğü birkaç olgu bilinmektedir [12, 37]. Rh sistemi antikorları kompleman sistemini aktive etmediği bilinmemekle beraber iki nadir olgu rapor edilmiştir. Rh antikorlarının kompleman sistemini aktive etmemesinde antijen bölgeleri arasındaki uzaklık kaynaklı olduğunu ve bunun da C1q bağlanması için gerekli IgG molekülleri arasındaki etkileşimi engellediği düşünülmektedir [2, 12, 29].

Anti-D hemolitik transfüzyon reaksiyonu ve YDHH oluşturma potansiyeline sahiptir. D negatif insanların yaklaşık %80-85 oranında D pozitif eritrosit verildiğinde anti-D oluşumu gözlenir. Anti-D antikor oluşumunun gözlenmesinde antijen dozu ve bilinmeyen genetik faktörler etken olabilir. Anti-D en yaygın gözlenen Rh antikorudur ancak YDHH'den korunmak için Rh immünglobulin profilaksisinin kullanımı insidensini azaltmıştır.

Anti-c ciddi YDHH'ye neden olan ikinci en önemli Rh antikorudur. Anti-C, anti-E ve anti-e nadiren YDHH'ye neden olur ve genellikle hafif seyredir [2, 11] ve anti-D dışındaki diğerlerinin immünojenite sırası c>E>e>C şeklindedir.

2.9. Jel Santrifüjasyon ve Kolon Agglütinasyon Yöntemi

Kan bankalarında eritrosit antijen ve antikorları arasında reaksiyonlarının gösterilmesinde RIA ve EIA de dahil olmak üzere çok sayıda serolojik teknik kullanılmaktadır. Ancak bu teknikler arasında en basit ve yaygın kullanılan agglutinasyondur. Elektrolitli ortamda eritrositlerin yüzeyindeki antijenler, ortamda bulunan kendilerine özgü antikorlar ile birleşecek olurlarsa, eritrositler birbirine yapışarak gözle görülebilecek büyüklükte kümeler oluşturarak çökerler. Bu olaya hemagglütinasyon denir. Hemagglütinasyon sonuçlarını ortamın fiziksel nitelikleri (inkübasyon ısısı, süresi, santrifüj süresi ve hızı, ortamın pH değeri, kullanılan solüsyonlar, enzimler, makromoleküller) ve eritrositlerin özellikleri (yüzey antijenlerinin tipi, sayısı, lokalizasyonu ve immünojenitesi, antijenin homozigot veya heterozigot ekspresyonu edilmesi) kadar serum protein içeriği ve içerdiği antikorların yapı ve türleri ile etkiler. Hemagglütinasyon testleri lam yöntemi, tüp yöntemi ve son

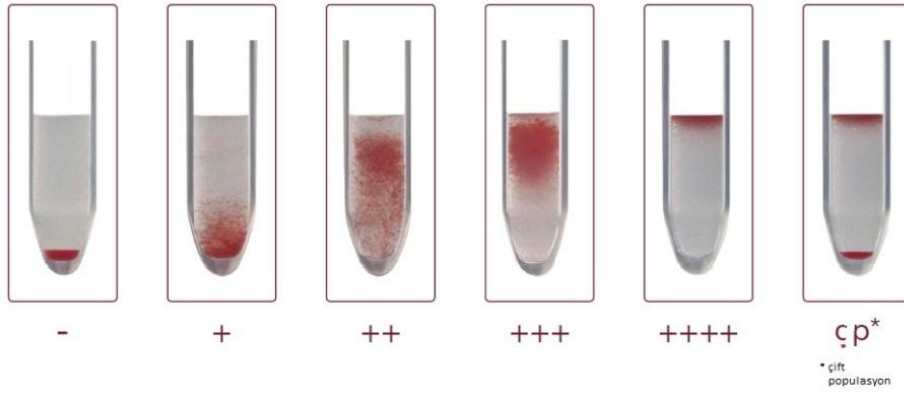
yıllarda güvenilirliği nedeniyle kullanılımları artan jel santrifügasyon/kolon agglütinasyon yöntemi olarak uygulanmaktadır.

Serum fizyolojik içerisinde süspansiyon edilen eritrositler birbirlerine ortalama 25 nm uzaklıkta dururlar. Bu uzaklık, eritrositlerin yüzeylerindeki negatif elektriksel yük nedeniyle birbirlerini itmesi sonucu oluşur. Eritrositlerin yüzeylerindeki negatif yükün derecesi “**zeta potansiyel**” olarak ifade edilmektedir. Eritrosit yüzeyi negatif yüklerle kaplıdır. Serum fizyolojik içerisinde süspansiyon edildiklerinde katyonlar (+ yüklü sodyum iyonu) da eritrosit yüzeyini kaplar. Bu nedenle zeta potansiyel denildiğinde tek başına eritrosit yüzeyindeki negatif yük anlaşılmalıdır. Zeta potansiyel eritrosit yüzeyindeki negatif yükü onu kuşatan katyonların oluşturduğu potansiyel farkını gösterir. Zeta potansiyel küçüldükçe eritrositler sıvı ortamda birbirlerine yaklaşırlar. Zeta potansiyelin optimal düzeyi IgM için $-22-17$ mV, IgG için ise $-11-4,5$ mV'dur.

Eritrositler arası uzaklığı kısaltma (ortama proteolitik enzimlerin, albuminin ve polikasyonların eklenmesi eritrositlerin LISS ile süspansiyon edilmesi ve santrifüj gücü ile eritrositlerin birbirine yaklaşması sağlanması) ve ortama Coombs serumu eklenmesi ile iki eritrosit arasında köprü oluşturma hemagglütinasyonun daha kolay oluşmasını ve görülmesini sağlar.

Jel santrifügasyon/kolon agglütinasyon [39-41] testi tüpte agglütinasyon tekniğindeki bazı değerlendirme zorluklarını, test prosedürlerindeki güçlükleri ve fiziksel veya kanla ilgili faktörlere bağlı hatalı sonuçları çözümlenebilmek amacıyla geliştirilmiştir. Testte plastik kartlar kullanılmaktadır. Her kartın üzerinde en az 6 mikrokuyu vardır. Mikrokuyuların tabanı sonuçların daha iyi değerlendirilmesi için konik, üst kısmı da geniş olarak yapılmıştır. Tüp yönteminden farklı olarak bu metotta mikrokuyular içerisinde jel veya boncuklar vardır. Jelin yapısında sephadex jel denen bir madde ya da cam mikroboncuklar kullanılmıştır. Testte zaman ve hız yönünden standardize edilmiş bir santrifüj kullanılmaktadır. Santrifüj işlemi kullanılan sistemlere göre değişmektedir. Deneysel çalışmalar santrifüj ekseninin de önemli olduğunu göstermiştir. Bu nedenle eksen santrifüj gücü ile vertikal ve horizontal planda tam bir doğru oluşturmaktadır.

Sistemde jel veya cam boncuklar sadece agglütine olmayan eritrositlerin geçişine izin verir. Agglütine olmayan eritrositler santrifüj işlemi sırasında jel veya cam boncuk tabakasını geçerek konik kısımda çökerler (Şekil 2-15). Eritrositler agglütine olmuşsa oluşan agglütinasyonun şiddetine bağlı olarak farklı büyüklükte kümeler



Şekil 2-15: Jel santrifügasyon / kolon agglütinasyon yönteminde reaksiyonların değerlendirilmesi

oluşur. Kuvvetli agglütinasyonda kümeler çok büyüktür ve jel üzerinde tabaka oluşturarak kalır, daha zayıf agglütinasyonlardaysa kümelerin bir bölümü jel içerisinde difüze olur. Oluşan kümelerin jel içerisindeki difüzyon güçleri mikroskobik değerlendirmeye gerek olmaksızın agglütinasyon şiddetini tanımlamaya olanak verir (Şekil 2-15).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Bireyler

Bu çalışma, 01.01.2011- 01.02.2017 yılları arasında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Kan Merkezi İmmünohematoloji Laboratuvarı'nda kan gruplama testleri yapılan kan bağışçıları üzerinde yapılmıştır. Çalışma grubu kan merkezine başvuran yaşları 20 - 52 (ortanca 35) arasında değişen 6 kadın, 61 erkek toplam 67 standart bağışçı olma koşullarını sağlayan sağlıklı bağışçı olarak oluşmuştur. Bağışçıların laboratuvar analizleri İstanbul Tıp Fakültesi Kan Merkezi İmmünohematoloji Laboratuvarı'nda ve İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı. Bu çalışma için İstanbul Tıp Fakültesi Etik Kurulundan Etik Kurul raporu (2011/1906-825) alındı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Periferik Venöz Kan Alımı

Kan örnekleri donör sorgulaması ve fizik muayenenin ardından antekubital ven kullanılarak EDTA içeren vakumlu tüplere (EDTA glass tubes with Hemogard closure, BD Vacutainer Systems, Preanalytical Solutions, Belliver Industrial Estate, Polymouth, PL6 7BP. UK) 2 mL ve 10 mL olarak alınmıştır. Bu örneklerden kişilerin jel santrifügasyon /kolon agglütinasyon yöntemi kullanılarak ABO ve Rh major kan grubu fenotiplemesi yapılmış ve +4 pozitif dereceden az reaksiyon veren ya da D negatif olarak saptanan tüm bağışçıların eritrositleri IAT ile varyant D yönünden araştırılmıştır. Ayrıca tüm bağışçıların direkt Coombs testleri ve Rh alt grup tayini de yapılmıştır. Kişilerin DNA izolasyon kiti kullanılarak DNA örnekleri elde edilmiş ve Sekans-Spesifik Primer (SSP)-PZR yöntemi kullanılarak varyant D analizleri yapılmıştır.

3.2.2. Major Kan Grubu Tayini

Major kan gruplaması kolon agglütinasyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla ticari olarak üretilen ABO/D (ABO-Rh/Reverse Grouping Cassette; Ortho BioVue System, Ortho Clinical Diagnostics, Inc, Johnson&Johnson Company, Raritan, NJ, USA) hazır kartlar kullanılmıştır. Bu kartlar 6-8 mikrokuyudan oluşmaktadır, bu mikrokuyularda sırası ile fare kaynaklı monoklonal anti-A, fare kaynaklı monoklonal anti-B, insan kaynaklı monoklonal anti-DVI(-) (D7B8

klonu) emdirilmiş cam boncuklar bulunmaktadır, 4. mikrokuyuda ise negatif kontrol olarak kullanılmak üzere sadece antikor içermeyen boncuklar yer almaktadır. 5. ve 6. kuyuda reverse gruplama için ayrılmıştır.

Ayrıca ticari olarak farklı iki jel santrifügasyon ABO/D kartı kullanılarak D fenotipi ikinci kez çalışıldı. Kullanılan kartlardan birinde DVI- kuyusunda monoklonal anti-D, insan kaynaklı IgM antikorları (RUM1 klonu) DVI+ kuyusunda monoklonal anti-D insan kaynaklı IgG ve IgM antikorları, RUM1 klonu ile MS-26 klonu (A/B/AB/D^{VI-}/D^{VI+}/Ct1/N_{A1}/N_B kart; Across, Dia Pro A.Ş, Gebze, Kocaeli, Türkiye) bulunmaktadır. Diğer konfigürasyonda ise DVI- kuyusunda monoklonal anti-D, insan kaynaklı IgM antikorları (P3x61 klonu) DVI+ kuyusunda monoklonal anti-D insan kaynaklı IgG ve IgM antikorları karışımı, P3x290, P3x35, P3x61 ve P3x21223 B10 klonları [DG Gel ABO/Rh (2D); Diagnostic Grifolds, S.A. Parets del Valles, ESPANA]) içeriğindedir. Çalışmada bağışçıların RhD fenotipini belirlemede kullanılan Anti-D antikorları Tablo 3-1’de gösterilmektedir.

Tablo 3-1: Jel santrifügasyon / kolon agglütinasyon yöntemi ile RhD fenotipi belirlemede kullanılan antikorlar

| ANTİKOR 1 | ANTİKOR 2 | | ANTİKOR 3 | |
|------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--|
| | Anti- D ^{VI(-)} | Anti- D ^{VI(+)} | Anti- D ^{VI(-)} | Anti-D D ^{VI(+)} |
| <i>IgM</i> | <i>IgM</i> | <i>IgM + IgG</i> | <i>IgM</i> | <i>IgM + IgG</i> |
| D7B8 | RUM1 | RUM 1 MS-26 | P3x61 | P3x290 P3x35 P3x61 P3x21223 B10 |

3.2.3. ABO /RhD Test Çalışması

Kan bağışçılarının EDTA’lı tüplere alınan kan örnekleri masaüstü santrifüjde (Hettich Universal 320S; Hettich, D-78532 Tuttlingen, Germany) 5000 rpm’de 1 dakika santrifüj edilmektedir. Paketlenmiş (tüpün dibinde katman oluşturmuş) eritrositler serum fizyolojik (SF; %0,9 İzotonik Sodyum Klorür Sudaki Solüsyonu, Neofleks, TürkTıpsan Sağlık Turizm Eğitim ve Tic. A.Ş, Akyurt, Ankara, Türkiye) kullanılarak %5’lik eritrosit süspansiyonları hazırlanmakta ve bu süspansiyonlardan her mikrokuyuya 10µL pipetlenmektedir. Kartlar jel santrifügasyon/kolon agglütinasyon testleri için özel tasarlanmış santrifüjler (BioVue Centrifuge; Ortho BioVue System,

Ortho Clinical Diagnostics, Inc, Johnson&Johnson Company, Ratiran, NJ, USA/Across Centrifuge; Across, Dia Pro A.Ş, Gebze, Kocaeli, Türkiye) kullanılarak kullanılan sisteme göre değişmek üzere sırasıyla 2 fazlı devir hızında (794 rpm'de 2 dakika + 1.510 rpmde 3 dakika) 5 dakika ve 990 rpm'de 9 dakika süreyle santrifüj edilmekte ve değerlendirilmektedir.

3.2.3.1. Kan Grubu Testlerinin Yorumu

Jel santrifügasyon/ kolon aglütinasyon yönteminde santrifüj işlemi sonrası agglütine olan hücreler mikrokuyudaki jelin (boncukların) üstünde kırmızı bir çizgi oluşturuyor veya jelin (boncukların) içine dağılıyorsa reaksiyon pozitif; yada hücreler tümüyle mikrokuyunun tabanına çöküyorsa negatif olarak yorumlanmaktadır. Pozitif sonuçlar ise agglutine olan eritrositlerin mikrokuyuda dağılış biçimlerine göre 1 ile 4 derece arasında (+1, +2, +3 ve +4 olmak üzere) değerlendirilmektedir [39, 40]. ABO (Tablo 3-2) RhD gruplaması (Tablo 3-3) için sonuçlar yorumlanmıştır.

Tablo 3-2: ABO kan grubu reaksiyonlarının değerlendirilmesi

| Reaksiyon Şiddeti | | | Kan Grubu |
|-------------------|---------|---------|-----------|
| Anti-A | Anti-B | Anti-AB | |
| 4 | Negatif | 4 | A |
| Negatif | 4 | 4 | B |
| 4 | 4 | 4 | AB |
| Negatif | Negatif | Negatif | O |

Bu çalışmada kullanılan kartlarda RhD antijeninin eritrositler üzerinde varlığını ve yokluğunu göstermek için farklı iki monoklonal anti-D antikor kullanılmıştır. IgM+IgG tipindeki anti-D antikor D antijeni yanında DVI parsiyel antijenini de içeren varyantları da tanıyabilmektedir. IgM tipindeki monoklonal mikrokuyuda bulunan anti-D antikor ise D antijenini tanıırken D parsiyel antijenlerini tanıyamamaktadır.

Tablo 3-3: RhD fenotipin direkt kan gruplama testi sırasında değerlendirilmesi

| Reaksiyon Şiddeti | | Kan Grubu |
|--|--|-------------|
| Anti- D ^{VI(-)} IgM Anti-D | Anti- D ^{VI(+)} IgG Anti-D | |
| 4 | 4 | RhD pozitif |
| ± ile +3 | ± ile +3 | zayıf D |
| ± ile +3 | Negatif | D parsiyel |
| Negatif | Negatif | RhD negatif |

3.3. Zayıf D Fenotipin Saptanması

Zayıf D ise her iki anti-D mikrokuyusundaki reaksiyonun +4 dereceden daha zayıf olması ile saptanmaktadır. Zayıf D fenotipinin izlendiği durumlarda monoklonal anti-D içeren mikrokuyuda izlenen reaksiyonun değerlendirilmesi (Tablo 3-3) ile bu fenotipin DVI parsiyele bağlı olup olmadığı anlaşılmaktadır. Bu test sonrası D antijeni açısından negatif olarak saptanan olgularda zayıf D fenotipi ekarte edilemediği için tüm D negatif donörlere IAT ile zayıf D yönünden doğrulama testi uygulanmıştır.

3.3.1. IAT ile Zayıf D Doğrulama Testi

IAT ile anti-D testi için monoklonal anti-D IgG/M (LDM3 ve ESD1 hücre dizisi) içeren süspansiyon (Anti-D blend, Human/Murine Monoclonal IgM/IgG ALBAclone, Alba Bioscience Limited, Ellen's Glen Road, Edinburg, Scotland, UK / Anti-D Weak, Medical device for the screening of D weak and/or partial D (RH1) antigen, Diagast, Digast 251, AV, AVINEE 59120 Loos-France) ve anti-D IgG (H1121G6+LORIFA hücre dizisi) içeren süspansiyon (Anti-D (RH1) IgM+IgG; Bioclone, Ortho BioVue System, Ortho Clinical Diagnostics, Inc, Johnson&Johnson Company, Raritan, NJ, USA) kullanılarak (Tablo 3-4) gerek zayıf D gerekse de D parsiyel fenotipteki eritrositlerin monoklonal anti-D antikoru ile olan reaksiyonları değerlendirilmektedir.

Tablo 3-4: IAT ile zayıf D doğrulama testinde kullanılan antikorlar

| | ANTİKOR 4 | ANTİKOR 5 | ANTİKOR 6 |
|------------|-----------|------------|-----------|
| <i>IgM</i> | LDM3 | | H1121G6 |
| <i>IgG</i> | ESD1 | P3x35 ESD1 | LORIFA |

3.3.2. Testin Yapılışı

EDTA'lı tüplere alınmış kanlar 2000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj edilerek eritrositler ve plazma birbirinden ayrılmaktadır. Santrifüj işlemi sonrası paketlenmiş eritrositlerden SF ile %0.08'lik eritrosit süspansiyonu hazırlanmaktadır. Her bağışçı için AHG (anti-IgG,-C3d; polyspesific; Bioclone, Ortho BioVue System, Ortho Clinical Diagnostics, Inc, Johnson&Johnson Company, Ratiran, NJ, USA) kartındaki bir mikrokuyuya 50µL eritrosit süspansiyonu konulmakta ve üzerine 50µL IgG yapısında monoklonal anti-D antikoruna damlatıldı. Kart 15 dakika süreyle 37°C'de (Biovue Incubator; Ortho BioVue System, Ortho Clinical Diagnostics, Inc, Johnson&Johnson Company, Ratiran, NJ, USA) inkübe edilmektedir. Kartlar 2 fazlı devir hızında (794 rpm'de 2 dakika + 1.510 rpmde 3 dakika) toplam 5 dakika süreyle santrifüj edilmekte ve oluşan reaksiyonlar değerlendirilmektedir.

3.3.3. Testin Yorumlanması

IAT ile doğrulama testi sonrasında elde edilen sonuçlar Tablo 3-5'de gösterildiği gibi yorumlanmaktadır.

Tablo 3-5: IAT ile zayıf D doğrulama testi sonrası sonuçların değerlendirilmesi

| Uygulanan Test (Kullanılan Kart) | Anti-D Antikoru ile Oluşan Reaksiyon Şiddeti | |
|---|--|---|
| Doğrudan test (ABO/Rh kartı) | 4 | +3 ile negatif arası |
| IAT ile doğrulama testi (AHG IgG kartı) | 4 | +4 ile +1 arası |
| <i>Sonuç</i> | <i>RhD pozitif fenotip</i> | <i>Zayıf D / D parsiyel fenotip</i> VARYANT D |

3.4. Rh Altgruplarının Saptanması

Rh alt gruplarının saptanması için ticari olarak üretilen hazır kartlar (D^{VI+} /anti-C/anti-E/anti-c/anti-e/anti- C^w /anti-K/Control) kullanılmıştır. Bu kartlarda 8 mikrokuyuda insan kaynaklı anti-D, anti-C, anti-c, anti-E, anti-e anti- C^w ve anti-K antikorlarını içeren jel (Rh phenotyping with Kell (K); Across, Dia Pro A.Ş, Gebze, Kocaeli, Türkiye/DG Gel RhPheno+Kell; Diagnostic Grifolds, S.A. Parets del Valles, ESPANA) bulunmaktadır. Bu kartlardaki mikrokuyulara önceden serum fizyolojik solüsyonu içinde %5'lik hazırlanmış 10 μ L test edilecek bağışçı eritrositleri konulmuştur. Kartlar 990 rpm'de 9 dakika süreyle santrifüj edildikten sonra reaksiyonlar değerlendirilmiş ve +3 ile +4 derece arasındaki antijen-antikor reaksiyonları o antijen açısından pozitif olarak yorumlanmıştır.

3.5. Direkt Coombs Testi

Direkt Coombs testi için içeriğinde AHG bulunan 6 adet mikrokuyudan kartlar (anti-IgG,-C3d; polyspesific; Bioclone, Ortho BioVue System, Ortho Clinical Diagnostics, Inc, Johnson&Johnson Company, Ratiran, NJ, USA) kullanılmıştır. Bağışçıların serum fizyolojik solüsyonu içinde %5'lik oranda hazırlanmış 10 μ L miktarındaki eritrositleri AHG içeren mikrokuyuya konulmuştur. Kartlar 2 fazlı devir hızında (794 rpm'de 2 dakika + 1.510 rpmde 3 dakika) toplam 5 dakika süreyle santrifüj edildikten sonra reaksiyonlar değerlendirilmiş, mikrokuyunun dibinde toplanan eritrositlerin oluşturduğu reaksiyonlar Direkt Coombs açısından negatif olarak değerlendirilmiştir.

3.6. DNA İzolasyonu

Bağışçıların 10 mL'lik EDTA'lı tüplere alınmış kanlarından ticari bir DNA izolasyon kiti ile (QIAamp DNA Mini Kit (250); Qiagen, Qiagen Str. 1, 40724 Hilden, Germany) DNA elde edilmiştir. DNA izolasyonu sonrasında spektrofotometre cihazında (Nanodrop 2000; Thermo Scientific, Thermo Fischer Scientific, 168 Third Avenue, Waltham, Massachusetts, USA) DNA yoğunluğu ölçümü yapılarak DNA konsantrasyonu 50-100 ng/mL olarak kayıt edilmektedir. Elde edilen DNA örnekleri -20 $^{\circ}$ C'de saklanmaktadır.

3.7. Polimerize Zincir Reaksiyonu (PZR)

PZR testi için zayıf D tiplendirme (BAGene Weak D-TYPE kit; BAGene Health

Care; GmBH, Lich; Germany) ve parsiyel D tiplendirme (BAGene Partial D-TYPE kit; BAG Health Care GmbH, Lich, Germany) kitleri kullanıldı.

3.7.1. PZR Reaksiyon Karışımı

Zayıf D ve parsiyel D genotiplerinin tespiti için 10 μ L reaksiyon hacminde PZR karışımı hazırlandı.

Zayıf D genotipleri için PZR karışım koşulları

H₂O (80 μ L)

10xPZR Buffer (10 μ L)

Taq DNA Polimeraz (0,8 μ L)

DNA (10 μ L)

olarak toplam 100 μ L miktarında hazırlandı. (Bir örnek için).

Parsiyel D genotipleri için PZR karışım koşulları

H₂O (144 μ L)

10xPZR Buffer (18 μ L)

Taq DNA Polimeraz (1,4 μ L)

DNA (18 μ L)

olarak toplam 180 μ L miktarında hazırlandı. (Bir örnek için).

3.7.2. PZR Programları

Zayıf D ve parsiyel D genotiplerinin herbiri için PZR programları (Tablo 3-6) düzenlendi ve ısı döngü cihazında (Gene Amp PCR System 9700; AB Applied Biosystems, Thermo Fischer Scientific, 168 Third Avenue, Waltham, Massachusetts, USA) sentezlendi.

Tablo 3-6: Zayıf D ve parsiyel D tiplendirme için PZR testinde kullanılan program

| Program Basamağı | Zaman | Sıcaklık | Döngü Sayısı |
|----------------------------|-----------|-------------------|--------------|
| İlk denatürasyon | 5 dakika | 96 ⁰ C | 1 |
| Denatürasyon | 10 saniye | 96 ⁰ C | 5 |
| Primer eşleşmesi + uzaması | 60 saniye | 70 ⁰ C | |
| Denatürasyon | 10 saniye | 96 ⁰ C | 10 |
| Eşleşme | 50 saniye | 65 ⁰ C | |
| Uzama | 45saniye | 72 ⁰ C | |
| Denatürasyon | 10 saniye | 96 ⁰ C | 15 |
| Eşleşme | 50 saniye | 61 ⁰ C | |
| Uzama | 45 saniye | 72 ⁰ C | |
| Uzama | 5 dakika | 72 ⁰ C | 1 |

3.7.3. Agaroz Jelin Hazırlanması

Agaroz jel (%2,0 konsantrasyonda) hazırlamak için 2 gr agaroz (Seakem LE Agarose; Lonza, Rockland, ME USA) hassas terazide tartıldıktan sonra 100 mL 0,5xTBE tamponu (10X TBE Buffer Liquid (45 mM Tris 45 mM borik asit, 0,5 mM EDTA); Multicell, Wisent Inc, 3645 Rue Principale, Saint-Jean-Baptiste, QC J0L 2B0, Canada) içinde çözülmekte ve ısıtıcı blok üzerinde kaynatılmaktadır. Jel haline gelen karışım 60⁰C'ye kadar soğutulduktan sonra içerisine 30µL ethidium bromür [Ethidium Bromide Dropper bottle (10 mL, 0,625 mg/mL); Olerup SSP AB, Franzégatan 5, 112 51 Stockholm, Sweden] ilave edildi. Tarakları yerleştirilen elektroforez kasetine sıvı agaroz dökülmekte ve jelin soğuması beklenmektedir. Soğuma sonrası taraklar çıkarılarak jel elektroforez cihazının (OWL A6 Wide Gel Horizontal Electrophoresis System; Thermo Scientific, Thermo Fischer Scientific, 168 Third Avenue, Waltham, Massachusetts, USA/ Olerup Tank; Olerup SSP AB, Franzégatan 5, 112 51 Stockholm, Sweden) tankına yerleştirilmektedir.

3.7.4. PZR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezinde Görüntülenmesi

PZR ürünlerinin jeldeki kuyucuklara çökmesini sağlamak amacıyla PZR ürününden 10µL örnek karıştırılarak jeldeki kuyucuklara yüklendi. Bütün örnekler ve 50 bç'lik DNA belirteç (DNA Ladder Low Range; Thermo Scientific, Thermo Fischer Scientific,

168 Third Avenue, Waltham, Massachusetts, U SA) yüklendikten sonra akım tankının elektrodları güç kaynağına (EC EC250-90 E-C Apparatus Corporation; Thermo Scientific, Thermo Fischer Scientific, 168 Third Avenue, Waltham, Massachusetts, USA) takılarak 210 V 10-12 V/cm'de 20 dakika yürütülmesi sağlandı. İşlemin sonunda jel UV(ultraviole) transillüminatör (220-310nm) ışığı (UV Transilluminator; Vilber Lourmat, 2002 Marne La Vallee Cedex 1, France) altında incelenmektedir. Jeldeki reaksiyonların fotoğrafları çekilerek değerlendirilmesi yapılmaktadır.

3.7.5. PZR Testlerinin Yorumu

PZR, bir çeşit "in vitro klonlama" işlemidir. PZR, DNA'nin iki zincirinin yüksek ısı ile birbirinden ayrılması (denatürasyon), sentetik oligonükleotidlerin hedef DNA'ya bağlanması (hibridizasyonu) ve zincirin uzaması (polimerizasyonu) döngüsünün belirli sayıda tekrarlanması prensibine dayanmaktadır. Her adım farklı ısılarla gerçekleştirilir. PZR ile; bir DNA bölgesini 10^6 - 10^{12} arasında çoğaltmak mümkündür. Yöntemin temeli, çoğaltılması istenen bölgenin iki ucuna özgü, bu bölgedeki baz dizilerine tamamlayıcı bir çift sentetik oligonükleotid primer (18-20 baz uzunluğunda) kullanılarak, bu iki primer ile sınırlandırıcı genin enzimatik olarak sentezlenmesine dayanır [42, 43].

Zayıf D PZR-SSP kiti içeriğinde bulunan 8 kuyuda zayıf D Tip 1, 2, 3, 4.0/4.1/4.2, 5, 11, 15 ve 17 tiplerini tanımlamaya yönelik hazırlanmış primerleri içermektedir. Yapılan PZR sonrası elde edilen sonuçlar Şekil 3-1'de gösterildiği gibi yorumlanmaktadır.

| Reaksiyon Numarası | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|---|---------------|---------------|---------------|--------------------|-----------------------------------|---------------|----------------|----------------|
| | Zayıf D Tip 1 | Zayıf D Tip 2 | Zayıf D Tip 3 | Zayıf D Tip 4 / 17 | Zayıf D Tip 4, 17, RHD(M2951), 11 | Zayıf D Tip 5 | Zayıf D Tip 11 | Zayıf D Tip 15 |
| PZR ürünü (bç) | 150 | 126 | 165 | 101 | 130 83 | 112 | 198 83 | 153 |
| Zayıf D Alleli | | | | | | | | |
| Zayıf D tip 1 | + | - | - | - | - | - | - | - |
| Zayıf D tip 2 | - | + | - | - | - | - | - | - |
| Zayıf D tip 3 | - | - | + | - | - | - | - | - |
| Zayıf D tip 4.0, 4.1 | - | - | - | + | - | - | - | - |
| Zayıf D tip 4.2, DAR | - | - | - | + | 130 | - | - | - |
| Zayıf D tip 5 | - | - | - | - | - | + | - | - |
| Zayıf D tip 11 (haplotip cDe) | - | - | - | - | - | - | 198 | - |
| RHD (M2951) (haplotip CD ₄₆ e) | - | - | - | - | - | - | 198 | - |
| Zayıf D tip 15 | - | - | - | - | - | - | - | + |
| Zayıf D tip 17 | - | - | - | - | 83 | - | 83 | - |
| Zayıf D tip 4.2, 17 | - | - | - | + | 130 83 | - | 83 | - |
| Zayıf D tip 11 / RHD (M2951) /17 | - | - | - | - | 83 | - | 198 83 | - |
| RHD pozitif veya RHD negatif | - | - | - | - | - | - | - | - |

Şekil 3-1: Zayıf D PZR testi sonrası elde edilen reaksiyonların değerlendirilmesi

Parsiyel D PZR-SSP kiti parsiyel DII, DIII, DIV, DV, DVI, DVII, DAU, DBT, DFR, DHMi, DHMii, DNB ve DHAR (*Rh33*) tiplerini moleküler olarak belirlemektedir. Yapılan PZR sonrası elde edilen sonuçlar Şekil 3-2’de gösterildiği gibi yorumlanmaktadır.

| Reaksiyon Numarası | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
|--|----------------|------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-------------------------------|----------------|-----------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| PZR ürünü | 134 | 146 | 118 | 135 | 132 | 132 | 120 | 673 | 184 | 132 | 166 | 107 | 117 | 129 | 140 |
| (bç) | D ₁ | D ₂ C | D ₃ | D ₄ | D ₅ | D ₆ | D ₇ | D _{7/8} [†] | D ₉ | D ₁₀ | D ₁₁ | D ₆ | D ₆ | D ₇ | D ₈ |
| RHD Ekzonları | Standart RHD | | | | | | | | | | | | | | |
| * İntron 7/Elzon 8 birlikte | Haplotip | | | | | | | | | | | | | | |
| D pozitif | | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - |
| | | RHD negatif | | | | | | | | | | | | | |
| D negatif cc | | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| D negatif Cc veya CC | | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | | RHD Varyantları | | | | | | | | | | | | | |
| DII ^{†e} | Cde | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | + |
| DIIIa, IIIc, III tip 4 ^{†e} | cDe, Cde, Cde | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - |
| DIIIb ^{†e} | cDe | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - |
| DIVa ^{†e} | cDe | + | + | - | + | + | + | - | - | + | + | - | - | - | - |
| DIVb, Ivb (J) ^{††} | CDe | + | + | + | + | + | + | - | - | + | + | - | - | - | - |
| DIV tip 3 | CDe | + | + | + | + | + | - | - | - | + | + | - | - | - | - |
| DIV tip 4 | CDe | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | - | - | - | + |
| Dva, Va-benzer, Va-ilişkili, DBS | CDe | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | - | - | - | - |
| DVI tip 1 | cDe | + | + | + | + | - | - | + | + | + | + | - | - | - | - |
| DVI tip 2 | CDe | + | + | + | + | - | - | - | + | + | + | - | - | - | - |
| DVI tip 3 | CDe | + | + | + | - | - | - | - | + | + | + | - | - | - | - |
| DVI tip 4 [DHMI] ^{†e} | Cde, CDE | + | + | + | - | - | - | + | + | + | + | - | - | - | - |
| DVII | CDe | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - |
| DAR (Zayıf D tip 4.2) | cDe | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | - | - | - | - |
| DAU-0, DAU-1, DAU-2, DAU-3 | cDe | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | + |
| DAU-4, [DAU-5] ^{†e} | cDe | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | - | - | - | + |
| DBT tip 1 | | + | + | + | + | - | - | - | - | + | + | - | - | - | - |
| DBT tip 2 ^{†e} | CDe | + | + | + | + | - | - | - | - | + | + | - | - | - | - |
| DFR* veya RHD psi | | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - |
| DHMI | cDE | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | + | - | - |
| DNB | CDe | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | + | - | - |
| RHCE-D(5)-CE (DHAR (Rh33)) | cDe | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| RHCE (1-9)-D(10) | cdE | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - |
| RHD-CE (2-9)-D | Cde | + | + | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - |
| RHD-CE (3-7)-D d(C)ce ⁵ | Cde | + | + | - | - | - | - | - | + | + | + | - | - | - | - |
| RHD-CE (4-7)-D | cdE | + | + | + | - | - | - | - | - | + | + | - | - | - | - |
| RHD-CE (8-9)-D | Cde | + | + | + | + | + | + | + | - | - | + | - | - | - | - |
| RHD(delEx9) [†] | Cde | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - |
| RHD(1-9)-CE(10), Zayıf D tip 20 [†] | | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - |
| RHD(Q41X) ^{†e} | Cde | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - |
| DCS, (DFW, DHR, DIM, DNU) ^{†e} | farklı/çeşitli | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - |

†e. test edilmedi

Şekil 3-2: Parsiyel D PZR testi sonrasında elde edilen reaksiyonların değerlendirilmesi

3.8. İstatiksel İncelemeler

İstatistiksel analizler için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007 (Kaysville, Utah, USA) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodları (Ortalama, Standart Sapma, Medyan, Frekans, Oran, Minimum, Maksimum) kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında Fisher-Freeman-Halton testi ve Fisher's Exact test kullanıldı. Anlamlılık p<0,05 düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. Başışçılarının Demografik Bilgileri

Bu çalışma, 01.01.2011- 01.02.2017 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakóltesi Kan Merkezi'ne başvuran kan başışçılarını üzerinde yapılmıştır. Başışçılarının laboratuvar analizleri İstanbul Tıp Fakóltesi Kan Merkezi İmmünohematoloji Laboratuvarı'nda ve İstanbul Tıp Fakóltesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

Çalışma süresince İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakóltesi Kan Merkezi'nde 177.544 kişi tarafından 198.761 kan başışı yapılmıştır. Başışçılarının yaş gruplarına (18-25, 26-35, 36-45, 46-55, 56 yaş üstü) göre dağılımını Tablo 4-1'de özetlenmiştir. Bu süre içindeki başışçılarının %95,0 oranında erkek, %5,0 oranında kadın bireylerden oluştuğu gözlenmiştir.

Tablo 4-1: İstanbul Tıp Fakóltesi Kan Merkezi'ne Ocak 2011-Şubat 2017 döneminde başvuran tüm başışçılarının yaş gruplarına dağılımını

| Yaş Grubu | n. | Yüzde (%) |
|---------------|----------------|------------|
| 18-25 | 16.095 | 9 |
| 26-35 | 67.702 | 38 |
| 36-45 | 60,342 | 34 |
| 46-55 | 27.432 | 16 |
| 56 yaş üstü | 5.973 | 3 |
| Toplam | 177.544 | 100 |

4.2. Başışçılarının Major Kan Grubu Dağılımını

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakóltesi Kan Merkezi'ne Ocak 2011- Şubat 2017 tarihleri arasında başvuran başışçılarda en sık olarak %43,0 oranında A kan grubuna rastlanırken en az sıklıkta (%6,0) AB kan grubu gözlenmiştir. Major kan gruplarının dağılımını Tablo 4-2 ve 4-3'de özetlenmiştir.

Tablo 4-2: Major kan gruplarının İstanbul Tıp Fakültesi Kan Merkezi popülasyonundaki dağılımı

| Kan Grubu | ABO/D Fenotipi | n | Yüzde (%) |
|------------------|-----------------------|----------|------------------|
| A | A RhD pozitif | 65.665 | 37 |
| | A RhD negatif | 10.341 | 6 |
| B | B RhD pozitif | 22.548 | 13 |
| | B RhD negatif | 4.241 | 2 |
| AB | AB RhD pozitif | 11.437 | 6 |
| | AB RhD negatif | 2.200 | 1 |
| O | O RhD pozitif | 50.844 | 29 |
| | O RhD negatif | 10.040 | 6 |

Tablo 4-3: İstanbul Tıp Fakültesi Kan Merkezi bağışçılarının ve beyaz ırktan insanların ABO kan grup sıklığının karşılaştırılması

| Kan Grubu | Yüzde (%) | |
|------------------|---------------------|--------------------|
| | Bağışçılarda | Beyaz Irkta |
| A | 43 | 43 |
| O | 35 | 44 |
| B | 15 | 9 |
| AB | 7 | 4 |

4.2.1. Bağışçıların RhD Kan Grubu Dağılımı

Kan bankası bağışçılarının %85'inin RhD pozitif iken % 15'lik bölümünün RhD negatif fenotipinde olduğu gözlenmiş ve varyant D fenotipine sahip toplam 228 bağışçı (% 0.12) saptanmıştır. Çalışma süresince kan merkezi bağışçılarının varyant D fenotipi dağılımı Tablo 4-4 ve Tablo 4-5 de özetlenmiştir.

Tablo 4-4: İstanbul Kan Merkezi bağışçılarının RhD dağılımı.

| RhD Durumu | n | Yüzde (%) |
|-------------------|----------------|------------------|
| Rh pozitif | 150.494 | 84,77 |
| Rh negatif | 26.822 | 15,11 |
| Varyant D | 228 | 0,12 |
| Toplam | 177.544 | 100 |

Tablo 4-5: İstanbul Tıp Fakültesi Kan Merkezi bağışçılarının major kan grubu dağılımı

| Kan Grubu | RhD Pozitif | | RhD Negatif | | Varyant D | | Toplam n |
|------------------|--------------------|----------|--------------------|----------|------------------|----------|-----------------|
| | n | % | n | % | n | % | |
| A | 65.665 | 36,98 | 10.341 | 5,82 | 105 | 0,06 | 76.111 |
| B | 22.548 | 12,69 | 4.241 | 2,38 | 24 | 0,01 | 26.813 |
| AB | 11.437 | 6,44 | 2.200 | 1,23 | 20 | 0,01 | 13.657 |
| O | 50.844 | 28,63 | 10.040 | 5,65 | 79 | 0,04 | 60.963 |
| Toplam | 150.494 | 84,76 | 26.822 | 15,1 | 228 | 0,12 | 177.544 |

Varyant D fenotipi 215 (% 94,0) ve erkekte ve 13 (% 6,0) kadın bireyde saptanmıştır. Kan grubuna göre ise varyant D en fazla %46,10 oranıyla A grubunda gözlemlenirken en az AB (% 8,80) kan grubunda gözlenmiştir. Varyant D fenotipi saptanan bağışçıların major kan gruplarına ve cinsiyet dağılımı Tablo 4-6'te gösterilmiştir.

Tablo 4-6: İstanbul Tıp Fakültesi Kan Merkezi'nde varyant D fenotipindeki bağışçıların major kan grubu dağılımı

| Kan Grubu | n | | Toplam | |
|------------------|--------------|--------------|---------------|------------------|
| | Erkek | Kadın | n | Yüzde (%) |
| A | 99 | 6 | 105 | 46,1 |
| B | 23 | 1 | 24 | 10,5 |
| AB | 20 | 0 | 20 | 8,8 |
| O | 73 | 6 | 79 | 34,6 |
| Toplam | 215 | 13 | 228 | 100 |

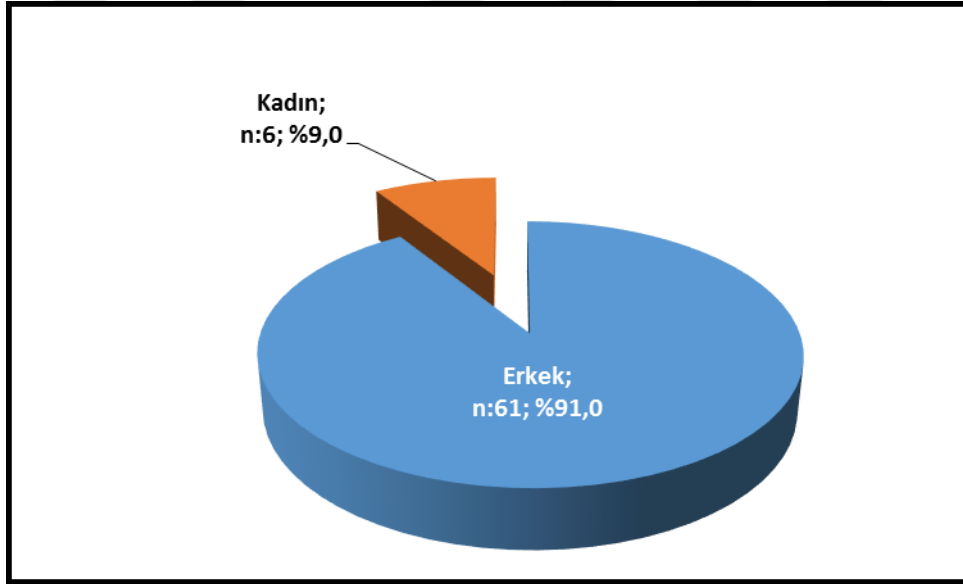
4.3. Çalışma Grubu Bulguları

Çalışma grubumuz %91,0'i (n=61) erkek, %9,0'u (n=6) kadın olmak üzere (Şekil 4-1) 67 standart bağışçı olma koşullarını sağlayan, haberleşme kanalları ile ulaşılabilmiş ve çalışmaya katılma davetimize olumlu cevap veren sağlıklı bağışçılardan oluşmuştur. Olguların yaşları 20 ile 52 (ortanca 35) arasında değişmekte olup ortalama

34,96±8,47 yıldır. Çalışma grubunu oluşturan kan bağışçılarının tanımlayıcı özellikleri Tablo 4-7'de gösterilmiştir.

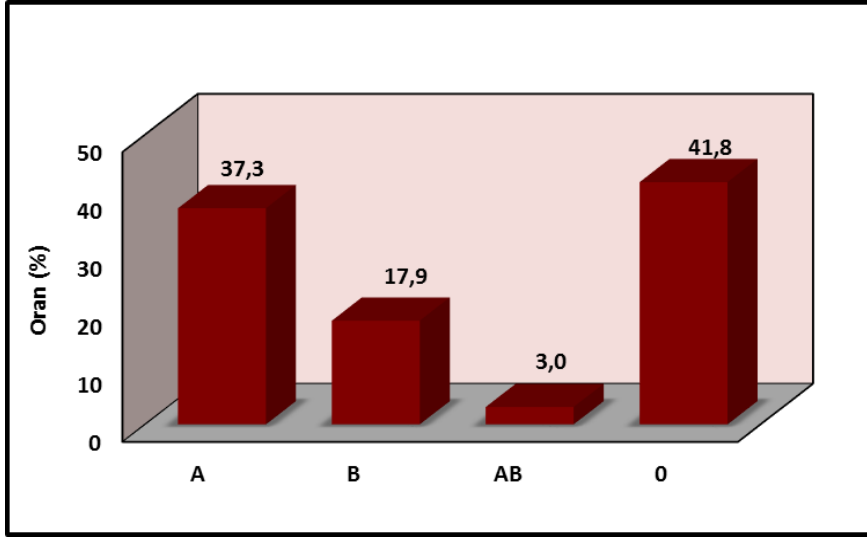
Tablo 4-7: Çalışmamızdaki bağışçıların tanımlayıcı özelliklerinin dağılımları

| | | |
|------------------|--------------------------|------------|
| Yaş (yıl) | <i>Min-Mak (Ortanca)</i> | 20-52 (35) |
| | <i>Ort±Ss</i> | 34,96±8,47 |
| Cinsiyet | Erkek | 61 (91,0) |
| | Kadın | 6 (9,0) |
| Kan grubu | 0 | 28 (41,8) |
| | A | 25 (37,3) |
| | B | 12 (17,9) |
| | AB | 2 (3,0) |



Şekil 4-1: Çalışma grubuna katılan varyant D fenotipindeki kan bağışçılarının cinsiyet dağılımları

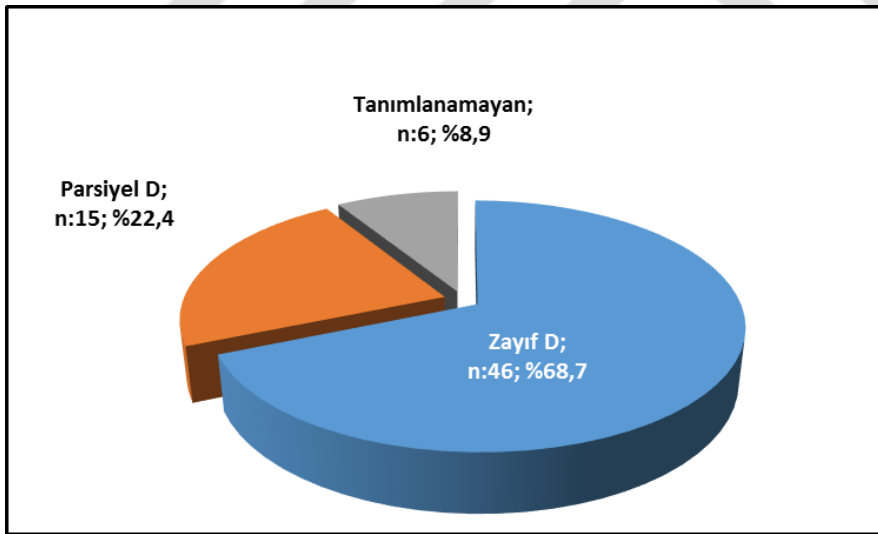
Çalışma grubunu oluşturan bağışçılarda en sık O kan grubu 28 (% 41,8) bağışçıda gözlenmiş ve en az sıklık da AB kan grubu 2 (% 3,0) bağışçıda izlenmiştir (Şekil 4-2).



Şekil 4-2: Çalışma grubunun kan grubu dağılımı

4.4. Varyant D Genotiplerin Dağılımı

PZR ile zayıf D tanım oranı %68,7 (n=46) ve Parsiyel D tanım oranı %22,4 (n=15) iken; olguların %8,9'unda (n=6) PZR testi ile tanımlama yapılamamıştır (Şekil 4-3)

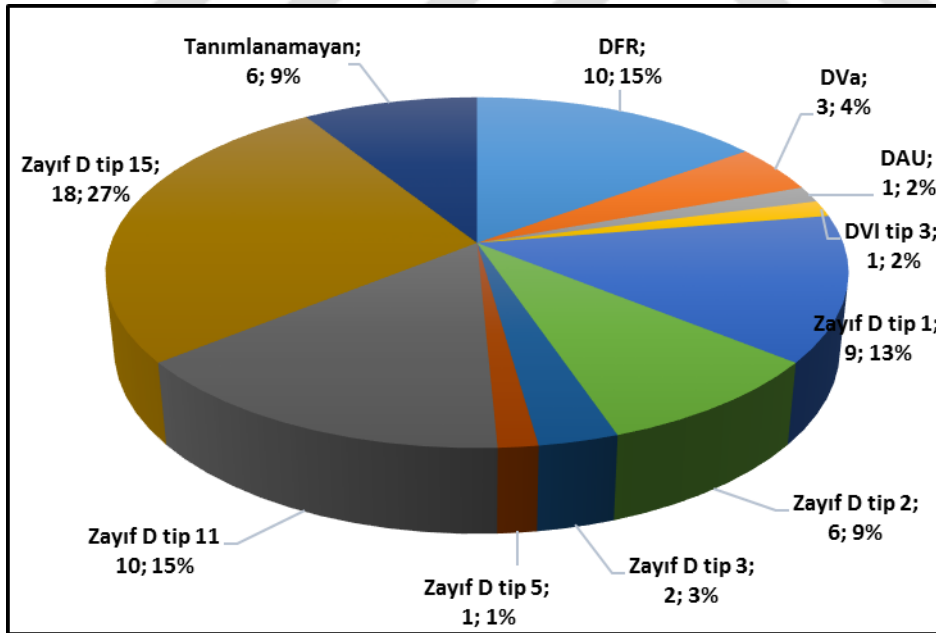


Şekil 4-3: Varyant D tanımlamalarının dağılımı

Varyant D tanımlamaları incelendiğinde; Tablo 4-8'de ve Şekil 4-4'de dağılımları özetlenen %14,9'unda (n=10) DFR, %4,5'inde (n=3) DVa, %1,5'inde (n=1) DAU-0,1,2,3, %1,5'inde (n=1) DVI tip 3, %13,4'ünde (n=9) zayıf D tip 1, %9,0'unda (n=6) zayıf D tip2, %3,0'ünde (n=2) zayıf D tip3, %1,5'inde (n=1) zayıf D tip5, %14,9'unda (n=10) zayıf D tip11 ve %26,9'unda (n=18) zayıf D tip 15 saptanırken; bağışçıların %8,9'unu (n=6) tanımlanamamıştır.

Tablo 4-8: Çalışmamıza katılan kan bağışçılarının genotip dağılımları

| | Varyant Tipi | n | % |
|------------|----------------|----|------|
| PARSİYEL D | DFR | 10 | 14,9 |
| | DVa ilişkili | 3 | 4,5 |
| | DAU-0,1,2,3 | 1 | 1,5 |
| | DVI tip 3 | 1 | 1,5 |
| ZAYIF D | Zayıf D Tip 1 | 9 | 13,4 |
| | Zayıf D Tip 2 | 6 | 9 |
| | Zayıf D Tip 3 | 2 | 3 |
| | Zayıf D Tip 5 | 1 | 1,5 |
| | Zayıf D Tip 11 | 10 | 14,9 |
| | Zayıf D Tip 15 | 18 | 26,9 |
| VARYANT | Tanımlanamayan | 6 | 8,9 |
| | Zayıf D | 46 | 68,7 |
| | Parsiyel D | 15 | 22,4 |
| | Tanımlanamayan | 6 | 8,9 |



Şekil 4-4: Varyant D genotiplerinin sayısal ve yüzdesel olarak dağılımları

4.4.1. Varyant D Genotiplerinin Major Kan Gruplarına Dağılımı

Çalışmamız sonucunda kan gruplarına göre varyant D genotiplerine ilişkin dağılımlar Tablo 4.9’da verilmiştir. A kan grubuna sahip kan bağışçılarında, PZR ile %20,0 (n=5) oranında Zayıf D tip 1 tanımlaması yapılmış ve bu oranı %16,0 (n=4) ile

Zayıf D tip 11 tanımlaması takip etmiştir. B kan grubunda olan bağışçılarda, PZR ile %41,8 (n=5) oranında Zayıf D tip 15 tanımlaması yapılmış ve bunu %25,0 (n=3) oranla DFR takip etmiştir. AB grubu kana sahip bağışçıların ise %50'sinin (n=1) PCR tanımı DVa, %50'sinin (n=1) Zayıf D tip 15'tir. Kan grubu O olan bağışçılarda, PZR ile %32,1 (n=9) oranında Zayıf D tip 15 tanımlaması yapılmış ve bunu %17,8 (n=5) oranla Zayıf D tip 11 takip etmiştir.

Tablo 4-9: Varyant D genotiplerinin kan gruplarına göre dağılımları

| Varyant D Tipi | Kan Grubu | | | |
|-----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | A (n=25) n (%) | B (n=12) n (%) | AB (n=2) n (%) | 0 (n=28) n (%) |
| DFR | 3 (12,0) | 3 (25,0) | 0 (0) | 4 (14,3) |
| DVa,Va benzer | 0 (0) | 1 (8,3) | 1 (50,0) | 1 (3,6) |
| DAU-0,1,2,3 | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 1 (3,6) |
| DVI tip 3 | 0 (0) | 1 (8,3) | 0 (0) | 0 (0) |
| Zayıf D tip 1 | 5 (20,0) | 0 (0) | 0 (0) | 4 (14,3) |
| Zayıf D tip 2 | 3 (12,0) | 0 (0) | 0 (0) | 3 (10,7) |
| Zayıf D tip 3 | 2 (8,0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
| Zayıf D tip 5 | 1 (4,0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
| Zayıf D tip 11 | 4 (16,0) | 1 (8,3) | 0 (0) | 5 (17,8) |
| Zayıf D tip 15 | 3 (12,0) | 5 (41,8) | 1 (50,0) | 9 (32,1) |
| Tanımlanamayan | 4 (16,0) | 1 (8,3) | 0 (0) | 1 (3,6) |

Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz veriler ile ülkemizde Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde L. Kumaş ve ark. [44] tarafından yapılan çalışma ve Almanya kökenli iki çalışma [34, 45] arasında yapılan karşılaştırmalar Tablo 4-10, 4-11 ve 4-12'de verilmiştir.

Tablo 4-10: Çalışmamızda elde ettiğimiz zayıf D / parsiyel D genotip dağılımı sonuçlarının Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yapılan çalışma ile karşılaştırılması

| | Çalışmamız n=67 | | Uludağ Üniversitesi'nde yapılan çalışma [44] n=43 | | OR | %CI | "p değeri |
|----------------------------|--------------------|----|---|----|---------------------|--------------|-----------|
| | % | n. | % | n | | | |
| Zayıf D genotipi | 68,7 | 46 | 51,2 | 25 | 1.265 (0-896-1.785) | 0.226 | |
| Parsiyel D genotipi | 22,4 | 15 | 48,8 | 18 | 0.691 (0.460-1.037) | 0.058 | |
| Tanımlanamayan | 8,9 | 6 | - | 2 | 1.254 (0.815-1.929) | 0,478 | |

^aFisher Exact Test, Chi-square

Zayıf D / parsiyel D genotiplerinin dağılımını karşılaştırdığımızda ülkemizde yapılan iki çalışmada zayıf D ve parsiyel D dağılımı açısından istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4-11: Çalışmamızda elde ettiğimiz zayıf D Tip 1 dağılımı sonuçlarının Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi çalışması ve Almanya'da yapılan iki çalışma ile karşılaştırılması

| Çalışmamız n=67 | | OR | %CI | "p değeri |
|---|----|---------------------|-----|--------------------|
| Zayıf D Tip 1 Genotipi (n=9) | | | | |
| | n | | | |
| Uludağ Üniversitesi çalışması [44] n= 43 | 19 | 0.364 (0.210-0.632) | | p<0.0001 |
| Wagner [34] n=161 | 95 | 0.215 (0.105-0.421) | | p<0.0001 |
| Müller [45] n=130 | 43 | 0.580 (0.302-1.114) | | p=0.093 |

^aFisher Exact Test, Chi-square

Zayıf D Tip 1 dağılımı açısından çalışmamız ve Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi çalışması arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0.0001$).

Almanya kökenli çalışmalar ile bizim çalışmamız arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. ($p<0.0001$ ve $p=0.093$).

Tablo 4-12: Çalışmamızda elde ettiğimiz zayıf D Tip 2 dağılımı sonuçlarının Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi çalışması ve Almanya’da yapılan iki çalışma ile karşılaştırılması

| Çalışmamız n=67 | | | | |
|--------------------------------|----|-------|----------------|-----------|
| Zayıf D Tip 2 Genotipi (n=6) | | | | |
| | n | OR | %CI | "p değeri |
| Uludağ Üniversitesi [44] n= 43 | 0 | 1.600 | (1.323-01.934) | p=0.087 |
| Wagner [34] n=161 | 43 | 0.450 | (0.203-0.996) | p=0.033 |
| Müller [45] n=130 | 10 | 1.500 | (0.754-2.983) | p=0.369 |

"Fisher Exact Test, Chi-square

Çalışmamız ve Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi çalışmasında zayıf D Tip 2 dağılımı açısından çalışmalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (p=0,087).

Almanya kökenli çalışmalar ile bizim çalışmamız arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur (p=0,033 ve p=0.369).

4.4.2. Zayıf D Tip 1



Şekil 4-5: Zayıf D Tip 1 genotipindeki bağışçı

DT: Direkt test

Çalışmamızda 9 kan bağışçısında (1'i kadın 8 erkek) zayıf D Tip 1 genotipi (Şekil 4-5) saptanmıştır. Tüm bağışçılar direkt ve IAT zayıf D doğrulama testleri sonucu varyant D fenotipinde belirlenmiştir. Özellikleri Tablo 4-13'de özetlenen bağışçılarının 5'i A kan grubunda ve 4'ü O kan grubunda iken bağışçılarının 8'inde Ccee Rh altgrup fenotipi ve 1'inde CCee Rh altgrup fenotipi izlenmiştir.

Tablo 4-13: Çalışmamızda zayıf D tip 1 olarak tespit edilen bağışçılarının özellikleri

| No | Bağışçı No | Kan Grubu | Yaş | Cinsiyet | Rh altgrubu |
|----|------------|-----------|-----|----------|-------------|
| 1 | 12015981 | A | 20 | E | Ccee |
| 2 | 12034968 | O | 36 | E | Ccee |
| 3 | 12019703 | A | 39 | E | Ccee |
| 4 | 15012904 | A | 43 | E | CCee |
| 5 | 16003238 | A | 29 | E | Ccee |
| 6 | 16016277 | A | 36 | E | Ccee |
| 7 | 16019147 | O | 27 | E | Ccee |
| 8 | 16019154 | O | 30 | K | Ccee |
| 9 | 15005129 | O | 32 | E | Ccee |

4.4.3. Zayıf D Tip 2



Şekil 4-6: Zayıf D Tip 2 genotipindeki bağışçı örneği

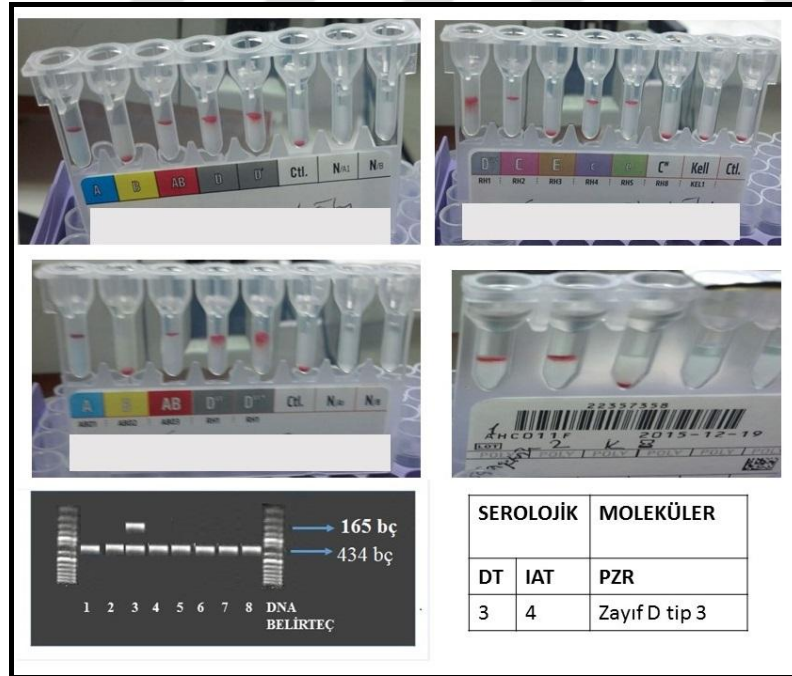
DT: Direkt test

Çalışmamızda 6 kan bağışçısında zayıf D tip 2 genotipi (Şekil 4-6) saptanmıştır. Tüm bağışçılar direkt ve IAT zayıf D doğrulama testleri sonucu varyant D fenotipinde belirlenmiştir. Özellikleri Tablo 4-14'de özetlenen bağışçılarının 3'ü A kan grubunda ve 3'ü O kan grubunda iken bağışçılarının 4'ünde Ccee Rh altgrup fenotipi, 1'inde CCee Rh altgrup fenotipi ve 1'inde ccEe Rh altgrup fenotipi izlenmiştir. Zayıf D tip 2 genotipi tespit edilen bağışçılarının tümü erkekti.

Tablo 4-14: Çalışmamızda zayıf D Tip 2 genotipi tespit edilen altı bağışçının özellikleri

| No | Bağışçı No | Kan Grubu | Yaş | Cinsiyet | Rh altgrubu |
|----|------------|-----------|-----|----------|-------------|
| 1 | 16013783 | O | 35 | E | Ccee |
| 2 | 16011805 | A | 38 | E | Ccee |
| 3 | 16012862 | A | 24 | E | CCee |
| 4 | 16015882 | A | 32 | E | Ccee |
| 5 | 16022255 | O | 38 | E | Ccee |
| 6 | 16010636 | O | 52 | E | CcEe |

4.4.4. Zayıf D Tip 3



Şekil 4-7: Zayıf D Tip 3 olarak tanımlanan bağışçı

DT: Direkt test

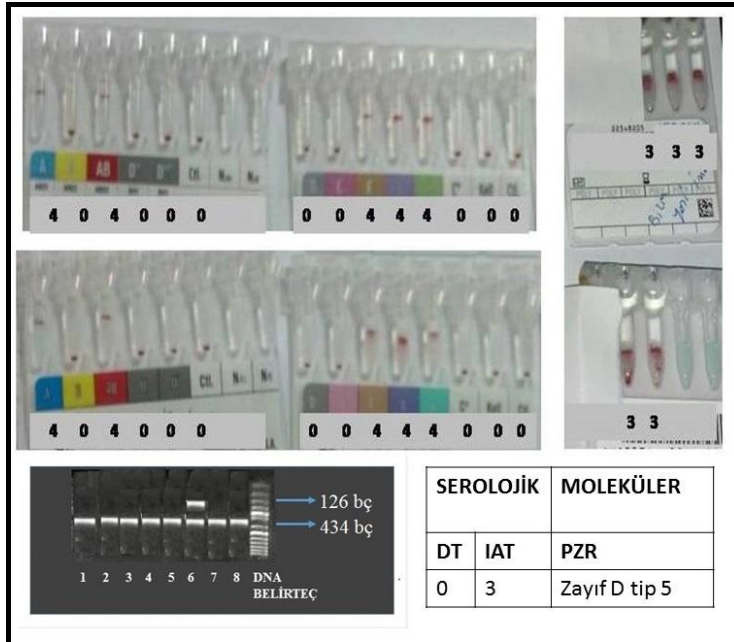
Çalışmamızda 2 (1 kadın, 1 erkek) kan bağışçısında zayıf D tip 3 genotipi (Şekil 4-7) saptanmıştır. İki bağışçı da immünohematolojik testler sonucu varyant D fenotipinde belirlenmiştir. Özellikleri Tablo 4-15’de özetlenen bağışçıların ikisi de A kan grubunda tespit edilmiştir. Bağışçılarda Ccee ve ccEe Rh altgrup fenotipi izlenmiştir.

Tablo 4-15: Zayıf D tip 3 olduğu tespit edilen iki bağışcının özellikleri

| No | Bağışçı No | Kan Grubu | Yaş | Cinsiyet | Rh Altgrubu |
|----|------------|-----------|-----|----------|-------------|
| 1 | 13000785 | A | 40 | E | ccEe |
| 2 | 14000175 | A | 39 | K | Ccee |

4.4.5. Zayıf D Tip 5

Çalışmamızda 1 erkek kan bağışçısında zayıf D tip 5 genotipi (Şekil 4-8.) saptanmıştır. İmmünohematolojik testler sonucu varyant D fenotipinde belirlenen bağışcının özellikleri Tablo 4-16’da özetlenmiştir. Bağışçıda ccEe Rh altgrup fenotipi izlenmiştir.



Şekil 4-8: Zayıf D tip 5 genotipindeki bağışçı

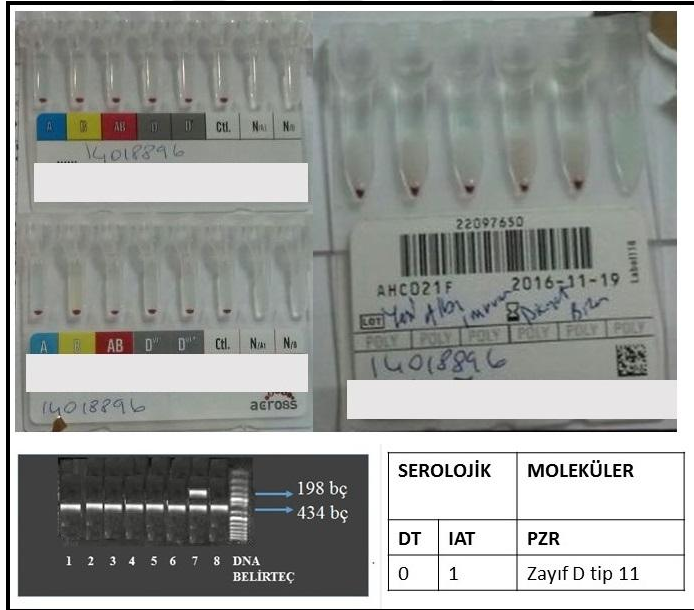
DT: Direkt test

Tablo 4-16: Çalışmamızda zayıf D tip 5 olarak tespit edilen bağışçının özellikleri

| No | Bağışçı No | Kan Grubu | Yaş | Cinsiyet | Rh Altgrubu |
|----|------------|-----------|-----|----------|-------------|
| 1 | 12013786 | A | 37 | E | ccEe |

4.4.6. Zayıf D Tip 11

Çalışmamızda 10 erkek kan bağışçısında zayıf D tip 11 genotipi (Şekil 4-9) saptanmıştır. İmmünohematolojik testler sonucu varyant D fenotipinde belirlenen bağışçıların özellikleri Tablo 4-17’de özetlenmiştir. Zayıf D tip 11 genotipi olan bağışçılardan dokuzunda Ccee Rh altgrup fenotipi ve 1 bağışçıda CCEe Rh altgrup fenotipi izlenmiştir.

**Şekil 4-9: Zayıf D tip 11 genotipinde olan bağışçılardan biri**

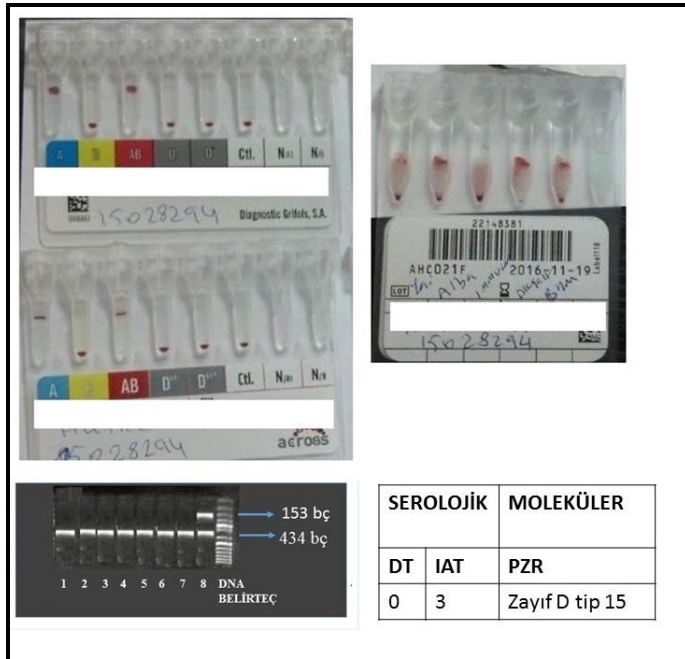
DT: Direkt test

Tablo 4-17: Çalışmamızda Zayıf D tip 11 olarak tespit edilen bağışçılarının özellikleri

| No | Bağışçı No | Kan Grubu | Yaş | Cinsiyet | Rh Altgrubu |
|----|------------|-----------|-----|----------|-------------|
| 1 | 13008302 | O | 45 | E | Ccee |
| 2 | 13013181 | A | 26 | E | Ccee |
| 3 | 12018009 | A | 39 | E | Ccee |
| 4 | 13008303 | O | 49 | E | Ccee |
| 5 | 13010367 | O | 23 | E | Ccee |
| 6 | 12031104 | A | 25 | E | Ccee |
| 7 | 13010233 | A | 25 | E | Ccee |
| 8 | 12019785 | O | 23 | E | Ccee |
| 9 | 14018896 | O | 25 | E | CCEe |
| 10 | 16010567 | B | 42 | E | Ccee |

4.4.7. Zayıf D Tip 15

Çalışmamızda 18 (15 erkek, 3 kadın) kan bağışçısında zayıf D tip 15 genotipi (Şekil 4-10) saptanmıştır. Bağışçıların immünohematolojik testler sonucu varyant D fenotipinde belirlenmiştir. Özellikleri Tablo 4-18’de özetlenen bağışçıların kan grupları 9 kişide O, 4 kişide B, 4 kişide A ve 1 kişi AB olarak dağılım göstermiştir. Bağışçıların biri (ccEE) dışında ccEe Rh altgrup fenotipi izlenmiştir.

**Şekil 4-10: Zayıf D tip 15 fenotipinde bağışçı**

DT: Direkt test

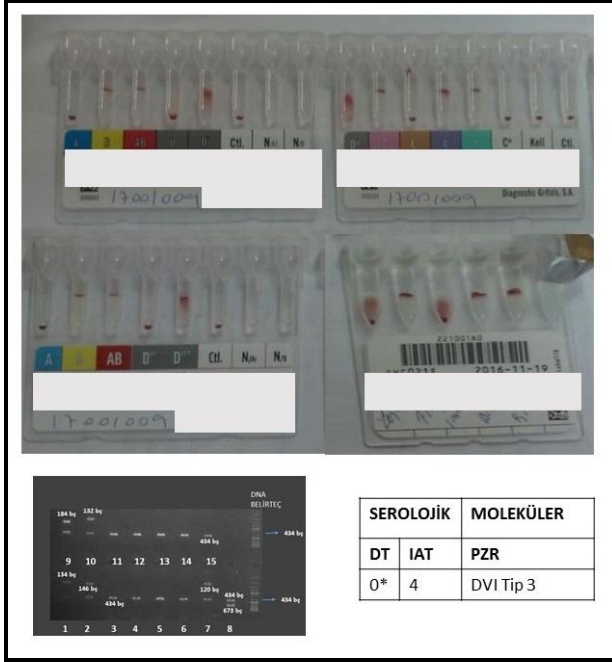
Tablo 4-18: Çalışmamızda zayıf D tip 15 olarak tespit edilen kan bağışçıları

| No | Bağışçı No | Kan Grubu | Yaş | Cinsiyet | Rh Altgrubu |
|----|------------|-----------|-----|----------|-------------|
| 1 | 12034142 | A | 41 | E | ccEe |
| 2 | 13007901 | AB | 35 | E | ccEe |
| 3 | 12015656 | O | 31 | K | ccEe |
| 4 | 16000956 | O | 33 | E | ccEe |
| 5 | 15014007 | B | 21 | E | ccEe |
| 6 | 15016429 | O | 42 | E | ccEe |
| 7 | 16001232 | B | 43 | E | ccEe |
| 8 | 11031462 | O | 31 | E | ccEe |
| 9 | 15010454 | B | 34 | E | ccEe |
| 10 | 15022069 | O | 33 | E | ccEe |
| 11 | 16018935 | A | 51 | E | ccEe |
| 12 | 15017370 | A | 42 | E | ccEe |
| 13 | 16012725 | O | 49 | E | ccEe |
| 14 | 16012717 | O | 31 | E | ccEe |
| 15 | 16014455 | B | 43 | K | ccEE |
| 16 | 16009639 | O | 38 | E | ccEe |
| 17 | 14000890 | O | 31 | E | ccEe |
| 18 | 15028294 | A | 20 | K | ccEe |

4.4.8. DVI Tip 3

Çalışmamızda 1 erkek kan bağışçıda parsiyel DVI (D^{VI}) tip 3 genotipi (Şekil 4-11) saptanmıştır. Bağışçının yapılan ilk kan gruplama testleri sonucu IgG anti-D ile reaksiyonu negatif (0) ve IgM anti-D reaksiyonu +4 olarak gözlenmiştir. IAT ile zayıf D doğrulama testinde +4 derecede reaksiyon saptanmıştır. Bu immünohematolojik bulgular bağışçının D^{VI} varyanta bağlı bir fenotipte olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Daha sonra PZR testi bağışçının parsiyel D^{VI} tip 3 olduğunu doğrulamıştır.

Parsiyel D^{VI} tip 3 genotipindeki bağışçı B kan grubu ve Rh altgrup fenotipi Ccee ($CcD^{VI}ee$) olarak izlenmiştir (Tablo 4-19).



Şekil 4-11: Çalışmamızda tespit edilen parsiyel D^{VI} tip 3 genotipli (CcD^{VI}ee fenotipli) bağışçısı.

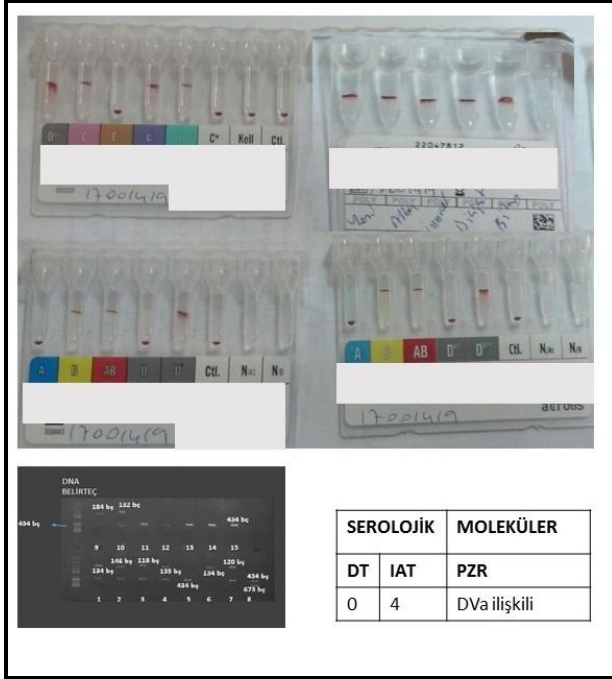
*Direkt immünohematolojik testlerde IgM anti-D antikor ile reaksiyonu negatif (0) ve IgG anti-D antikor ile reaksiyonu +4 olarak gözlenmiştir. DT: Direkt test

Tablo 4-19: Çalışmamızda parsiyel D^{VI} tip 3 olarak tespit edilen bağışçının özellikleri

| No | Bağışçı No | Kan Grubu | Yaş | Cinsiyet | Rh Grubu |
|----|------------|-----------|-----|----------|----------------------|
| 1 | 7001009 | B | 33 | E | CcD ^{VI} ee |

4.4.9. DVa İlişkili Genotipler

Çalışmamızda 3 erkek kan bağışçıda varyant DVa genotipi (Şekil 4-12) ile ilişkili bulgular saptanmıştır. Üç bağışçının da yapılan ilk kan gruplama testleri sonucu IgG anti-D ile reaksiyonu negatif ve IgM anti-D reaksiyonu +3 ile +4 olarak gözlenmiştir. IAT ile zayıf D doğrulama testinde +4 derecede reaksiyon saptanmıştır. Bu immünohematolojik bulgular bağışçının DVI varyanta bağlı bir fenotipte olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Daha sonra PZR testi bağışçının parsiyel DVa ile ilişkili bir genotipte olduğunu ortaya çıkarmıştır. Özellikleri Tablo 4-20’de gösterilen parsiyel DVa ile ilişkili bir genotipindeki bağışçılar AB, B ve O kan grubu ve Rh altgrup fenotipleri Ccee (CcD^{Va}ee) olarak izlenmiştir.



Şekil 4-12: Parsiyel DVa ile ilişkili bir genotipte ve CcD^{Va}ee fenotipindeki bağışçı

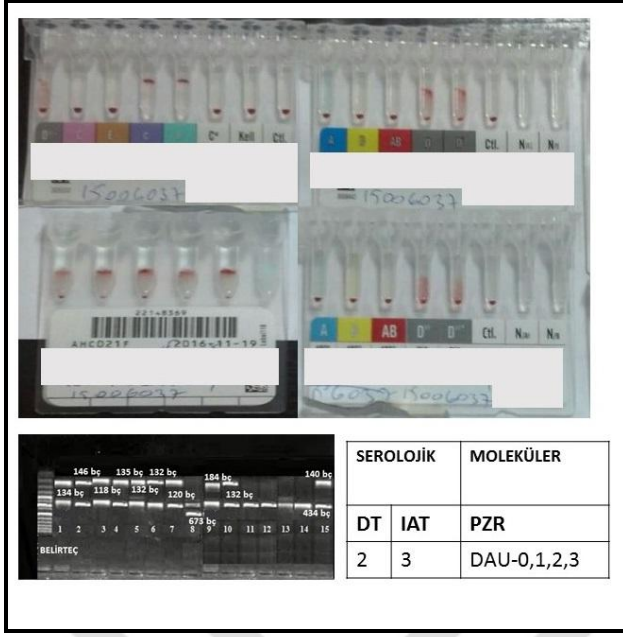
DT: Direkt test

Tablo 4-20: Parsiyel DVa tip ile ilişkili bir genotipte tespit edilen üç bağışçının özellikleri

| No | Bağışçı No | Kan Grubu | Yaş | Cinsiyet | Rh Altgrubu |
|----|------------|-----------|-----|----------|-------------|
| 1 | 16007058 | AB | 33 | E | Ccee |
| 2 | 15002586 | O | 50 | E | Ccee |
| 3 | 17001419 | B | 38 | E | Ccee |

4.4.10. DAU (0, 1, 2, 3)

Çalışmamızda O grubu bir erkek kan bağışçıda DAU-0,1,2,3 genotipi (Şekil 4-13) saptanmıştır. Bağışçının ilk kan gruplama testleri sonucu IgG anti-D ile reaksiyonu +2 arasında ve IgM anti-D reaksiyonu +2 olarak gözlenmiştir. IAT ile zayıf D doğrulama testinde +3 derecede reaksiyon saptanmıştır. Bu immünohematolojik bulgular bağışçının bir parsiyel fenotipte olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Ve sonuçta bağışçının parsiyel DAU (0,1,2,3) genotipte olduğunu belirlenmiştir. Özellikleri Tablo 4-21’de gösterilen bu bağışçının Rh altgrup fenotipi ccee olarak izlenmiştir.



Şekil 4-13: Parsiyel DAU-0, 1, 2, 3 olarak tanımlanan bağışçı

DT: Direkt test

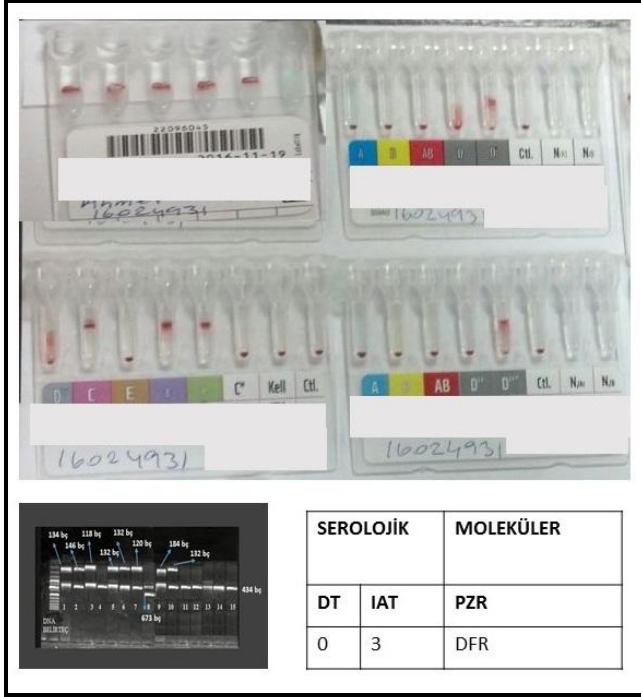
Tablo 4-21: Çalışmamızda parsiyel DAU-0, 1, 2, 3 olarak tespit edilen bağışçının özellikleri

| No | Bağışçı No | Kan Grubu | Yaş | Cinsiyet | Rh Altgrubu |
|----|------------|-----------|-----|----------|-------------|
| 1 | 15006037 | O | 40 | E | ccee |

4.4.11. DFR

Çalışmamızda 10 (1 kadın, 9 erkek) kan bağışçıda DFR genotipi (Şekil 4-14) ile ilişkili bulgular saptanmıştır. Bağışçıların ikisi dışında serolojik direkt IgG anti-D ile reaksiyonu negatif ve IgGM anti-D reaksiyonu +2 olarak gözlenmiştir. IAT ile zayıf D doğrulama testinde +3 derecede reaksiyon saptanmıştır. Bu immünohematolojik bulgular bağışçıların parsiyel D fenotipte olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Daha sonra PZR testinde RHD geninin 4. ekzonunun yokluğu bağışçıların parsiyel DFR genotipte olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Özellikleri Tablo 4-22’de gösterilen bağışçıların biri O kan grubunda Ccee fenotipli kadındı. Diğer bağışçıların kan grupları O, A ve B olarak izlenmiştir. Kan bağışçıların Rh fenotipleri Ccee (n=7), CCee (n=2) ve ccEe (n=1) olarak izlenmiştir.



Şekil 4-14: Parsiyel DFR olarak tespit edilmiş bir bağışçı

DT: Direkt test

Tablo 4-22: Parsiyel DFR olarak tespit edilen bağışçıların nitelikleri

| No | Bağışçı No | Kan Grubu | Yaş | Cinsiyet | Rh Altgrubu |
|----|------------|-----------|-----|----------|-------------|
| 1 | 11002511 | B | 47 | E | CCee |
| 2 | 12030803 | O | 20 | K | Ccee |
| 3 | 12027490 | A | 41 | E | CCee |
| 4 | 15026136 | B | 20 | E | Ccee |
| 5 | 16005557 | O | 36 | E | Ccee |
| 6 | 16018540 | A | 49 | E | CcEe |
| 7 | 16015961 | A | 27 | E | Ccee |
| 8 | 14005197 | B | 33 | E | Ccee |
| 9 | 14026805 | O | 37 | E | Ccee |
| 10 | 16024931 | O | 40 | E | Ccee |

4.4.12. Tanımlanamayan Varyant Fenotipli Bağışçılar

Çalışmamızda 6 erkek bağışçının varyant D genotiplemesi yapılamamıştır. İmmünohematolojik direkt testler bu bağışçılardan ikisini zayıf D ve ikisini de D negatif olarak belirlemiştir. Diğer 2 bağışçıda ise yapılan direkt testler farklı bulgular

vermiştir. (Tablo 4-23). IAT ile zayıf D doğrulama testi altı bağışçının tümünün varyant D fenotipinde olduğunu göstermektedir.

Tablo 4-23: Çalışmamızda genotipi belirlenemeyen varyant D fenotipli bağışçıların özellikleri.

| No | Bağışçı No | Kan Grubu | DT Test | Yaş | Cinsiyet | Rh Altgrubu |
|-----|------------|-----------|-------------------------|-----|----------|-------------|
| 1* | 13007508 | A | D negatif Parsiyel D | 45 | E | Ccee |
| 2** | 16006094 | A | Zayıf D Parsiyel D | 34 | E | Ccee |
| 3 | 16022021 | O | Zayıf D | 31 | E | CcEe |
| 4 | 14022323 | A | D Negatif | 41 | E | CcEe |
| 5 | 14019276 | A | Zayıf D | 25 | E | CCee |
| 6 | 16006048 | B | Zayıf D | 24 | E | Ccee |

*Bu bağışçının DT testleri kullanılan antikor grubunun birinde parsiyel D fenotipi reaksiyonu göstermiştir. Diğer iki antikor grubunun DT testleri D negatif sonucunu vermiştir.

** Bu bağışçının DT testleri kullanılan antikor grubunun birinde parsiyel D fenotipi reaksiyonu göstermiştir. Diğer iki antikor grubunun DT testleri parsiyel D sonucunu vermiştir.

DT: Direkt test

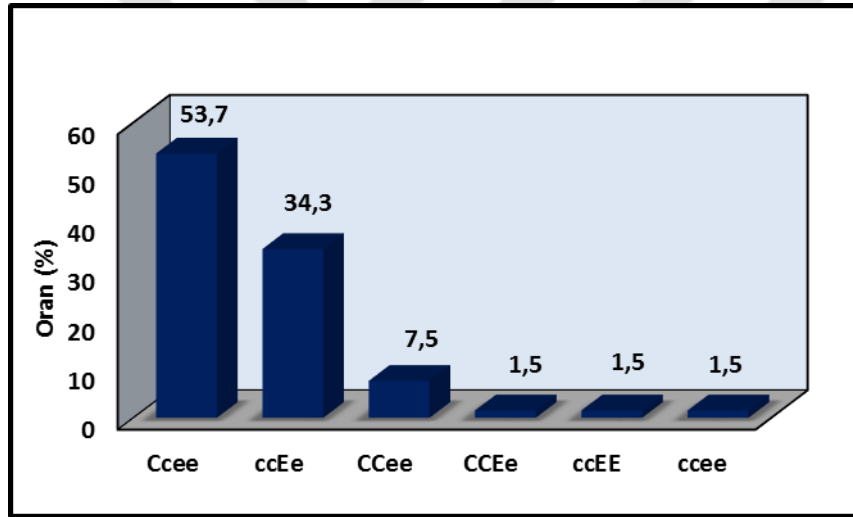
4.5. Bağışçıların Rh Alt Grup Dağılımları

Taranan bağışçılarda Rh alt grup fenotipleri; %53,7 (n=36) oranında Ccee, %34,3 (n=23) oranında ccEe, %7,5 (n=5) oranında CCee, %1,5 (n=1) oranında da CCEe, ccEE ve ccee fenotipi saptanmıştır. C antijeni %62,7 (n=42), c antijeni %91,0 (n=61), E antijeni %37,3 (n=25) ve e antijeni %98,5 (n=66) oranında görülmektedir. Kell oranı ise %6,0 (n=4) saptanmıştır. (Tablo 4-24, 4-25 ve Şekil 4-15)

Tablo 4-24: Çalışmaya katılan bağışçılarda Rh alt grup ve Kell dağılımı

| | | n | % |
|-------------------|-------------|----|------|
| Fenotipler | Ccee | 36 | 53,7 |
| | ccEe | 23 | 34,3 |
| | CCee | 5 | 7,5 |
| | CCEe | 1 | 1,5 |
| | ccEE | 1 | 1,5 |
| | Ccee | 1 | 1,5 |
| C antijeni | Var | 42 | 62,7 |
| c antijeni | Var | 61 | 91 |
| E antijeni | Var | 25 | 37,3 |
| e antijeni | Var | 66 | 98,5 |
| Kell | Var | 4 | 6 |

Taranan bağışçılarda en sık (%53,7) CcDee fenotipine rastlanmıştır.

**Şekil 4-15: Çalışma grubunda Rh alt grup fenotiplerinin dağılımı**

Tablo 4-25: Çalışmamızdaki kan bağışçılarının varyant D genotipleri ve RhCE fenotip dağılımı

| Varyant D tipi | İlişkili Haplotip | Bağışçılarda gözlenen Rh C/c ve E/e fenotipi |
|----------------------|-------------------|---|
| ZAYIF D | Tip 1 | Ce Ccee (n=8) CCee (n=1) |
| | Tip 2 | cE. Ccee (n=4) CCee (n=1) ccEe (n=1) |
| | Tip 3 | Ce Ccee (n=1) ccEe (n=1) |
| | Tip 5 | cE ccEe (n=1) |
| | Tip 11 | ce Ccee (n=9) CCee (n=1) |
| | Tip 15 | cE ccEe (n=17) ccEE (n=1) |
| | PARSİYEL D | DVI tip 3 |
| DVa-ilişkili | | Ce,ce,cE Ccee (n=3) |
| DAU (0,1,2,3) | | ce. Ccee (n=1) |
| DFR | | Ce>cE çoklu CCee (n=2) ccEe (n=1) |

Tablo 4-26: Cinsiyete göre kan grupları ve RhCE fenotiplerinin değerlendirilmesi

| | | Cinsiyet | | ^b p |
|-------------------|-------------|--------------|-------------|----------------|
| | | Erkek (n=61) | Kadın (n=6) | |
| | | n (%) | n (%) | |
| Kan grubu | A | 24 (39,3) | 1 (16,7) | 0,399 |
| | B | 10 (16,4) | 2 (33,3) | 0,291 |
| | AB | 2 (3,3) | 0 (0) | 1 |
| | 0 | 25 (41,0) | 3 (50,0) | 0,688 |
| Fenotipler | Ccee | 33 (54,1) | 3 (50,0) | 1 |
| | ccEe | 21 (34,5) | 2 (33,3) | 1 |
| | CCee | 5 (8,2) | 0 (0) | 1 |
| | CCEe | 1 (1,6) | 0 (0) | 1 |
| | ccEE | 0 (0) | 1 (16,7) | 0,09 |
| | ccee | 1 (1,6) | 0 (0) | 1 |
| C antijeni | Yok | 22 (36,1) | 3 (50,0) | 0,664 |
| | Var | 39 (63,9) | 3 (50,0) | |
| c antijeni | Yok | 6 (9,8) | 0 (0) | 1 |
| | Var | 55 (90,2) | 6 (100) | |
| E antijeni | Yok | 39 (63,9) | 3 (50,0) | 0,664 |
| | Var | 22 (36,1) | 3 (50,0) | |
| e antijeni | Yok | 0 (0) | 1 (16,7) | 0,09 |
| | Var | 61 (100) | 5 (83,3) | |

^bFisher's Exact Test

Kan grupları, Rh alt grup fenotipleri, C/c antijeni oranları ve E/e antijeni oranları cinsiyete göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

Tablo 4-27: Varyant D genotipleri ile Rh antijenlerinin ilişkisi

| | | VARYANT D GENOTİPİ | | | | ^a <i>p</i> |
|-------------------|-----|--------------------|-----------------|------------------|-----------|-----------------------|
| | | Zayıf (n=46) | Parsiyel (n=15) | Bilinmeyen (n=6) | Total | |
| | | n (%) | n (%) | n (%) | n (%) | |
| C antijeni | Yok | 21 (45,7) | 2 (13,3) | 2 (33,3) | 25 (37,3) | 0,076 |
| | Var | 25 (54,3) | 13 (86,7) | 4 (66,7) | 42 (62,7) | |
| c antijeni | Yok | 2 (4,3) | 2 (13,3) | 1 (16,7) | 5 (7,5) | 0,196 |
| | Var | 44 (95,7) | 13 (86,7) | 5 (83,3) | 62 (92,5) | |
| E antijeni | Yok | 25 (54,3) | 14 (93,3) | 5 (83,3) | 44 (65,7) | 0,009** |
| | Var | 21 (45,7) | 1 (6,7) | 1 (16,7) | 23 (34,3) | |
| e antijeni | Yok | 5 (10,9) | 0 (0) | 0 (0) | 5 (7,5) | 0,585 |
| | Var | 41 (89,1) | 15 (100) | 6 (100) | 62 (92,5) | |
| Kell | Yok | 44 (95,7) | 15 (100) | 6 (100) | 65 (97,0) | 1 |
| | Var | 2 (4,3) | 0 (0) | 0 (0) | 2 (3,0) | |

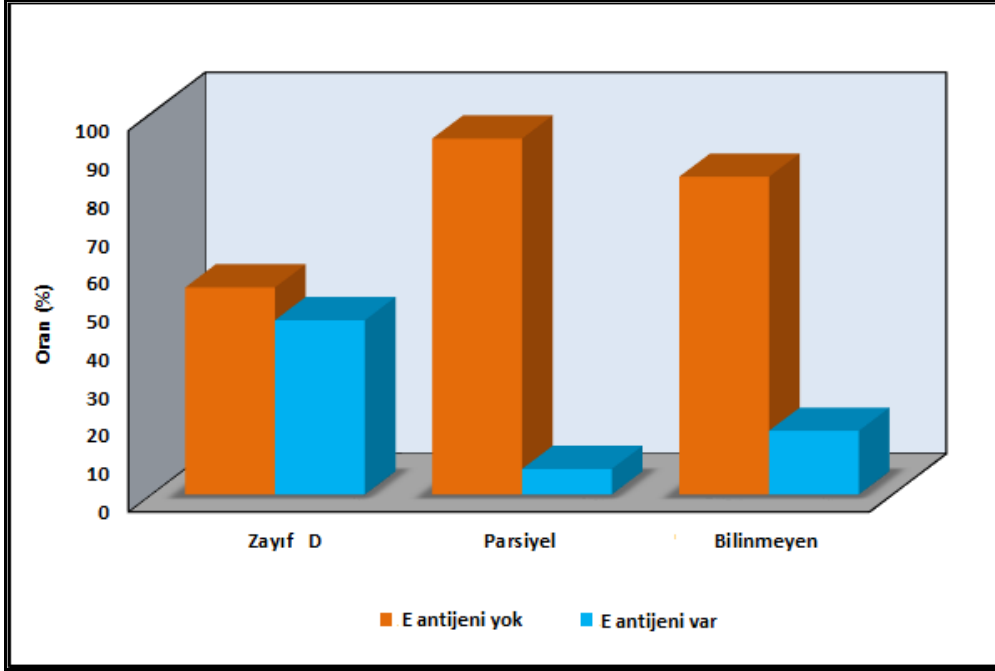
^aFisher Freeman Halton Test

**p<0,01"

Varyant D genotipi ile C antijeni varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmazken ($p>0,05$); parsiyel tanımlamada C antijeni oranının diğer tanımlamalardan yüksek olması dikkat çekicidir.

Varyant D genotipi ile c antijeni varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$).

Varyant D genotipi ile E antijeni arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($p=0,009$; $p<0,01$). Anlamlılığa neden olan grubu saptamak için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucu; zayıf tanımlanmış olgularda E antijeni oranı, parsiyel tanımlı olgulardan anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p=0,006$; $p<0,01$). Diğer ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 4-16: Varyant D tanımlamalarına göre E antijeni dağılımları

Varyant D genotipi ile e antijeni ve Kell antijeni varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$).

5. TARTIŞMA

Rh kan grubu sistemi transfüzyon pratiğinde ABO kan grubu sisteminden sonra ikinci önemdedir [1, 5]. Rh sistemi 54 antijeni ve RH1 - RH61 arasında numaralandırılmış çok sayıda fenotipi [10-12] olan polimorfik kan gruplarından biridir.

Rh antijenlerinin en immünojenik ve klinik olarak en önemli olanı D antijenidir. D pozitif (D+) ve D negatif (D-) fenotipler Rh pozitif ve Rh negatif olarak adlandırılır. D antijeni ekspresyonu kantitatif olarak değişkendir. D antijeninin çoğunlukla *RHD* geninde oluşan mutasyonlar nedeni ile çok sayıda varyantı bulunur. D varyantları iki gruba ayrılmıştır: zayıf D ve parsiyel D. Zayıf D fenotipli kişilerde, D antijeninin yapısı bozulmamıştır ancak zayıf eksprese edilmektedir. Parsiyel D fenotipinde ise antijenik yapı bozukluğu vardır. Her iki D fenotipi varyant D olarak isimlendirilir.

Bu çalışmada anti D reaksiyonu ≤ 3 pozitif ve anti D reaksiyonu negatif olan sağlıklı bağışçılarda 1) D antijen ekspresyonu jel santrifügasyon / kolon agglutinasyon yöntemi ile üç grup anti D reaktifi ile bakılmıştır. 2) D antijen ekspresyonu ≤ 3 pozitif ve negatif olanlarda üç farklı grup antikorla zayıf D doğrulama testi yapılmıştır. 3) Zayıf D ve parsiyel D saptanan bağışçılarda PZR ile D genotipleme yapılmıştır. 4) Zayıf D ve parsiyel D genotiplemesi ile varyant çeşitliliği belirlenmiştir. 5) anti-D reaktivitesi bakılan bağışçılarda ayrıca jel santrifügasyon / kolon agglutinasyon yöntemi ile RhCE fenotipi bakılmıştır.

Beyaz ırkta D pozitif fenotip %83-85 ve D negatif fenotip ise %15-17 oranında bulunmaktadır [2, 3, 5, 12]. Ülkemizde İ. Mıstıki ve ark. tarafından 2006-2010 yılları arasında 2.207.583 bağışçının değerlendirildiği bir çalışmada [46] ise D pozitif fenotip sıklığı % 88, D negatif fenotip sıklığı ise % 12 olarak bildirilmektedir. Çalışmamızda elde ettiğimiz D pozitif (% 84,77) ve D negatif (% 15,11) fenotip sıklıkları gerek beyaz ırk gerekse ülkemizde yapılan çalışmalarda bildirilen oranlar ile benzerlik göstermektedir (Tablo 4-4).

Varyant D fenotipinin sıklığı beyaz ırkta % 0,2- 3 arasında bildirilmektedir [6, 12]. Ülkemizde 2015 yılında ulusal bildirilerde sunulan farklı çalışmalarda da varyant D pozitiflik oranı % 0,048-0.19 olarak saptanmıştır [47-51]. Ege Bölgesi'nde L. Hayat ve ark tarafından 896.052 kan bağışçısında yapılan çalışmada [48] varyant D oranı %0,048 bulunmuştur. Özel bir hastane grubunun sekiz ildeki laboratuvarlarında 128.540

kan örneğinde N. Öztürk Şahin ve ark. tarafından yapılan çalışmada [47] varyant D oranı %0,19 olarak saptanmıştır. Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz varyant D fenotipi oranı da (% 0,12) hem beyaz ırk hem de ülkemizde yapılan diğer çalışmaların verileriyle benzer bulunmuştur.

Çalışma döneminde varyant D fenotipi tespit edilen 228 kişi kan merkezine davet edilmiş ve davete cevap veren 67 bağışçı çalışma grubunu oluşturmuştur. Varyant D fenotipinde olduğu tespit edilen 228 kişinin tümünün varyant D genotipleme çalışmasına dahil edilememesi ülkemiz kan bağışçılarının çoğunluğunun yönlendirilmiş kan bağışçısı olması ve toplumsal olumlu bir davranış tepkinin oluşma olasılığının bulunmaması [52] ile açıklanabilir.

Çalışma süresince İstanbul Tıp Fakültesi Kan Merkezi'ne kan bağışlamak için başvuran bağışçıların % 95'inin erkek ve çoğunluğunun (% 81) 18-45 yaş grubu arasında olduğu izlenmektedir (Tablo 4-1). Varyant D genotipleme çalışması yapılan 67 bağışçının çoğunluğu erkek (%91) bireylerden oluşmuştur (Tablo 4-7 ve Şekil 4-1). Ülkemizde Türk Kızılayı tarafından 2010 yılında İstanbul'da yapılan ve 118.488 kan bağışçısının değerlendirildiği bir çalışmada [53] erkek bağışçı oranı %93,8 olarak bildirilmiştir. S. Dayan ve ark tarafından Diyarbakır'da 92.393 kan bağışçısında yapılan çalışmada [54] erkek bağışçı %96,71 olarak belirlenmiştir. Varyant D genotipleme çalışması yapılan 67 bağışçının çoğunluğunun erkek (%91) bireylerden oluşması ülkemizin kan merkezi bağışçıları cinsiyet dağılımı özellikleri ile benzerlik göstermiştir.

Goldman ve ark tarafından Belçika, Kanada, Fransa, Hollanda, Yeni Zelanda, Singapur, İngiltere, Amerika Birleşik Devletleri, Avustralya, Almanya, İrlanda ve Japonya ülkelerinde bağışçı ve genel popülasyonun demografik olarak karşılaştırıldığı çalışmada [55] çoğu ülkede genç yaş gruplarında kadın bağışçı sayısının daha baskın olduğu ancak ileri yaş gruplarında erkek bağışçı sayısı ile kadın bağışçı sayısının eşit veya erkek bağışçıların daha baskın duruma geçtiği bildirilmiştir. Gelişmiş toplumlarda kadın ve erkek bağışçı oranları arasında önemli bir fark bulunmazken çalışmamızda erkek bağışçı oranı %91 olarak izlenmiştir.

Çalışma süresince kan merkezimize başvuran tüm bağışçıların ABO major kan gruplarına bakıldığı zaman % 43 ünün A, % 35 inin O, % 15 inin B ve % 7 sinin AB olduğu izlenmektedir. Tablo 4-3'de görüldüğü gibi çalışmamıza katılan bağışçılarda beyaz ırka göre [3] O grubunun görülme sıklığında azalma, B grubunda ise artma

olduğu izlenmektedir. Ülkemizde İ. Mistiki ve ark. tarafından yapılan 2.207.583 bağışçının değerlendirildiği çalışma [46] ile karşılaştırıldığı zaman bizim bağışçılarımızda O grubunun artmış olduğu gözlenmektedir. Gerek beyaz ırk gerekse ülkemiz verileri ile olan bu farklılıklar bağışçı popülasyonumuzun yönlenmiş ve çoğu erkek kişilerden oluşmasına ve/veya bölgesel farklılıklara bağlı olabilir.

Genotipleme çalışmasındaki 67 bağışçının ABO majör kan grubu dağılımları incelendiğinde (Tablo 4-7) A kan grubunda azalma ile O, B ve AB kan gruplarında artma gözlenmesi (Tablo 4-3) varyant D fenotipi saptanmış tüm bağışçılarımızın genotipleme çalışmamıza katılmaması ile açıklanabilir.

Anti D reaksiyonu anti DVI saptayabilen nitelikte antikorlar ile değerlendirmiştir (n=228). Geri çağırılan ve çağrıya yanıt veren olgulara (n=67) direkt testler tekrarlandıktan sonra IAT ile zayıf D doğrulama testi yapıldı. Bu test sırasında 1 olgu bir antikor grubu ile D pozitif olarak belirlendi ve diğer iki farklı antikor grubu ile zayıf D tanımı ile uyumlu bulunduğundan çalışmaya alındı. Zayıf ve parsiyel D tanımlaması 67 olguda ayrı ayrı genotipik olarak çalışıldı.

Varyant genotipleme sonucu kan bağışçılarımızın %68,7'sinde zayıf D genotipi ve %22,4'ünde parsiyel D genotipi izlenmiştir. Çalışmamızdaki zayıf D genotip oranı Wagner ve ark. tarafından beyaz ırktan kişilerden alınmış 161 kan örneğinde yapılan çalışmada [34] saptanan %98,98 zayıf D genotip oranı ile benzerlik göstermemektedir. Çalışmamız ülkemizde Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde L. Kumaş ve ark. tarafından 43 varyant D fenotipindeki kan örneğinde yapılan genotipleme çalışması [44] ile kıyaslandığında kan bağışçılarımızın zayıf D genotipi oranında (%48,8) azalma ve parsiyel D genotipi oranında (%51,2) artma gözlenmiştir. Bu ülkemizde yapılacak çalışmalarda yöresel ve etnik kökenlerin dikkate alınması gerekliliğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda en fazla zayıf D genotipi olarak zayıf D Tip 15 genotipi 18 (%26,8) olgu ile zayıf D Tip 1, 2 ve 3 genotipleri 17 (%25,37) olguda gözlenirken en az sıklıkta gözlenen genotip zayıf D Tip 5 genotipi sadece 1 (%1,5) olguda izlenmiştir (Tablo 4-9 ve Şekil 4-4).

Avustralya'da 2017 yılında 91 zayıf D fenotipindeki bağışçıda yapılan çalışmada [4] zayıf D Tip 1 genotip sıklığı %46,15 olarak bulunmuştur. Müller ve ark tarafından Orta Avrupa'nın üç bölgesindeki beyaz ırktan 436 kan bağışçılarında yapılan çalışmada

[45] Almanya'nın kuzeyindeki bağışçılarda %65 oranında zayıf D Tip 1 genotipi saptanmıştır. Araujo ve ark tarafından Portekiz'de 99 kan örneğinde yapılan çalışmada [56] zayıf D Tip 1 genotip oranı %16,2 olarak bildirilmiştir. Beyaz ırktan kişilerle yapılan çalışmalarda [4, 45, 56] %16-65 oranında bildirilen zayıf D Tip 1 genotip sıklığı 2015 yılında L. Kumaş ve ark. tarafından 43 kan örneğinde yapılan çalışmada [44] %44,18 oranında tespit edilmiştir. Çalışmamızda zayıf D Tip 1 sıklığı %13,4 (n= 9) olarak gözlenmiştir.

Zayıf D Tip 2 genotip sıklığı Avustralyalı 91 kan bağışçısında McGowan ve ark [4] tarafından yapılan çalışmada %27,47 olarak bildirilirken Müller ve ark'ın [45] Orta Avrupa'nın farklı bölgelerden 436 kan bağışçısında yaptığı çalışmada Tyrol (Avusturya) bölgesinde %8 olarak saptanmıştır. Beyaz ırkda yapılan çalışmalarda [4, 45] %8-27 olarak belirlenen Zayıf D Tip 2 sıklığı çalışmamızda 6 kan bağışçısında %9 oranında saptanmıştır. Kumaş ve ark.'nın. [44] Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 43 olguyu inceledikleri çalışmada gösterilememiştir.

Avustralya'da 91 kan bağışçısında McGowan ve ark. tarafından yapılan çalışmada [4] zayıf D tip 3 genotip sıklığı %8,79 oranında saptanmıştır. Orta Avrupa'nın üç farklı bölgesindeki 436 kan bağışçısında yapılan çalışmada [45] Almanya'nın güneybatısındaki kişilerde %4 ve Tyrol (Avusturya) bölgesinde %50 oranında zayıf D tip Tip 3 saptanmıştır. Kumaş ve ark. tarafından 43 varyant D fenotipindeki kan örneğiyle yapılan çalışmada [44] zayıf D Tip 3 genotipi %1,32 (n=1) oranında tespit edilmiştir. Çalışmamızda ise %3,0 (n=2) oranında zayıf D Tip 3 genotipi tespit edilmiştir.

Avrupa, Avustralya ve Kanada'da yapılan çalışmalarda beyaz ırktan insanlarda Zayıf D Tip 1, 2, 3 genotipleri en sık (>%82) görülen zayıf D genotipleri olarak bilinmektedir [4, 6, 57-59]. Zayıf D Tip 1, 2 ve 3 genotipleri sıklığı çalışmamızda %25,37 (n=17) olarak gözlenmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz zayıf D Tip 1, 2 ve 3 genotiplerinin görülme sıklığı L. Kumaş ve ark. [44] tarafından Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yapılan zayıf D tip 2 genotipinde herhangi bir olgunun tespit edilemediği genotipleme çalışmasına (%46,51) göre azalma göstermektedir.

Çalışmamızda 1 (%1,49) kan bağışçısında tespit edilen zayıf D Tip 5 genotipi Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde L. Kumaş ve ark. tarafından 43 kan örneğiyle yapılan çalışmada [44] saptanmamıştır. Zayıf D Tip 5 genotipi Orta Avrupa'da 436

örneğinde yapılan bir çalışmada [45] Avusturya'da (4/130) , Kuzey Almanya'da (0/260) ve Güneybatı Almanya (2/159) nadir olarak gözlenmiştir. Ouchari ve ark. tarafından Tunus popülasyonunda 46 olguda yapılan çalışmada [60] 1 olguda (%0,28) izlenmiştir. Çalışmamızın verileri uluslararası çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızda zayıf D Tip 11 genotipi %14,9 (n=10) oranında kan bağışçısında gözlenmiştir. Tunus popülasyonunda 46 olguda Ouchari ve ark. tarafından yapılan çalışmada [60] 1 olguda (%0,28) zayıf D Tip 11 genotipi izlenmiştir. Belçika'da 495 kan örneğinde yapılan çalışmada [58] %0,2 (n=1) olarak tespit edilen zayıf D Tip 11 genotipinin Afrika ve Asya toplumlarında henüz bildirişi yapılmamıştır [6]. Zayıf D Tip 11 genotipinin Avrupalı toplumlarda yapılan çalışmalarda nadiren (<%1) gözlendiği bildirilmiştir [6, 58]. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 43 kan örneğinde yapılan çalışmada [44] %9,3 (n=4) oranında gözlenmesi ülkemizde zayıf D Tip 11 genotipinin beyaz ırkda beklenenin aksine daha sık olduğunu düşündürmektedir.

Zayıf D Tip 15 genotipi Belçika'da 495 kan örneğinde yapılan çalışmada [58] %0,2 (n=1) ve Hırvatistan'da 167 örnek üzerinde yapılan bir çalışmada [57] %0,6 oranında gözlenirken Avustralya'da 91 kan bağışçısıyla yapılan çalışmada [4] 2 olguda saptanmıştır. Beyaz ırkta düşük (<%1) sıklıkta görüldüğü bildirilen [6] zayıf D Tip 15 genotipinin Japonya, Çin ve Tayvan gibi Doğu Asya toplumlarında yapılan bir çalışmada [61] sık (14/48) olarak gözlendiği bildirilmiştir. Doğu Asya ilişkili *RHD* varyantlarından [4, 7] olan zayıf D Tip 15 genotipi çalışmamızda %26,8 (n=18) olarak saptanmıştır. L. Kumaş ve ark. tarafından Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi genotipleme çalışmasında [44] elde edilen bulgular (%23,25; 10/43) ile çalışmamız verileri benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızda parsiyel genotiplerin dağılımı en sık DFR genotipinde %14,5 (n=10) oranında izlenirken DAU (0, 1, 2, 3) ve DVI-tip 3 (DVIa) genotipleri 1'er (%1,5) kan bağışçısında en az olarak gözlenmiştir.

Kulkarni ve ark. tarafından Hindistan'da yapılan çalışmalarda 60 parsiyel olgunun 18'inde [62] ve %29 oranında [63] DFR genotipi belirlenmiştir. Hint popülasyonunda yüksek oranda [64] izlendiği bildirilen parsiyel DFR genotipi 4 beyaz ırktan kan bağışçısında [65] gözlenmiştir. Bizim çalışmamızda 10 kan bağışçısında %14,9 olarak izlenmiştir. Ülkemizde 43 kan örneğiyle yapılan diğer çalışmada [44] parsiyel DFR genotipi saptanmamıştır.

Parsiyel DVI beyaz ırktan insanlarda %0,02-0,05 sıklıkla en sık gözlenen parsiyel D genotipi olarak bilinmektedir [5]. Belçika'da 495 kan örneğinde yapılan çalışmada [58] %5,6 oranında ve İngiltere kaynaklı 200 olguda yapılan bir çalışmada [66] %5 oranında parsiyel DVI gözlenmiştir. DVI-tip 3 genotipi Van-Sandt ve arkadaşlarının Avrupa'da 495 kan örneğinde yaptığı çalışmada [58] 4 olguda (%0,8) saptanırken Çin toplumunda 48 örnekle yapılmış çalışmada [61] 22 olguda (% 45,83) izlenmiştir. DVI-tip 3 genotipi L. Kumaş ve ark. tarafından yapılan çalışmada [44] 43 olgunun 1'inde gözlenmiştir. Çalışmamızda 1 olguda (%1,5) DVI-tip 3 genotipi bulunması ülkemizde yapılan bu çalışma verileri (%2,32) ile benzerlik göstermektedir.

Parsiyel DAU genotipi Wagner ve ark. tarafından DAU kan örneklerinin değerlendirildiği bir çalışmada [67] nadir ($<1/3.164$) ve farklı etnik toplumlardan (Afrika, Asya, Avrupa ve Endonezya) hastalarda yapılan bir çalışmada [68] %0,012 olarak tespit edilmiştir. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 43 kan örneğinde yapılan çalışmada [44] 1 olguda izlenmiştir. Beyaz ırktan insanlarda yapılan çalışmalarda nadir olarak gözlenen parsiyel DAU (0, 1, 2, 3) genotipi çalışmamızda %1,5 oranıyla 1 olguda gözlenmiştir.

Parsiyel DVa ilişkili genotipler farklı etnik kökenli (Afrika, Asya, Avrupa ve Endonezya) kan örneklerinin değerlendirildiği varyant D genotipleme çalışmasında [68] 7 olguda görülmüştür. Çalışmamızda 3 (%4,5) kan bağışçısında saptanan parsiyel DVa ilişkili genotip L. Kumaş ve ark. tarafından 43 örnek üzerinde yapılan çalışmada [44] 1 olguda (%2,32) saptanmıştır.

Çalışmamıza katılan kan bağışçılarında L. Kumaş ve ark. tarafından Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 43 kan örneğinde yaptığı çalışmada [44] tespit edilen ve görülme sıklığı toplamda %9,3 olan varyant D genotipleri; parsiyel DAR, parsiyel DVII, parsiyel cat IIIc ve zayıf D Tip 4,2 genotiplerine rastlanılmamıştır.

Çalışmamızda zayıf D Tip 5 genotipindeki tek kan bağışçısında ccEe ve Zayıf D Tip 15 genotipindeki 18 kişide ccEe ve ccEE Rh fenotipinin gözlenmesi bu varyantlarda gözlenen RhCE fenotipleri ile (Tablo 4-25) uyumlu bulunmuştur [7, 69]. Parsiyel D Tip VI-tip 3 tespit edilen kan bağışçısında gözlenen Ccee Rh fenotipi gözlenmesi beklenen Rh altgrubu fenotipidir [7, 69]. Parsiyel D tip Va olan tüm bağışçılar Ccee fenotipinde olması ve parsiyel DAU (0, 1, 2, 3) genotipi saptanan kan

bağışçısının Ccee Rh fenotipinde olması bu varyantlarda gözlenen RhCE fenotipleri ile (Tablo 4-25) uyumlu bulunmuştur.

Zayıf D Tip 1 genotipi görülen kan bağışçılarında 8 Ccee ve zayıf D Tip 2 genotipinde olan bağışçıların birinde ccEe Rh fenotiplerinin izlenmesi Portekiz kaynaklı bir çalışma ile benzerlik göstermiştir [56]. Arajuo ve ark. tarafından yapılan bu çalışmada Zayıf D Tip 3 genotipinde 12 kişide görülen Ccee Rh altgrup fenotipi çalışmamızda bir bağışçıda izlenmiştir. Zayıf D Tip 1 fenotipindeki bir kan bağışçısında görülen CCee Rh fenotipi Brezilya'da yapılan bir çalışmada Zayıf D Tip 1 kan örneklerinde de gözlenmiştir [70]. Zayıf D Tip 2 genotipinde gözlenen CCee Rh altgrubu Fransa kaynaklı bir çalışmada tespit edilmiş fenotiplerendir [71]. Zayıf D Tip 11 genotipindeki 9 kişide gözlenen Ccee ve parsiyel DFR genotipindeki bağışçılarımızda tespit edilen Ccee, ccEe ve Ccee Rh altgrupları daha önce bu varyant genotiplerinde gözlenmiştir [7, 69]. Zayıf D tip 11 genotipinde bir bağışçıda CCEe Rh fenotipi gözlenmesi *RHD*(M295I) haplotip *CD_{del}e* ile ilişkili (Şekil 3-1) olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda beklenin dışında zayıf D Tip 2 genotipinde 4 bağışçıda Ccee Zayıf D tip 3 genotipinde bir bağışçıda ccEe Rh altgrup fenotipleri (Tablo 4-25) gözlenmiştir [7, 69].

Varyant D genotiplerinin sıklığı ırk ve etnik kökene göre değişmektedir [6]. Batı toplumlarında anti-D oluşumuna en çok neden olan parsiyel DVI, zayıf D bağışçı popülasyonundaki en sık izlenen varyanttır ve serolojik zayıf D fenotipler içinde sıklığı en fazla olan parsiyel D (%5) olarak bildirilmektedir [66]. Zayıf D Tip 1, 2 ve 3 genotiplerinin beyaz ırk insanları üzerinde çalışmalarında toplamda %90'a varan oranlarda sık olarak saptandığı ve anti-D oluşumuna neden olmadıkları bilinmektedir [6]. Bizim çalışmamızda en sık olarak gözlenen varyant D genotipi beyaz ırkta nadiren gözlenen parsiyel DFR genotipinin olması ve zayıf D Tip 1, 2 ve 3 genotiplerinin sıklığının beyaz ırkda beklendiği kadar yüksek olmaması ülkemizde moleküler düzeyde çalışmaların sayıca artırılması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Varyant D fenotipindeki bireyler D antijeni ile karşılaştıkları zaman (transfüzyon, gebelik vb.) sahip olmadıkları D epitopuna karşı immünize olabilmekte ve bu durum hemolitik transfüzyon reaksiyonu ve yenidoğanın hemolitik hastalığı açısından risk yaratmaktadır.

Gelişen poliklonal ve monoklonal antikorlar kullanılarak zayıf D fenotipi daha kolay bir şekilde tanınmakta ve rutin Rh tiplendirmede D negatif saptanan kişilerin zayıf D / parsiyel D fenotipi IAT ile gösterilebilmektedir. Bu nedenle tüm D negatif alıcılara IAT ile doğrulama testi yapılmaktadır. Ancak rutin kan bankacılığı testlerinin tespit edemediği tanımlayamadığı varyant D (D^{EL} gibi) tipleri bulunmaktadır. D^{EL} genotipindeki kişilerin tespit edilebilmesi için elüsyon/adsorbsiyon gibi özellikli testlerin de serolojik olarak yapılması gerekmektedir. Ayrıca çalışmamızda 6 kan bağışçısının (%9) varyant D genotipi tanımlanamamıştır. Bu örneklerin tanımlanması için bizim kullandığımız moleküler testten farklı testlerin de uygulanması gerekmektedir. Gerek elüsyon/adsorbsiyon testleri gerekse moleküler testler personel, donanım, maliyet ve mekan gereklilikleri kadar sağlıklı ve doğru koşullarda gerçekleşmesi gereken zahmetli testlerdir. Ülkemizdeki hastane transfüzyon merkezleri elüsyon/adsorbsiyon gibi özellikli immünohematolojik ve moleküler testleri yapacak nitelikte personele, yeterli donanıma ve mali imkana sahip değildir. Rutin kan merkezi hizmetinin yoğunluğu ve klinik kan ihtiyacının acil koşullarda karşılanma zorunluluğu bu özellikli testlerin transfüzyon merkezlerinden ayrı ileri immünohematolojik ve moleküler testlerde özelleşmiş merkezlerde yapılması gerekliliğini ortaya koymaktadır. Gelişmiş ülkelerde transfüzyon merkezlerinde varyant D fenotipinde tespit edilmiş kan örnekleri elüsyon/adsorbsiyon ve farklı moleküler testleri yapabilecek donanıma ve deneyime sahip “İmmünohematoloji Referans Laboratuvarları”na gönderilerek RhD tiplendirmeleri yapılmaktadır. Çoğu gelişmiş ülkede “İmmünohematoloji Referans Laboratuvarları”nın katkılarıyla RhD genotipleme için standartlar ve algoritmalar belirlenmiş bulunmaktadır. Ülkemizde hastane transfüzyon merkezleri dışında “İmmünohematoloji Referans Laboratuvarları”nın oluşturulması ile serolojik RhD tiplendirme tekniklerini tamamlayıcı hızlı metodlar belirlenecek, kan bağışçılarının RhD genotiplemesi için gerekli standartların ve algoritmaların belirlenmesi sağlanacak, maliyet etkinliğini artırılacak ve en önemlisi belki de transfüzyon kazalarının sıklığı azalacaktır.

Bizim çalışmamızda bağışçılarımızda % 0,12 olarak saptanan varyant D genotipleri oranı göz önüne alınırsa hastane kan merkezimizde bile yılda yaklaşık 40 donörün varyant D genotipi ve dolayısıyla varyant D antijeni taşıdığı anlaşılmaktadır. Kullanılan yöntemlere bağlı bu bağışçıların D negatif olarak değerlendirilmeleri durumunda en az 40 kişinin D antijeni ile immünize edileceği açıktır. D antijeninin

immünojenitesinin % 70 oranında olduğu düşünülürse varyant D genotipini saptamanın önemi daha iyi anlaşılacaktır.

Sonuç olarak varyant D genotipleri açısından çalışmamızda elde edilen veriler beyaz ırktaki literatür bilgileri ile farklılık, zayıf D genotiplerin parsiyel D genotiplere oranla daha fazla gözlenmesi bakımından da benzerlik göstermektedir. Gerek transfüzyon reaksiyonları sonrası gerekse de hamilelikler sırasında zayıf D / parsiyel D antijen pozitif eritrositlerle karşılaşma transfüzyon tıbbı açısından önemli klinik tablolara neden olmaktadır. Bu nedenle ülkemizde zayıf D / parsiyel D fenotipi olan kan bağışçılarının RhD genotiplemeye yönelik çalışmalarına ağırlık verilmesi ve bu testlerin “İmmunohematoloji Referans Laboratuvarları”nın oluşturularak yapılmasında yarar bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Calhoun, L. and L.D. Petz, *Erythrocyte antigens and antibodies*. Williams Hematology. Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ and Seligsohn U.(eds) sixth edition, McGraw-Hill, New York, 2001: p. 1843-1858.
2. Zimring, J.C., *Principles of red blood cell allo-and autoantibody formation and function*, in *Blood Banking and Transfusion Medicine (Second Edition)*. 2007, Elsevier. p. 43-52.
3. Daniels, G. and I. Bromilow, *Essential guide to blood groups*. 2nd ed. ed. 2010, Oxford: Wiley-Blackwell.
4. McGowan, E., et al., *Diverse and novel: implication for transfusion management rhD: implication for transfusion management variants in Australian blood donors with a weak D phenotype: implication for transfusion management*. *Vox Sanguinis*, 2017. **112**(3): p. 279-287.
5. Geoff, D., *Variants of RhD – current testing and clinical consequences*. *British Journal of Haematology*, 2013. **161**: p. 461–470.
6. Sandler, S.G., L.N. Chen, and W.A. Flegel, *Serological weak D phenotypes: a review and guidance for interpreting the RhD blood type using the RHD genotype*. *British Journal of Haematology*, 2017.
7. <http://www.rhesusbase.info/>, U.T.h.R., version 2.0. *The Rhesus Site. Transfus Med Hemother* 41(5): 357-363. PMID: 25538538. The Rhesus Site 2014 update 2017-12-05; Available from: URL: The human RhesusBase, version 2.0.
8. Anstee, D., *Blood group-active surface molecules of the human red blood cell*. *Vox Sang*, 1990. **58**: p. 1-20.
9. Avent, N.D. and M.E. Reid, *The Rh blood group system: a review*. *Blood*, 2000. **95**(2): p. 375-87.
10. Singleton, B.K., et al., *The presence of an RHD pseudogene containing a 37 base pair duplication and a nonsense mutation in africans with the Rh D-negative blood group phenotype*. *Blood*, 2000. **95**(1): p. 12-8.
11. Fung, M., et al., *AABB technical manual*. 2014, Bethesda: AABB Press.
12. Daniels, G., *Rh and RHAG blood group systems*. *Human Blood Groups*, 3rd edition, 2013: p. 182-258.
13. Levine, P., R. E. Stetson, *An unusual case of intra-group agglutination*. *J. Am. Med. Assoc.*, 1939. **113**: p. 126-127.
14. Landsteiner K , W.A., *Studies on an agglutinogen (Rh) in human blood reacting with anti - rhesus sera and with human isoantibodies*. *J Exp Med*, 1941. **74**(4): p. 309-320.
15. Landsteiner, K. and A.S. Wiener, *An agglutinable factor in human blood recognized by immune sera for rhesus blood*, in *Rhesus haemolytic disease*. 1940, Springer. p. 41-42.
16. Wiener, A.S. and H.R. Peters, *Hemolytic reactions following transfusions of blood of the homologous group, with three cases in which the same agglutinogen was responsible*, in *Rhesus haemolytic disease*. 1940, Springer. p. 43-60.
17. Fisk, R.T. and A.G. Foord, *Observations on the Rh agglutinogen of human blood*. *American Journal of Clinical Pathology*, 1942. **12**(11): p. 545-52.
18. Levine, P., et al., *A human 'D-like'antibody*. *Nature*, 1963. **198**(4880): p. 596-597.

19. Race, R., et al., *Recognition of a further common Rh genotype in man*. Nature, 1944. **153**(Jan. 8): p. 52.
20. Wiener, A.S., *Genetic Theory of the Rh Blood Types*.*. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 1943. **54**(3): p. 316-319.
21. Schroeder, M. and H. Rayner, *Red cell, platelet and white cell antigens*. Wintrob's Clinical Hematology, 1993. **10**: p. 774-816.
22. Levine, P., et al., *The role of iso-immunization in the pathogenesis of erythroblastosis fetalis*. American Journal of Obstetrics and Gynecology, 1941. **42**(6): p. 925-937.
23. Levine, P., E.M. Katzin, and L. Burnham, *Isoimmunization in pregnancy: its possible bearing on the etiology of erythroblastosis foetalis*. Journal of the American Medical Association, 1941. **116**(9): p. 825-827.
24. Levine, P., et al., *Pathogenesis of erythroblastosis fetalis: statistical evidence*. Science, 1941. **94**(2442): p. 371-372.
25. Westhoff, C., *The Rh Blood Group System*.
26. Tippett, P., *A speculative model for the Rh blood groups*. Annals of human genetics, 1986. **50**(3): p. 241-247.
27. Blumenfeld, O.O. and S.K. Patnaik, *Allelic genes of blood group antigens: a source of human mutations and cSNPs documented in the Blood Group Antigen Gene Mutation Database*. Human mutation, 2004. **23**(1): p. 8-16.
28. Wagner, F. and W. Flegel, *the molecular basis of the Rh blood group phenotypes*. Immunohematology/American Red Cross, 2004. **20**(1): p. 23.
29. Westhoff, C.M. and M.E. Reid, *Rh, Kell, Duffy, and Kidd Antigens and Antibodies*. Blood Banking and Transfusion Medicine E-Book: Basic Principles and Practice, 2006: p. 43.
30. Scott, M., *Section 1A: Rh serology*Coordinator's report. Transfusion clinique et biologique, 2002. **9**(1): p. 23-29.
31. Contreras, M. and R. Knight, *Controversies in transfusion medicine*. Transfusion, 1991. **31**(3): p. 270-272.
32. Wagner, F.F., et al., *Weak D alleles express distinct phenotypes*. Blood, 2000. **95**(8): p. 2699-708.
33. Westhoff, C.M., *The Rh blood group system in review: a new face for the next decade*. Transfusion, 2004. **44**(11): p. 1663-1673.
34. Wagner, F.F., et al., *Molecular basis of weak D phenotypes*. Blood, 1999. **93**(1): p. 385-93.
35. Shao, C.-P., *Transfusion of RhD-positive blood in "Asia type" DEL recipients*. New England Journal of Medicine, 2010. **362**(5): p. 472-473.
36. Avent, N.D., *The Rhesus blood group system: insights from recent advances in molecular biology*. Transfusion medicine reviews, 1999. **13**(4): p. 245-266.
37. Quinley, E.D. and Quinley, *Immunohematology: principles and practice*, W. M.S., Editor. 1998, Lippincott Philadelphia. p. 111-122.
38. Milkins, C., et al., *Guidelines for pre-transfusion compatibility procedures in blood transfusion laboratories*. Transfusion Medicine, 2013. **23**(1): p. 3-35.
39. Reis, K., et al., *Column agglutination technology: the antiglobulin test*. Transfusion, 1993. **33**(8): p. 639-643.
40. Lapiere, Y., et al., *The gel test: a new way to detect red cell antigen-antibody reactions*. Transfusion, 1990. **30**(2): p. 109-113.
41. Knight, R. and M. De Silva, *New technologies for red-cell serology*. Blood reviews, 1996. **10**(2): p. 101-110.

42. Boussiotis, V.A., et al., *Tumor necrosis factor alpha is an autocrine growth factor for normal human B cells*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1994. **91**(15): p. 7007-7011.
43. Zetterquist, H. and O. Olerup, *Identification of the HLA-DRB1* 04,-DRB1* 07, and-DRB1* 09 alleles by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours*. Human immunology, 1992. **34**(1): p. 64-74.
44. Kumaş, L.T., et al. *Türk Toplumundaki RhD Varyantlarının Genotiplendirilerek Serolojik Tanı İle Korelasyonu (S-08)*. in VIII. Ulusal Kan Merkezleri Ve Transfüzyon Tıbbı Kongresi. 14-18 Aralık 2015. Maritim Pine Beach Hotel, Belek-Antalya.
45. Müller, T.H., et al., *PCR screening for common weak D types shows different distributions in three Central European populations*. Transfusion, 2001. **41**(1): p. 45-52.
46. Mıstıki, İ., et al. *Ocak 2006 - Temmuz 2010 Tarihleri Arasında Türk Kızılayı'na Kan Baş Vuran Kan Bağışçılarında ABO,RH D, RH Subgrup Dağılımı ve Kell Antijen Pozitifliği (P04-03)*. in III: Ulusal Kan Merkezleri ve Transfüzyon Tıbbı Kongresi. 24-28 Kasım 2010. Maritim Pine Beach Resort Hotel, Belek-Antalya.
47. Öztürk Şahin, N., et al. *Zayıf/Varyant D Antijen Pozitifliği (S-15)*. in VIII. Ulusal Kan Merkezleri Ve Transfüzyon Tıbbı Kongresi. 2015. Maritim Pine Beach Hotel, Belek-Antalya.
48. Hayat, L., et al. *Ege Bölgesi Kan Bağışçılarında Zayıf D Antijeni Tarama Sonuçlarımız (P-017)*. in VIII. Ulusal Kan Merkezleri Ve Transfüzyon Tıbbı Kongresi. 2015. Maritim Pine Beach Hotel, Belek-Antalya.
49. Demirel, K., et al. *Türk Kızılayı 2014 Yılı Kan Bağışçılarındaki Zayıf D Pozitiflik Oranlarımız (P-024)*. in VIII. Ulusal Kan Merkezleri Ve Transfüzyon Tıbbı Kongresi. 2015. Maritim Pine Beach Hotel, Belek-Antalya.
50. Demirel, K., et al. *Türk Kızılayı Laboratuvarlarında Parsiyel D Çalışmaları (P-025)*. in VIII. Ulusal Kan Merkezleri ve Transfüzyon Tıbbı Kongresi. 14-18 Aralık 2015. Maritim Pine Beach Resort Hotel, Belek-Antalya.
51. Bektöre, B., et al. *Weak D Detection Rates in A Blood Center From Blood Donors (PP-034)*. in XIIth AATM Congress - IXth BBTST Congress. 2-6 April 2016. Maritim Pine Beach Resort Hotel, Antalya, Turkey.
52. Argan, M.T., *Kan Bağış Davranışını Etkileyen Faktörlerin Planlı Davranış Teorisi Çerçevesinde İncelenmesi*. 2016.
53. Kuruçay, F., S. Hepgül, and H. Altunay. *Istanbul İlinde Kadın Bağışçıların İrdelenmesi (P01-23)*. in III. Ulusal Kan Merkezleri ve Transfüzyon Tıbbı Kongresi. 24-28 Kasım 2010. Maritim Pine Beach Resort Hotel, Belek-Antalya.
54. Dayan, S. and T. Özekinci. *HBsAg, Anti-HCV and Anti-HIV Seroprevalence of Blood Donors In Diyarbakir (PP-099)*. in XIIth AATM Congress - IXth BBTST Congress. 2-6 April 2016. Maritim Pine Beach Resort Hotel, Antalya-Turkey.
55. Goldman, M., et al., *Comparison of donor and general population demographics over time: a BEST Collaborative group study*. Transfusion, 2017. **57**(10): p. 2469-2476.
56. Araújo, F., et al., *Weak D type 2 is the most prevalent weak D type in Portugal*. Transfusion Medicine, 2006. **16**(1): p. 63-67.
57. Gene, R., *Distribution of weak D types in the Croatian population*. Transfusion Medicine, 2011. **21**: p. 278-279.
58. Van Sandt, V.S., et al., *RHD variants in Flanders, Belgium*. Transfusion, 2015. **55**(6pt2): p. 1411-1417.

59. Ansart-Pirenne, H., et al., *RhD variants in Caucasians: consequences for checking clinically relevant alleles*. *Transfusion*, 2004. **44**(9): p. 1282-1286.
60. Ouchari, M., et al., *Weak D in the Tunisian population*. *Blood Transfusion*, 2015. **13**(2): p. 295.
61. Luo, H., et al., *Phenotype Types and Genetic Mutation Mechanism of Rhesus D Variant Individuals*. *Zhongguo shi yan xue ye xue za zhi*, 2017. **25**(6): p. 1804-1809.
62. Kulkarni, S., et al., *Frequency of partial D in Western India*. *Transfusion Medicine*, 2008. **18**(2): p. 91-96.
63. Kulkarni, S., et al., *Molecular characterization of partial D variants in India*. *Transfusion Medicine*, 2005. **15**(1): p. 69-82.
64. Gorakshakar, A.C., S.S. Kulkarni, and K. Ghosh, *Molecular organization of 'Rh' gene is likely to be heterogeneous across the world*. *Asian journal of transfusion science*, 2013. **7**(2): p. 103.
65. Lomas, C., et al., *FPTT is a low-incidence Rh antigen associated with a "new" partial Rh D phenotype, DFR*. *Transfusion*, 1994. **34**(7): p. 612-616.
66. Leader, K.A., et al., *Human monoclonal anti-D with reactivity against category DVI cells used in blood grouping and determination of the incidence of the category DVI phenotype in the DU population*. *Vox Sang*, 1990. **58**(2): p. 106-11.
67. Wagner, F.F., et al., *The DAU allele cluster of the RHD gene*. *Blood*, 2002. **100**(1): p. 306-311.
68. Denomme, G.A., et al., *Partial D, weak D types, and novel RHD alleles among 33,864 multiethnic patients: implications for anti-D alloimmunization and prevention*. *Transfusion*, 2005. **45**(10): p. 1554-60.
69. Reid, M.E., C. Lomas-Francis, and M.L. Olsson, *The blood group antigen factsbook*. 2004: Academic Press.
70. Credidio, D., J. Pellegrino Jr, and L. Castilho, *Serologic and molecular characterization of D variants in Brazilians: impact for typing and transfusion strategy*. *Immunohematology*, 2011. **27**(1): p. 6-11.
71. Silvy, M., et al., *Weak D and DEL alleles detected by routine SNaPshot genotyping: identification of four novel RHD alleles*. *Transfusion*, 2011. **51**(2): p. 401-411.

HAM VERİLER

| no | KG | yaş | cinsiyet e 1 k 2 | DİREKT ZAYIF D | | | | | | | | | |
|----|---------|-----|---------------------|----------------|------|-----------|------|---|---------|-----------|------|---|---------|
| | | | | ANTİKOR 1 | | ANTİKOR 2 | | | | ANTİKOR 3 | | | |
| | | | | D RX | | D RX | DVI+ | | | D RX | DVI+ | | |
| 1 | O RH + | 45 | 1 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG |
| 2 | A RH + | 26 | 1 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG |
| 3 | A RH + | 37 | 1 | 1 | WEAK | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG |
| 4 | A RH + | 39 | 1 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG |
| 5 | B RH + | 47 | 1 | 1 | WEAK | 0 | 1 | 1 | PARTIAL | 0 | 1 | 0 | PARTIAL |
| 6 | O RH + | 20 | 2 | 0 | NEG | 0 | 3 | 3 | PARTIAL | 0 | 2 | 0 | PARTIAL |
| 7 | O RH + | 49 | 1 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG |
| 8 | O RH + | 23 | 1 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG |
| 9 | A RH + | 25 | 1 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG |
| 10 | A RH + | 20 | 1 | 3 | WEAK | 3 | 1 | 1 | WEAK | 3 | 1 | 0 | WEAK |
| 11 | A RH + | 40 | 1 | 1 | WEAK | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG |
| 12 | A RH + | 41 | 1 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG |
| 13 | A RH + | 25 | 1 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG |
| 14 | AB RH + | 35 | 1 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG |
| 15 | O RH + | 36 | 1 | 3 | WEAK | 3 | 1 | 1 | WEAK | 3 | 0 | 0 | WEAK |
| 16 | A RH + | 45 | 1 | 0 | NEG | 1 | 1 | 1 | WEAK | 0 | 0 | 0 | NEG |
| 17 | O RH + | 23 | 1 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG |
| 18 | O RH + | 31 | 2 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG |
| 19 | A RH + | 41 | 1 | 0 | NEG | 0 | 2 | 2 | PARTIAL | 0 | 1 | 0 | PARTIAL |
| 20 | A RH + | 39 | 1 | 3 | WEAK | 3 | 1 | 2 | WEAK | 3 | 0 | 0 | WEAK |
| 21 | A RH + | 39 | 2 | 3 | WEAK | 3 | 3 | 3 | WEAK | 3 | 3 | 3 | WEAK |
| 22 | O RH + | 33 | 1 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG |
| 23 | B RH + | 21 | 1 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG |
| 24 | A RH + | 43 | 1 | 0 | NEG | 1 | 0 | 0 | WEAK | 0 | 0 | 0 | NEG |
| 25 | O RH + | 42 | 1 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG |
| 26 | B RH + | 43 | 1 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG |
| 27 | O RH + | 31 | 1 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG |
| 28 | B RH + | 34 | 1 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG |
| 29 | B RH + | 20 | 1 | 0 | NEG | 0 | 2 | 2 | PARTIAL | 0 | 1 | 1 | PARTIAL |
| 30 | O RH + | 33 | 1 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG |
| 31 | A RH + | 29 | 1 | 3 | WEAK | 2 | 2 | 1 | WEAK | 2 | 2 | 2 | WEAK |
| 32 | AB RH + | 33 | 1 | 2 | WEAK | 0 | 3 | 3 | PARTIAL | 1 | 3 | 3 | WEAK |
| 33 | A RH + | 34 | 1 | 1 | WEAK | 3 | 1 | 1 | WEAK | 1 | 1 | 1 | WEAK |
| 34 | O RH + | 36 | 1 | 0 | NEG | 0 | 2 | 2 | PARTIAL | 0 | 1 | 2 | PARTIAL |
| 35 | O RH + | 25 | 1 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 1 | WEAK |
| 36 | A RH + | 51 | 1 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 3 | NEG |
| 37 | A RH + | 42 | 1 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 3 | NEG |
| 38 | O RH + | 49 | 1 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG |
| 39 | O RH + | 50 | 1 | 2 | WEAK | 0 | 3 | 2 | PARTIAL | 1 | 3 | 3 | PARTIAL |
| 40 | A RH + | 49 | 1 | 3 | WEAK | 3 | 3 | 3 | WEAK | 4 | 4 | 4 | POZ |
| 41 | O RH + | 31 | 1 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG |
| 42 | O RH + | 35 | 1 | 0 | NEG | 2 | 1 | 1 | WEAK | 0 | 0 | 0 | NEG |
| 43 | A RH + | 36 | 1 | 3 | WEAK | 2 | 1 | 0 | WEAK | 2 | 2 | 1 | WEAK |
| 44 | B RH + | 43 | 2 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG |
| 45 | A RH + | 38 | 1 | 3 | WEAK | 1 | 1 | 1 | WEAK | 3 | 3 | 3 | WEAK |
| 46 | O RH + | 38 | 1 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG |

| no | KG | yaş | cinsiyet e 1 k 2 | DİREKT ZAYIF D | | | | | | | | | |
|----|--------|-----|---------------------|----------------|------|-----------|------|---|---------|-----------|------|---|---------|
| | | | | ANTİKOR 1 | | ANTİKOR 2 | | | | ANTİKOR 3 | | | |
| | | | | D RX | | D RX | DVI+ | | | D RX | DVI+ | | |
| 47 | B RH + | 42 | 1 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG |
| 48 | A RH + | 24 | 1 | 3 | WEAK | 0 | 1 | 1 | PARTIAL | 2 | 2 | 2 | WEAK |
| 49 | A RH + | 32 | 1 | 1 | WEAK | 0 | 3 | 3 | PARTIAL | 1 | 3 | 3 | PARTIAL |
| 50 | O RH + | 38 | 1 | 3 | WEAK | 2 | 1 | 1 | WEAK | 3 | 3 | 1 | WEAK |
| 51 | O RH + | 31 | 1 | 2 | WEAK | 3 | 3 | 1 | WEAK | 2 | 2 | 2 | WEAK |
| 52 | A RH + | 27 | 1 | 2 | WEAK | 0 | 3 | 3 | PARTIAL | 3 | 3 | 3 | WEAK |
| 53 | O RH + | 27 | 1 | 3 | WEAK | 0 | 1 | 1 | PARTIAL | 3 | 3 | 2 | WEAK |
| 54 | O RH + | 30 | 2 | 3 | WEAK | 0 | 0 | 0 | NEG | 3 | 3 | 2 | WEAK |
| 55 | O RH + | 52 | 1 | 3 | WEAK | 0 | 1 | 1 | PARTIAL | 1 | 0 | 0 | WEAK |
| 56 | O RH + | 31 | 1 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG |
| 57 | A RH + | 41 | 1 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG |
| 58 | A RH + | 25 | 1 | 3 | WEAK | 2 | 1 | 0 | WEAK | 2 | 2 | 0 | WEAK |
| 59 | B RH + | 24 | 1 | 3 | WEAK | 3 | 3 | 1 | WEAK | 3 | 3 | 3 | WEAK |
| 60 | B RH + | 33 | 1 | 0 | NEG | 0 | 2 | 1 | PARTIAL | 0 | 1 | 1 | PARTIAL |
| 61 | O RH + | 37 | 1 | 0 | NEG | 0 | 2 | 1 | PARTIAL | 0 | 2 | 1 | PARTIAL |
| 62 | O RH + | 40 | 1 | 2 | WEAK | 2 | 2 | 0 | WEAK | 3 | 3 | 2 | WEAK |
| 63 | B RH + | 20 | 2 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG | 0 | 0 | 0 | NEG |
| 64 | O RH + | 32 | 1 | 3 | WEAK | 2 | 1 | 0 | WEAK | 2 | 2 | 2 | WEAK |
| 65 | O RH + | 40 | 1 | 0 | NEG | 0 | 3 | 2 | PARTIAL | 1 | 3 | 3 | PARTIAL |
| 66 | B RH + | 38 | 1 | 0 | NEG | 0 | 3 | 3 | PARTIAL | 0 | 3 | 3 | PARTIAL |
| 67 | B RH + | 1 | 1 | 1 | WEAK | 0 | 3 | 3 | PARTIAL | 0 | 3 | 3 | PARTIAL |

| no | İNDİREKT ZAYIF D TESTİ | | | | | | Direkt Coombs | RH ALTGRUP | | | | | | |
|----|------------------------|------|-----------|------|-----------|------|------------------|------------|----------------|---|---|------|-----------------|---------|
| | ANTİKOR 6 | | ANTİKOR 4 | | ANTİKOR 5 | | | C | Kü çük C | E | e | Kell | rh altgrup | C/c E/e |
| | RX | | RX | | RX | | | | | | | | | |
| 1 | 2 | WEAK | 1 | WEAK | 2 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 4 | C+c+E-e+ K+ | Ccee |
| 2 | 1 | WEAK | 1 | WEAK | 1 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K-Cw- | Ccee |
| 3 | 3 | WEAK | 3 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 0 | 4 | 4 | 4 | 0 | C-c+E+e+, K-Cw- | ccEe |
| 4 | 2 | WEAK | 1 | WEAK | 2 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c-E-e+, K-Cw- | Ccee |
| 5 | 3 | WEAK | 3 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 4 | 0 | 0 | 4 | 0 | C+c-E-e+, K-Cw- | CCee |
| 6 | 4 | WEAK | 3 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K-Cw- | Ccee |
| 7 | 2 | WEAK | 1 | WEAK | 2 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c-E-e+, K- | Ccee |
| 8 | 1 | WEAK | 1 | WEAK | 2 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K-Cw- | Ccee |
| 9 | 2 | WEAK | 1 | WEAK | 2 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K-Cw- | Ccee |
| 10 | 4 | WEAK | 3 | WEAK | 4 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K-Cw- | Ccee |
| 11 | 3 | WEAK | 3 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 0 | 4 | 4 | 4 | 0 | C-c+E+e+, K- | ccEe |
| 12 | 3 | WEAK | 2 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 0 | 4 | 4 | 4 | 0 | C-c+E+e+, K-Cw- | ccEe |
| 13 | 1 | WEAK | 1 | WEAK | 2 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K-Cw- | Ccee |
| 14 | 2 | WEAK | 2 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 0 | 4 | 4 | 4 | 0 | C-c+E+e+, K- | ccEe |
| 15 | 3 | WEAK | 3 | WEAK | 4 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K-Cw- | Ccee |
| 16 | 2 | WEAK | 1 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K- | Ccee |
| 17 | 1 | WEAK | 1 | WEAK | 2 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K-Cw- | Ccee |
| 18 | 2 | WEAK | 3 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 0 | 4 | 4 | 4 | 0 | C-c+E+e+, K-Cw- | ccEe |
| 19 | 2 | WEAK | 1 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 4 | 0 | 0 | 4 | 0 | C+c-E-e+, K-Cw- | CCee |
| 20 | 3 | WEAK | 3 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K-Cw- | Ccee |
| 21 | 4 | WEAK | 4 | WEAK | 4 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+ K- | Ccee |
| 22 | 3 | WEAK | 3 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 0 | 4 | 4 | 4 | 0 | C-c+E+e+, K- | ccEe |
| 23 | 3 | WEAK | 2 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 0 | 4 | | | | C-c+E+e+, K- | ccEe |
| 24 | 3 | WEAK | 3 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 4 | 0 | 0 | 4 | 0 | C+c-E-e+, K- | CCee |
| 25 | 3 | WEAK | 2 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 0 | 4 | 4 | 4 | 4 | C-c+E+e+, K+ | ccEe |
| 26 | 3 | WEAK | 3 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 0 | 4 | 4 | 4 | 0 | C-c+E+e+, K- | ccEe |
| 27 | 3 | WEAK | 2 | WEAK | 3 | | NEGATİF | 0 | 4 | 4 | 0 | 0 | C-c+E+e+, K- | ccEe |
| 28 | 3 | WEAK | 2 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 0 | 4 | 4 | 4 | 0 | C-c+E+e+, K- | ccEe |
| 29 | 3 | WEAK | 3 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K- | Ccee |
| 30 | 2 | WEAK | 1 | WEAK | 2 | WEAK | NEGATİF | 0 | 4 | 4 | 4 | 0 | C-c+E+e+, K- | ccEe |
| 31 | 3 | WEAK | 3 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K- | Ccee |
| 32 | 4 | WEAK | 3 | WEAK | 4 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K- | Ccee |
| 33 | 3 | WEAK | 3 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K- | Ccee |
| 34 | 3 | WEAK | 3 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K- | Ccee |
| 35 | 0 | WEAK | 1 | WEAK | 1 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c-E+e+, K-Cw- | CCee |
| 36 | 3 | WEAK | 3 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 0 | 4 | 4 | 4 | 0 | C-c+E+e+, K-Cw- | ccEe |
| 37 | 3 | WEAK | 3 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 0 | 4 | 4 | 0 | 0 | C-c+E+e+, K+Cw- | ccEe |
| 38 | 3 | WEAK | 1 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 0 | 4 | 4 | 4 | 0 | C-c+E+e+, K- | ccEe |
| 39 | 1 | WEAK | 4 | WEAK | 4 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K-Cw- | Ccee |
| 40 | 4 | WEAK | 4 | WEAK | 4 | WEAK | NEGATİF | 0 | 0 | 4 | 4 | 0 | C-c+E+e+, K- | ccEe |
| 41 | 3 | WEAK | 2 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 0 | 4 | 4 | 4 | 0 | C-c+E+e+, K- | ccEe |
| 42 | 3 | WEAK | 3 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K-Cw- | Ccee |
| 43 | 4 | WEAK | 3 | WEAK | 4 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K-Cw- | Ccee |
| 44 | 3 | WEAK | 3 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 0 | 4 | 4 | 0 | 0 | C-c+E+e+, K-Cw- | ccEE |
| 45 | 3 | WEAK | 2 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K-Cw- | Ccee |
| 46 | 3 | WEAK | 2 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 0 | 4 | 4 | 4 | 0 | C-c+E+e+, K- | ccEe |

| no | İNDİREKT ZAYIF D TESTİ | | | | | | Direkt Coombs | RH ALTGRUP | | | | | | |
|----|------------------------|------|-----------|------|-----------|------|------------------|------------|----------------|---|---|------|-----------------|---------|
| | ANTİKOR 6 | | ANTİKOR 4 | | ANTİKOR 5 | | | C | Kü çük C | E | e | Kell | rh altgrup | C/c E/e |
| | RX | | RX | | RX | | | | | | | | | |
| 47 | 2 | WEAK | 1 | WEAK | 1 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K- | Ccee |
| 48 | 4 | WEAK | 3 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 4 | 0 | 0 | 4 | 0 | C+c-E-e+, K- | CCee |
| 49 | 4 | WEAK | 4 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K-Cw- | Ccee |
| 50 | 4 | WEAK | 3 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K+ | Ccee |
| 51 | 4 | WEAK | 3 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 0 | 4 | 4 | 4 | 0 | C-c+E+e+, K- | ccEe |
| 52 | 4 | WEAK | 4 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K- | Ccee |
| 53 | 4 | WEAK | 3 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K- | Ccee |
| 54 | 4 | WEAK | 3 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K- | Ccee |
| 55 | 4 | WEAK | 4 | WEAK | 4 | WEAK | NEGATİF | 0 | 4 | 4 | 4 | 0 | C-c+E+e+, K- | ccEe |
| 56 | 3 | WEAK | 2 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 0 | 4 | 4 | 0 | 0 | C-c+E+e+, K-Cw- | ccEe |
| 57 | 3 | WEAK | 1 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 0 | 4 | 0 | 4 | 0 | C-c+E+e+, K-Cw- | ccEe |
| 58 | 4 | WEAK | 3 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 4 | 0 | 0 | 4 | 0 | C+c-E-e+, K-Cw- | CCee |
| 59 | 3 | WEAK | 3 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K-Cw- | Ccee |
| 60 | 3 | WEAK | 3 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K-Cw- | Ccee |
| 61 | 3 | WEAK | 3 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K-Cw- | Ccee |
| 62 | 3 | WEAK | 3 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 0 | 4 | 0 | 4 | 0 | C-c+E+e+, K-Cw- | ccEE |
| 63 | 3 | WEAK | 3 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 0 | 4 | 4 | 0 | 0 | C-c+E+e+, K-Cw- | ccEe |
| 64 | 4 | WEAK | 3 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K-Cw- | Ccee |
| 65 | 4 | WEAK | 3 | WEAK | 3 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K-Cw- | Ccee |
| 66 | 4 | WEAK | 4 | WEAK | 4 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K-Cw- | Ccee |
| 67 | 4 | WEAK | 4 | WEAK | 4 | WEAK | NEGATİF | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | C+c+E-e+, K-Cw- | Ccee |

| no | PZR TESTİ | |
|----|--------------|----------|
| | VARYANT TİPİ | |
| | GENOTİP | W/P |
| 1 | W11 | WEAK |
| 2 | W11 | WEAK |
| 3 | W5 | WEAK |
| 4 | W11 | WEAK |
| 5 | DFR | PARSİYEL |
| 6 | DFR | PARSİYEL |
| 7 | W11 | WEAK |
| 8 | W11 | WEAK |
| 9 | W11 | WEAK |
| 10 | W1 | WEAK |
| 11 | W3 | WEAK |
| 12 | W15 | WEAK |
| 13 | W11 | WEAK |
| 14 | W15 | WEAK |
| 15 | W1 | WEAK |
| 16 | UNKNOWN | UNKNOWN |
| 17 | W11 | WEAK |
| 18 | W15 | WEAK |
| 19 | DFR | PARSİYEL |
| 20 | W1 | WEAK |
| 21 | W3 | WEAK |
| 22 | W15 | WEAK |
| 23 | W15 | WEAK |
| 24 | W1 | WEAK |
| 25 | W15 | WEAK |
| 26 | W15 | WEAK |
| 27 | W15 | WEAK |
| 28 | W15 | WEAK |
| 29 | DFR | PARSİYEL |
| 30 | W15 | WEAK |
| 31 | W1 | WEAK |
| 32 | Dva | PARSİYEL |
| 33 | UNKNOWN | UNKNOWN |
| 34 | DFR | PARSİYEL |
| 35 | W11 | WEAK |
| 36 | W15 | WEAK |
| 37 | W15 | WEAK |
| 38 | W15 | WEAK |
| 39 | Dva | PARSİYEL |
| 40 | DFR | PARSİYEL |
| 41 | W15 | WEAK |
| 42 | W2 | WEAK |
| 43 | W1 | WEAK |
| 44 | W15 | WEAK |
| 45 | W2 | WEAK |
| 46 | W15 | WEAK |
| | | |

| no | PZR TESTİ | |
|----|--------------|----------|
| | VARYANT TİPİ | |
| | GENOTİP | W/P |
| 47 | W11 | WEAK |
| 48 | W2 | WEAK |
| 49 | W2 | WEAK |
| 50 | W2 | WEAK |
| 51 | UNKNOWN | UNKNOWN |
| 52 | DFR | PARSİYEL |
| 53 | W1 | WEAK |
| 54 | W1 | WEAK |
| 55 | W2 | WEAK |
| 56 | W15 | WEAK |
| 57 | UNKNOWN | UNKNOWN |
| 58 | UNKNOWN | UNKNOWN |
| 59 | UNKNOWN | UNKNOWN |
| 60 | DFR | PARSİYEL |
| 61 | DFR | PARSİYEL |
| 62 | DAU | PARSİYEL |
| 63 | W15 | WEAK |
| 64 | W1 | WEAK |
| 65 | DFR | PARSİYEL |
| 66 | DVa | PARSİYEL |
| 67 | DVI TİP3 | PARSİYEL |

ETİK KURUL KARARI

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



Sayı : 2022

Tarih : 08.12.2011

Konu : Prof. Dr. Fatma SAVRAN OĞUZ hk,

Sayın Prof. Dr. Fatma SAVRAN OĞUZ
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Öğretim Görevlisi

İlgi : Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalının 24/11/2011 gün ve 574 sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz 2011/1906-825 dosya numaralı "Kan merkezine başvuran bağışçılarda RhD genotiplerinin dağılımı" başlıklı çalışma kurulumuzun 30.11.2011 tarihli 06 sayılı toplantısında etik yönden incelenmiş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.
Bilgilerinize rica ederim.

Prof.Dr. A. Yağız ÜRESİN
İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar
Etik Kurul Başkanı

Eki: Tutanak

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

| DEĞERLENDİRİLEN BELGELER | Belge Adı | Tarihi | Versiyon Numarası | Dili |
|--------------------------------|---|-------------------------------------|---|---|
| | | ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ | 06.10.2011 | |
| | BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU | <input type="checkbox"/> | | Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/> |
| | OLGU RAPOR FORMU | <input type="checkbox"/> | | Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/> |
| | ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ | <input type="checkbox"/> | | Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/> |
| DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER | Belge Adı | <input type="checkbox"/> | | Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/> |
| | TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ | <input type="checkbox"/> | | Açıklama |
| | SIGORTA | <input type="checkbox"/> | | |
| | ARAŞTIRMA BÜTÇESİ | <input checked="" type="checkbox"/> | | |
| | BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU | <input type="checkbox"/> | | |
| | HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ | <input type="checkbox"/> | | |
| | ILAN | <input type="checkbox"/> | | |
| | YILLIK BİLDİRİM | <input type="checkbox"/> | | |
| | SONUÇ RAPORU | <input type="checkbox"/> | | |
| | GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ | <input type="checkbox"/> | | |
| DİĞER: | <input checked="" type="checkbox"/> | | Anabilim Dalı Başkanlığından Üst Yazı ve Akademik Kurul Kararı, Literatür Kaynağı, Sorumluluk Paylaşım Belgesi, Olgu Rapor Formu, İlgili Elemanların Bilgilendirildiğine Dair Belge, CV, CD | |
| KARAR BİLGİLERİ | Karar No:06 | Tarih: 30/11/2011 | | |
| | İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında görevli Prof. Dr. Fatma SAVRAN OĞUZ'un sorumluluğunda yürütecek yukarıda bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gereke, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. | | | |

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

| ÇALIŞMA ESASI | | 19.08.2011 tarihli, 28030 sayılı Resmî Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik | | | | | | | |
|---------------------------------|-----------------------------------|--|---------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|-------------|
| BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI: | | Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN | | | | | | | |
| Unvanı/Adı/Soyadı | Uzmanlık Alanı | Kurumu | Cinsiyet | | Araştırma ile ilişki * | | Katılım ** | İmza | |
| Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN | Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji | İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı) | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | |
| Prof. Dr. Berrin UMMAN | Kardiyoloji | İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı) | E <input type="checkbox"/> | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | |
| Prof. Dr. Ahmet GÜL | Romatoloji | İstanbul Tıp Fakültesi | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | |
| Prof. Dr. Rukiye EKER ÖMEROĞLU | Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları | İstanbul Tıp Fakültesi | E <input type="checkbox"/> | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | |
| Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN | Nöroloji | İstanbul Tıp Fakültesi | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | |
| Prof. Dr. Pınar SAİP | Onkoloji | İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü | E <input type="checkbox"/> | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | |
| Dr. Muhtar ÇOKAR | Deontolog | İstanbul İnsan Kaynağını Geliştirme Vakfı | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | |
| Prof. Dr. Ayşen BULUT | Halk Sağlığı | Emekli | E <input type="checkbox"/> | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | |
| Doç. Dr. Tufan TÜKEK | İç Hastalıkları | Okmeydanı Eğitim ve Araş. Hast. İç Hast. T. Dahiliye Kliniği | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | |
| Prof. Dr. Ünal KUZGUN | Ortopedi | Şişli Etfal E. ve Arş. Hst | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | |
| Prof. Dr. Ahmet O. ARAMAN | Eczacılık | İ.Ü. Eczacılık Fakültesi | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | |
| Av. Dilek TEMİZ ÖZBEK | Hukukçu | İstanbul Üniversitesi | E <input type="checkbox"/> | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | |
| Prof. Dr. Demir TIRYAKI | Biyofizik | Emekli | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | T.KATILMADI |
| M. Kerim AKMAN | İİBF İktisat bölümü | Özel (Ekonomist) | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | T.KATILMADI |
| Dr. Sevdâ ÖZEL | Biyostatistik | İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Biyoistatistik | E <input type="checkbox"/> | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | |

* :Araştırma ile ilişki
** :Toplantıda Bulunma

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

KAN MERKEZİNE BAŞVURAN BAĞIŞÇILARDA RHD GENOTİPLERİNİN DAĞILIMI

ORJİNALLİK RAPORU

| | | | |
|-------------------|------------------------|------------|------------------|
| % 5 | % 4 | % 3 | % 1 |
| BENZERLİK ENDEKSİ | İNTERNET KAYNAKLARI | YAYINLAR | ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ |

BİRİNCİL KAYNAKLAR

| | | |
|----------|---|-------------|
| 1 | www.diamed.com.tr İnternet Kaynağı | % 1 |
| 2 | Submitted to Adnan Menderes Üniversitesi Öğrenci Ödevi | <% 1 |
| 3 | Daniels, Geoff. "Variants of RhD - current testing and clinical consequences", British Journal of Haematology, 2013. Yayın | <% 1 |
| 4 | www.slideshare.net İnternet Kaynağı | <% 1 |
| 5 | tphd.org.tr İnternet Kaynağı | <% 1 |
| 6 | Daniels. "Rh Blood Group System", Human Blood Groups, 05/05/2002 Yayın | <% 1 |
| 7 | Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi | <% 1 |