



**T.C.  
MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**MERSİN YÖRESİNDE KIR GENLERİ FREKANSLARININ  
BELİRLENMESİ**

**Dr. Özlem GÖRÜROĞLU ÖZTÜRK  
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Gürbüz POLAT**

**MERSİN-2008**



**T.C.  
MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**MERSİN YÖRESİNDE KIR GENLERİ FREKANSLARININ  
BELİRLENMESİ**

**Dr. Özlem GÖRÜROĞLU ÖZTÜRK  
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Gürbüz POLAT**

**Bu Tez BAP-TF-TB(ÖGÖ) 2008-3TU Kodlu Proje Olarak Mersin  
Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından  
Desteklenmiştir.**

**MERSİN-2008**

**“Yola çıkacak kişinin aşması gereken  
ilk ve en önemli engel,  
kendi yerleşikliğidir :  
kendi yeri  
— kendisidir... “**

Oruç Aruoba

Yola çıkmaya heveslendiğim ilk günden beri, beni hep destekleyen,  
yüreklendiren, emek veren, heyecanımı ve tedirginliğimi paylaşan **hocalarıma,**  
yaşamıma bir şekilde giren, hala içinde olan, ol(a)mayan tüm **güzel insanlara,**  
yapılarıyla yükselten **ustalara,**  
ve sesleri güven, sesleri mutluluk, sesleri umut ve emek olan,  
varlık sebebim **anneme, babama ve eşime;**

bana öğrettikleri, benimle paylaştıkları, bana verdikleri, benden aldıkları,  
ve en önemlisi kendi yerleşikliğimi aşırp yola çıkabilmemi sağladıkları için  
-ve her şey için-  
tüm ‘anlar’ için, **sonsuz teşekkürler...**

## İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET .....	5
İNGİLİZCE ÖZET .....	6
GİRİŞ VE AMAÇ.....	7
GENEL BİLGİLER .....	9
Bağışıklık Sisteminin Genel Özellikleri.....	9
Doğal İmmünite .....	9
Doğal İmmün Sistem Elemanlarının Aktivasyonu.....	9
Kazanılmış İmmünite.....	13
Hümmoral immünite.....	14
Hüresel İmmünite.....	16
Büyük Doku Uyuşum Kompleksi.....	17
MHC Sınıf I Molekülleri.....	19
Doğal Öldürücü (Natural Killer, NK) hücreler.....	20
NK Hücrelerinin Yüzey Reseptörleri.....	23
NK Hücrelerinin Uyarılması.....	26
KIR'ların yapısı.....	27
KIR'ların Adlandırılması.....	28
KIR Ligandları.....	29
KIR Genleri.....	31
KIR Genlerinin Allelik polimorfizmi.....	32
KIR Genlerinin Dizilimi ve Haplotipik Değişkenlik.....	33
Bağlantı Dengesizliği.....	36
KIR Gen Dizileri.....	36
KIR Genlerinin Ekzon ve İntron Yapıları.....	37
KIR Ekspresyonu ve KIR Repertuarının Devamlılığı.....	37
KIR'ların Transplantasyondaki Önemi.....	38
KIR ve Hematopoetik Kök Hücre Transplantasyonu.....	38
KIR ve Solid Organ Transplantasyonu.....	39
KIR'ların Hastalıklardaki Rollerini.....	40

KIR ve İnfeksiyon Hastalıkları.....	41
Viral Enfeksiyonlar.....	41
HIV.....	41
Hepatit C Virüsü (HCV).....	42
Sitomegalovirus (CMV).....	42
KIR ve Gebelik.....	43
KIR ve Otoimmün Hastalıklar.....	44
Romatoid Artrit.....	44
Tip I Diabetes Mellitus.....	44
Psoriasis Vulgaris.....	44
Behçet Hastalığı.....	45
Hematolojik Hastalıklar.....	45
Büyük Granüler Lenfositik Lösemi (LGL).....	45
Kutanöz T Hücreli Lenfoma.....	46
Akut Myeloid Lösemi (AML).....	46
Solid Tümörler.....	46
Populasyon Genetiği.....	47
Populasyonlarda Hardy-Weinberg Dengesi.....	48
Populasyonlarda Gen Sıklığını Değistirmeye Yönelik Etkenler.....	48
Mutasyon.....	49
Seleksiyon.....	49
Gen akımı.....	49
İzolasyon (Ayrılma).....	49
Rastgele Olmayan Evlilikler.....	49
Farklı Populasyonlarda KIR Gen Frekansları.....	50
Türk Toplumunda KIR Gen Frekansları.....	54
<b>GEREÇ VE YÖNTEMLER.....</b>	<b>56</b>
Mersin İlinde Yaşayan Populasyonu Etkileyen Etkenler ve Populasyon Taramasına Uygun Örnek Seçimi .....	56
Araç ve Gereç.....	58
Yöntemler.....	59
KIR Moleküllerinin Tiplendirilmesi.....	59
Tam Kandan DNA Eldesi.....	59

Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	61
SSO Yöntemiyle KIR Allel Tiplendirilmesi.....	61
DNA Amplifikasyon (PCR) ve Hibridizasyon Prosedürleri.....	63
DNA Amplifikasyon (PCR) Prosedürü.....	63
Hibridizasyon Prosedürü.....	64
Veri Analizi ve İstatistiksel Yöntemler.....	66
A ve B KIR Haplotiplerinin saptanması.....	66
İstatistiksel Metodlar.....	66
<b>BULGULAR.....</b>	<b>67</b>
Olguların Genel Özellikleri.....	67
KIR Gen Frekansları.....	67
KIR Genotip Frekansları.....	68
AA Genotipli Bireylerde KIR2DS4'ün Allelik Formlarının Frekansları.....	71
Haplotip Frekansları.....	72
Mersin Merkez ile Civar Yerleşimlerinin KIR Gen Frekansları Açısından Karşılaştırılması.....	72
Mersin Merkez ile Civar Yerleşimlerinin KIR Genotip Frekansları Açısından Karşılaştırılması.....	73
Göçten Etkilenmeyen Bölgeler ile Göç Alan Bölgelerin KIR Gen Frekansları Açısından Karşılaştırılması.....	73
Mersin ile İstanbul Populasyonlarının KIR Gen Frekansları Açısından Karşılaştırılması.....	74
Mersin ile İstanbul Populasyonlarının KIR Genotipleri Açısından Karşılaştırılması.....	75
Mersin Populasyonunun KIR Gen Frekanslarının Diğer Dünya Populasyonlarıyla Karşılaştırılması.....	76
Mersin Populasyonundaki Kadınlardan Spontan Abortus	

<b>Öyküsü Olanlarla Olmayanların KIR gen frekansları açısından karşılaştırılması.....</b>	<b>79</b>
<b>Mersin Populasyonunda Kanser Öyküsü Olanlarla Olmayanların KIR gen frekansları açısından karşılaştırılması... 79</b>	<b>79</b>
<b>TARTIŞMA.....</b>	<b>81</b>
<b>SONUÇ ve ÖNERİLER.....</b>	<b>90</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>93</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....</b>	<b>105</b>
<b>ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ.....</b>	<b>108</b>
<b>TABLolar DİZİNİ.....</b>	<b>110</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>112</b>

## ÖZET

KIR genlerinin özellikle transplantasyon reddi ve hastalıklarla ilişkisini gösteren çalışmaların sayısının artmasıyla birlikte tüm toplumlarda KIR genleri, genotipleri ve allellerinin belirlenmesine yönelik populasyon taramaları yapılmaya başlanmıştır. Ülkemizde KIR genleri ve genotiplerinin belirlenmesine yönelik araştırma bulunmaması nedeniyle planladığımız bu çalışmada, Mersin'de toplum taraması yapılarak KIR gen frekanslarının, haplotip ve genotip oranlarının değerlendirilmesi, bu oranların diğer populasyonlarla karşılaştırılarak bölgemizin genotip yapısının ortaya konulması amaçlanmıştır.

Çalışma grubu olarak Mersin yöresinde populasyon taramasına uygun 200 kişiden örnek toplanmıştır. KIR tiplendirmesi SSOP yöntemi ile yapılmıştır (Luminex100, Tepnel Lifecodes). Bu yöntem; işaretli tek sarmallı PCR ürünlerinin SSO problemlerine hibridizasyonuna dayanmaktadır.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre Mersin'deki KIR gen frekansları yüksek değişkenlik göstermektedir. 200 bireyde 40 farklı genotip saptanmış ve en sık gözlenen genotipin AA1 genotipi olduğu görülmüştür (% 27). Elde ettiğimiz 40 farklı genotipten 10'u bilgi bankasında daha önce gösterilmemiş olup ilk defa bu çalışmada gösterilmiştir. Mersin'in göç alan bölgelerinde yaşayan populasyonda B grubu KIR haplotipinin karakteristik genlerinden olan 2DS2 ve 2DS3 aktivatör genlerinin frekansı yüksek olarak gözlenmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlarla coğrafi olarak bölgemize yakın olan ve üçüncü göç dalgasından etkilenen Ortadoğu ve Avrupa ülkeleriyle KIR genleri açısından benzer özelliklerin bulunduğu söylenebilir.

Bu sonuçlar, Mersin populasyonunda KIR genomunda görülen yüksek değişkenliğin sebebinin tarih boyunca pek çok uygarlığın bu bölgeyi yerleşim alanı olarak seçmesi ve buna bağlı olarak oluşan heterojenite sonucu ortaya çıktığını düşündürmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Gen frekansı, KIR, Populasyon genetiği, SSOP,



## ABSTRACT

### Determination of KIR gene Frequencies in Mersin District

Due to increasing number of studies on KIR genes showing its relationship with diseases and effects on transplantation rejection, population researches have been increasingly carried on in the last few years in order to determine its genotypes and alleles. This study was planned due to absence of any data on KIR genes and genotypes in our country. So we aimed to evaluate KIR gene frequencies, determination of ratios of haplotypes and genotypes by a population study in Mersin district.

The study group consisted of 200 subjects convenient for a population study in Mersin district. KIR typing of these subjects were evaluated by SSOP (Luminex100, Tepnel Lifecodes). This method is based on hybridization of tagged and single stranded PCR to SSO probes.

Our results showed that KIR gene frequencies in Mersin district are highly variable. 40 different genotypes were found in 200 subjects and AA1 genotype was the most frequent (27%). Among 40 different genotypes we attained in this study, 10 of these do not exist in the database and are described for the first time in this study. Frequency of 2DS2 and 2DS3 activator genes which are the characteristic genes of B group KIR haplotype were seen to be high in the regions where immigrants predominate in Mersin district. According to our results, it is likely that similarities exist in KIR genes between our region and Middle East and European countries which are all affected from the third migration wave.

As a conclusion, high variability seen in KIR genome in Mersin population is thought to be formed as a result of migration and settlement of different civilizations in this region and heterogeneity formed in time.

**Key words:** Gene frequency, KIR, Population genetics, SSOP

## GİRİŞ VE AMAÇ

Natural Killer (NK) hücreleri kemik iliğinden kaynaklanan büyük granüllü lenfositler olup doğal immünitenin en önemli hücreleridir. Yabancı antijenlere karşı ilk basamak savunmada görev alırlar. NK hücreleri, enfekte olmuş ya da malign transformasyona uğramış hücreleri, hücre aracılı sitotoksikite ve antikor aracılı hücrel sitotoksikite ile lizise uğratabilirler. NK hücre reseptörleri, hedef hücre ligandları ile etkileşerek kendinden olmayanı tanır. NK hücrelerinin vereceği sitotoksik yanıt, yüzeylerinde bulunan aktivatör veya inhibitör reseptörlerden kaynaklanan sinyaller arasındaki denge ile kontrol edilir. Bu reseptör gruplarından biri de KIR (Katil immünglobulin benzeri reseptörler) reseptörleridir. KIR'lar immün yanıt oluşumunda, NK hücrelerinde ve CD8 sitotoksik T lenfositlerde bulunan ve bu hücrelerin fonksiyonlarını "reseptör-ligand" ilişkisiyle düzenleyen moleküllerdir. KIR reseptörleri kendinden olan hücreleri insan lökosit antijenleri (human leukocyte antigens, HLA) sınıf I molekülleri ile tanırken yabancı hücreleri bu moleküllerin olmaması ile ayırt eder<sup>1,2</sup>.

KIR molekülleri 19. kromozomda 19q13.4 de bulunan LRC (Leukocyte receptor complex) bölgesinden kodlanan glikoproteinlerdir<sup>3, 4</sup>. KIR'lar yapılarına göre iki alt aile olarak sınıflanmaktadır. Sınıflama bu moleküllerin sahip olduğu immünoglobulin alt ünitelerinin sayısına göre yapılmaktadır. KIR2D iki, KIR3D ise üç adet immünoglobulin alt ünitesine sahiptir<sup>5</sup>. Üç alt üniteli KIR'ların insan lökosit antijenlerinden spesifik olarak HLA A ve HLA B antijenlerini tanıdığı, iki alt üniteli KIR'ların ise HLA C antijenlerini tanıdığı gösterilmiştir<sup>6</sup>.

KIR genleri yüksek polimorfizm göstermektedirler. Bu allelik polimorfizm, hangi yabancı antijene karşı hangi KIR geninin eksprese olacağını, reseptörün ligand afinitesini, ve dolayısıyla NK hücrelerinin immün fonksiyonunu belirler<sup>7</sup>. Farklı populasyonlar, farklı KIR genleri, allelleri ve genotipleri taşımaktadırlar. KIR lokuslarının sayısı bireyden bireye değişkenlik göstermektedir. KIR genlerinin göstermiş olduğu yüksek polimorfizmden dolayı, rastgele seçilmiş iki kişide aynı KIR genotipine rastlama olasılığı çok düşüktür<sup>8</sup>. Transplantasyon genetiği ile uğraşanlar, akraba dışı kemik iliği nakillerinde alıcı ve verici arasındaki KIR uyumunun önemini ortaya koymuş ve özellikle hematopoetik kök hücre nakillerinde KIR gen polimorfizminin, MHC gen polimorfizmi kadar önemli

olduğunu bildirmişlerdir<sup>9,10</sup>. Ayrıca bu genlerin solid organ transplantasyonlarında da önemini gösteren çalışmalar bildirilmiştir<sup>11,12,13</sup>.

KIR genlerinin karakterizasyonlarının ve haplotiplerinin tanımlanması çok yeni olduğu için bu genlerinin spesifik hastalıklarla ilişkisini gösteren kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır. KIR reseptörlerinin hastalık bağlantısını gösteren genetik çalışmalarda, viral enfeksiyonlar (HIV, Hepatit C, CMV) başı çekmektedir. Bundan başka, MHC ile otoimmün hastalık (romatoid artrit, Psöriasis, Diabet) bağlantısı, spesifik KIR'ların bu hastalık gruplarıyla da ilişkide olabileceğini düşündürmektedir. KIR'ların ayrıca gebelik ve hematolojik hastalıklar (büyük granüler lenfositik lösemi, kutanöz T hücre lenfoması, akut myeloid lösemi), solid tümörler (özellikle viral enfeksiyonlar ile ilişkili tümörler, servikal neoplazi, hepatosellüler karsinom) gibi pek çok hastalıkla ilişkisi bildirilmiştir<sup>13</sup>. Bu sonuç KIR genlerinin bu hastalıklarda potansiyel terapötik ajanlar olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Günümüzde KIR genlerinin özellikle transplantasyon reddi ve hastalıklarla ilişkisini gösteren çalışmaların sayısının artmasıyla birlikte tüm toplumlarda KIR genleri, genotipleri ve allellerinin belirlenmesine yönelik popülasyon taramaları yapılmaya başlanmış ve bu çalışmalar, 2003 yılında HLA için hazırlanmış olan bilgi bankasına eklenilerek bir araya getirilmiştir<sup>14</sup>.

Ülkemizde KIR genleri ve genotiplerinin belirlenmesine yönelik araştırma bulunmaması nedeniyle planladığımız bu çalışmada, Mersin yöresinde toplum taraması yapılarak KIR gen frekanslarının, haplotip ve genotip oranlarının değerlendirilmesi, bu oranların diğer popülasyonlarla karşılaştırılarak bölgemizin genotip yapısının ortaya konulması, yeni genotiplerin ortaya çıkarılması ve elde edilen verilerin bilgi bankasına eklenerek bilime katkı sağlanması amaçlanmıştır.

## GENEL BİLGİLER

### Bağışıklık Sisteminin Genel Özellikleri

İmmün sistem, vücutta savunma, homeostaz ve canlılığın devamını sağlayan milyonlarca hücre ve sinyal moleküllerinden oluşan bir sistemdir. Zararlı bir etkenin saldırısına karşı organizmada oluşan direnç ve bağışıklık immün sistem tarafından sağlanmaktadır. Bu sistem fiziksel bariyerler, doğal immünite ve kazanılmış immünite tarafından oluşturulan savunma mekanizmalarını içermektedir. Vücutta, immün sistemin ana fizyolojik işlevi yabancı patojenler ile karşılaşıldığında karşılıklı ve düzenli etkileşimler ile bir yanıt ortaya çıkarmaktır. Ortaya çıkan bu yanıtı “immün yanıt” adı verilir. İmmün sistem, farklı işlevlere sahip iki ayrı kısımda incelenir<sup>15, 16, 17</sup>.

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

### Doğal İmmünite

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

Doğal immün sistemin hücresel bileşenleri, dendritik hücreler, monositler, makrofajlar, granülositler ve doğal öldürücü hücreler ile deri, akciğer ve bağırsak epitel hücreleri gibi mikroorganizmalara karşı yüzey alanı oluşturan hücreleri içerir. Doğal bağışıklığın hücre-dışı bileşenleri ise basit bariyer işlevleri, kompleman şelalesi (kaskadı) gibi karmaşık yollar, epitel yüzeylerdeki antimikrobiyal maddeler (ör, defensinler, kriptosidinler) gibi yapıları içerir<sup>17,18</sup>.

### Doğal İmmün Sistem Elemanlarının Aktivasyonu

Doğal immün sistem elemanları benzer mikroorganizmaların iyi korunmuş ortak bazı yapıları ile aktifleşirler. Bu yapılar “patojen ile ilişkili moleküler yapılar” (pathogen associated molecular patterns, PAMP) olarak adlandırılmaktadır. PAMP'lar birbirinden çok farklı olmakla birlikte lipopolisakkaritleri, aldehid-kaynaklı proteinleri, mannanları, teikoik asitleri, denatüre DNA'yı ve bakteriyal DNA'yı içerir<sup>15, 17, 18</sup>. Bu moleküler biçimleri

tanıyan doğal bağışıklık elemanlarına da "yapıları tanıyan reseptörler" (pattern recognition receptors) denir. Bu reseptörlerin hangi yapıları tanıyabileceği genetik olarak önceden belirlenmiştir. Bu reseptörler salgılananlar, endositik olanlar ve sinyal verenler olmak üzere üç grupta incelenirler. Bunların çoğu makrofajlar, dendritik hücreler ve B lenfositler gibi antijen sunan hücrelerin yüzeyinde bulunurlar <sup>17</sup>.

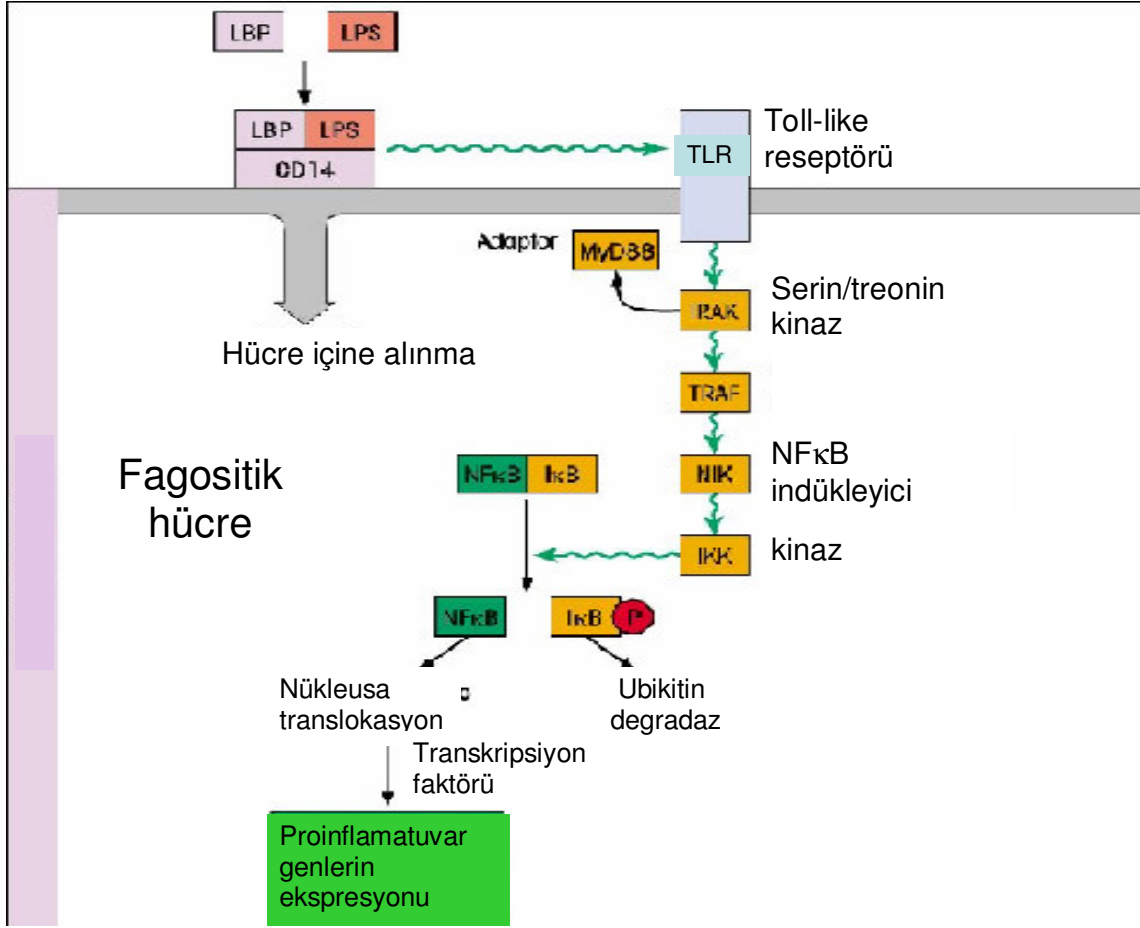
Yapıları tanıyan reseptörlerden bir tanesi Toll-like reseptörlerdir (TLR). Bu reseptörler, hem doğal bağışıklık hücrelerinde, hem de endotel, epitel hücrelerinde ve fibroblastlarda eksprese olmaktadır. Patojen reseptörlerin önemli bir grubunu oluştururlar. İnsanlarda 10 farklı TLR ailesi tanımlanmıştır. TLR'nin mikrobiyal kaynaklı ligandlarına bağlanması ile birlikte, fagositler aktifleşmekte ve patojenlerin direk olarak öldürülmesi sağlanmaktadır (Tablo1, Şekil 1). Bunlara ek olarak, bu reseptörler tanıdıkları yapılarla karşılaştıklarında antijen sunucu hücrelerin yüzeyinde CD80 ve CD86 gibi kostimülatör molekül ekspresyonunu ve başlıca interlökin (IL-1, IL-6 ve IL-12) ve bazı inflamatuvar sitokinleri kodlayan genler olmak üzere bir takım immün yanıt genlerinin ekspresyonunu uyarırlar (Tablo 1). Bu inflamatuvar moleküller, dendritik hücreleri aktiveştirerek, kazanılmış immün yanıtın başlamasına yol açar. Ligandların TLR ye bağlanması ile birlikte nükleer faktör-kB (NF-kB) sinyal yolağı aktifleşir. Bu sinyal yolağı inflamasyonu tetikler <sup>17, 18, 19</sup>.

**Tablo 1:** Patojen ile ilişkili moleküler yapıların Toll-Like reseptörler ile tanınması ve transkripsiyon faktörlerinin indüklenmesiyle fagositozun başlatılması <sup>17</sup>.

TLR — Tanır —> PAMP — Üretir —> Transkripsyon — İndükler —> Efektör Moleküller			
Hücre Yüzeği		Faktörleri	
TLR1	Gram + peptidoglikan		
TLR1/TLR2	Lipoproteinler	IRF5	İnflamatuvar sitokinler
TLR2/TLR6	Mycobakterial lipoarabinomannan	NFκB	
	Maya zimosan		
TLR4	Gram (-) LPS	IRF3	IFN β
		NFκB	İnflamatuvar sitokinler
		IRF5	
TLR5	Flajellin	NFκB	İnflamatuvar sitokinler
		IRF5	
TLR10	bilinmeyen	NFκB	İnflamatuvar sitokinler
<b>endozomal</b>			
TLR3	Viral RNA	IRF3	IFN β
		NFκB	
TLR7/TLR8	Viral RNA	IRF7	IFN α
	Antiviral ilaçlar		
TLR9	Bakteriyal ve viral CpG DNA	NFκB	
	Malariyal hemozin	IRF5	İnflamatuvar sitokinler

TLR'ye ek olarak diğer bazı inflamasyonla ilişkili doku faktörleri de fagosit ve dendritik hücre aktivasyonunu sağlayan sinyallere yol açabilirler<sup>18</sup>. Bu faktörler ısı şok proteinleri, lektinler, sitokinler, kemokinler, ekstrasellüler matriks komponentleri ve diğer bazı hücre yüzey molekülleridir. Bu sinyaller fagosit aktivasyonuna yol açarak endositoza uğramış patojenlerin yıkımını sağlar. Dendritik hücrelerin aktivasyonu kazanılmış immün yanıtın başlamasını sağlar.

Anti-mikrobiyal proteinler ve peptidler de doğal immün sistemin bir bileşenidir. Bu moleküller lizozim ve katepsin G gibi büyük proteinler, defensin ve katelisin gibi daha küçük anti-mikrobiyal peptidlerle dermisidin ve psoriasin gibi cilt anti-mikrobiyallerini içerir <sup>15, 17,18</sup>.



**Şekil 1:** Fagositik hücrelerin Toll-like reseptörler aracılığı ile aktivasyonu <sup>15</sup>.

Farklı mikroorganizmalarda hedef moleküller farklı yapılar taşımakta ve doğal bağışıklık sadece farklı sınıf mikroorganizmaları ayırabilmektedir. Bunun sonucu olarak doğal bağışıklığın çeşitliliği sınırlıdır, hafızası yoktur. Buna karşılık “yapıları tanıyan reseptörleri” taşıyan hücrelerin efektör işlevlerini göstermek için çoğalmaları gerekmediğinden etkinliklerini çok çabuk gösterirler.

Doğal immün sistemin, kazanılmış immün sistem ile reseptör sayı ve çeşitliliği açısından karşılaştırıldığında çok daha sınırlı olduğu görülmektedir. Doğal immün sistem sınırlı sayıdaki reseptörleriyle mikroorganizmalara ait belirli yapıları tanıyıp kostimulatörler, sitokinler ve kemokinlerin yapımını indüklerler. Bu şekilde antijene özgül lenfositlerin uyarılmasını ve özgün immün yanıtın başlamasını sağlarlar. Böylece doğal immün sistem, bir şekilde kendinden olan ile olmayanı tanıyarak kendi organizmasına zarar vermediği gibi daha sonra gelişecek özgül immün yanıt tipinde de belirleyici olabilir <sup>15, 16, 20</sup>.

Doğal bağışıklığın reseptör veya moleküllerinde inaktivasyona yolaçan mutasyonlar organizmayı immün yetmezliklere götürürler. Bu yapıların sürekli aktif olmasını sağlayan mutasyonlar ise inflamatuvar reaksiyonları tetikleyerek allerjik ve otoimmün hastalıklara eğilim yaratabilir<sup>19</sup>.

Doğal bağışıklığın bir diğer elemanı ise NK hücrelerdir. Bu hücreler öldürücü işlevlerini göstermek için uyarılıp farklılaşma gerektirmediklerinden bu şekilde adlandırılmaktadır. Bu hücrelerin başlıca hedefleri kendi sınıf I Büyük doku uyum kompleksi (majör histokompatibilite kompleks, MHC) moleküllerini taşımayan antikora kaplı hücreler, virüslerle ya da bazı hücreiçi bakterilerle infekte hücreler, bazı malign hücreler ve transplant hücreleridir<sup>15</sup>.

NK hücrelerin hedef hücreyi öldürme kapasitesi hedef hücrenin taşıdığı kendine ait MHC sınıf I molekül miktarı ile ters orantılıdır. NK hücreleri, sınıf I MHC moleküllerini tanıyan inhibitör reseptörler taşıdıklarından sınıf I MHC molekülleri bulunan hücreler tarafından inhibe edilirler. NK hücrelerin işlevlerinden biri de virusla infekte hücreleri ve bazı tümör hücrelerini yok etmek ve IFN $\gamma$  salgılamaktır. Salgılanan IFN $\gamma$ , makrofajların fagosite ettikleri mikroorganizmaları yok etmelerine yardımcı olur<sup>17</sup>.

Aktif makrofajlardan salgılanan alfa ve beta interferon (sırasıyla IFN $\alpha$  ve IFN $\beta$ ), tümör nekrozis faktör alfa (TNF $\alpha$ ), IL-12 ve IL-15 gibi sitokinler de doğal bağışıklığın birer elemanı olarak işlev görürler. Doğal bağışıklığın erken ve lokal sonucu inflamatuvar yanıttır. Bu sayede lökositler infeksiyon ajanının bulunduğu yere ulaşip infeksiyonu ortadan kaldırmaya çalışır. İnflamasyonun bir diğer etkisi de bazı sistemik değişikliklere yol açarak doğal immün sistemin güçlenmesine katkıda bulunmaktır<sup>15, 18, 19</sup>.

### **Kazanılmış İmmünite**

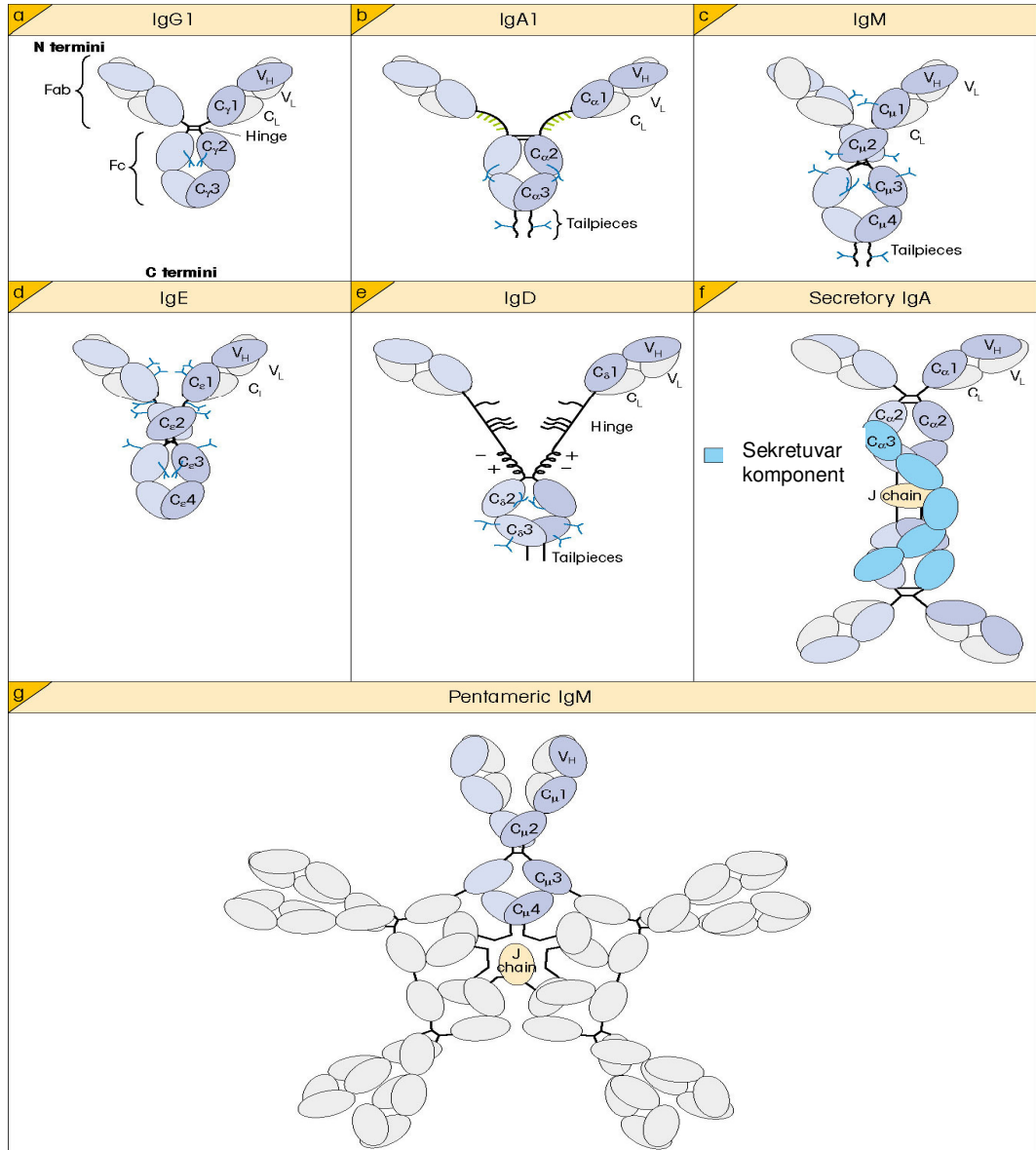
Bir yabancı etmenle karşılaşıldığında uyarılan ve sadece o antijene özgün olarak yanıt veren ve o antijenle bir kez daha karşılaşıldığında daha güçlü olarak yanıt verilmesini sağlayan sistemdir. Kazanılmış bağışıklığın başlıca elemanları T ve B lenfositler, antijen sunucu hücreler, antikolar ve bazı lenfokinlerdir. Kazanılmış immün yanıtlar doğal immün yanıtı takip eder. Kazanılmış bağışıklık, doğal bağışıklığın koruyucu mekanizmalarını güçlendirmektedir<sup>18</sup>. Özgül bağışıklık aktif ya da pasif bağışıklık olarak ikiye ayrılır. Organizmanın yabancı antijenle karşılaşıp aktif bir şekilde yanıt vererek geliştirdiği bağışıklığa "aktif bağışıklık" adı verilirken, özgül olarak bağışık bir



bireyden serum ya da hücrelerin bağışık olmayan bireye nakliyle geliştirilen bağışıklığa ise "pasif bağışıklık" denir. Kazanılmış immün yanıt sekonder lenfoid dokular olarak adlandırılan lenf nodları, dalak ve mukoza ile ilişkili lenfoid dokularda gelişir. Bu yanıtlar, yanıtı oluşturan immün sistem elemanlarına göre hümoral ve hücrel diye iki grupta incelenirler ve farklı mikroorganizmaların ortadan kaldırılmasında işlev görürler.

### **Hümoral İmmünite**

Hümoral bağışıklık B lenfositlerin reseptörlerine bağlanan antijenler tarafından başlatılmaktadır. Antijenin özgül olarak tanınmasını ve çeşitli yollarla ortadan kaldırılmasını sağlayan antikolar başlıca rolü oynar. Özgül antijeni ile karşılaşan B lenfositler plazma hücrelerine farklılaşarak antikor üretirler: bunlar immüoglobülinlerdir. B lenfositlerinin yüzeylerinde IgD ve IgM antikoları bulunmakta ve bunlar yüzey reseptörleri gibi davranmaktadırlar. Antijenin bağlanmasıyla birlikte hücre aktifleşmekte ve özgül B lenfositlere farklılaşmakta ve proliferasyon olmaktadır. Bu sırada yüzey IgD kaybolmakta ve özgül IgA, IgE, IgG ve IgM üretimi kapasitesi kazanılmaktadır (Şekil 2). Özgül antikor üretimi klonal proliferasyon ile oluşmaktadır. Bu çoğalma sırasında her bir alt grup uzun süreli özgül Ig üretimi için bellek hücre fenotipine dönmektedir <sup>21</sup>.



**Şekil 2:** Farklı immünglobulinlerin sabit ve değişken yapılarının şematik görünümü <sup>21</sup>.

Bu özgül antikorlar dolaşımdaki antijenlere bağlanarak ortadan kaldırılmalarını sağlarlar. Buna karşılık bu antikorlar hücre içi yerleşim gösteren mikroorganizmalara ulaşamazlar. Böyle durumlarda hücre sel bağışıklık devreye girerek mikroorganizmaların aktif makrofajlarca fagosite edilip, ortadan kaldırılmasını veya infekte hücrenin lizisini sağlar. Dolaşan antikorların her biri kendi özgül antijenine karşı düşük düzeyde bir koruma gösterir. Birey yüklü

miktarda antijen ile karşılaşır o antijene karşı özgül olan antikorun serum konsantrasyonu yükselir.

Antikor yanıtının dört fazı vardır. Latent faz olarak adlandırılan ilk kısım immünojenle ilk karşılaşmadan dolaşımında antikorların saptanmasına kadar geçen süredir. Bu süre insanlarda yaklaşık bir haftadır. Bu fazda yardımcı T lenfositler ve B hücre aktivasyonu gerçekleşmektedir. Bu fazı ekspanansiyel faz takip eder. Ekspanansiyel fazda dolaşan antikor miktarı hızla artar. Daha sonra antikor düzeyinin sabit kaldığı plato fazı gözlenir. Plato fazında antikor düzeyi sabit kalmasının sebebi antikor yapım hızı ile parçalanma hızının nisbeten eşit düzeylerde olmasıdır. Plato fazından sonra düşme fazı gelir. Bu fazda dolaşan antikor düzeyi giderek azalır. Bu da artık yeni plazma hücrelerinin oluşmadığının ve varolan plazma hücrelerinin de ölmekte ya da antikor yapımını kesmekte olduğunun bir göstergesidir. Bu olay immünojenin ortadan kaldırıldığına işaret eder. İmmün yanıt antijenik uyarının süresi ve immün yanıt katılan plazma hücrelerinin nisbeten kısa olan yaşam süreleri ile sınırlıdır. Aynı immünojenle daha sonraki karşılaşmalarda sekonder immün yanıt ortaya çıkar. Sekonder immün yanıtta latent period kısalır, antikor düzeyi çok daha çabuk çok daha yüksek düzeylere ulaşır ve serumda çok daha uzun süre saptanabilir düzeyde bulunur<sup>18,21,22</sup>.

### **Hücreyel İmmünite**

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

Hücreyel bağışıklıkta antijeni özgül olarak tanıyan T lenfositleri başlıca rolü oynamaktadırlar. Antijenin T lenfositleri tarafından tanınması, antijen sunucu hücreler ya da hedef hücre üzerindeki MHC (büyük doku uyum kompleksi) molekülleri aracılığıyla gerçekleşir. Yüzeylerinde CD4 molekülü taşıyan yardımcı T lenfositler (Th) sınıf II MHC tarafından sunulan antijenleri tanıyabildikleri için bu olay sınıf II MHC'ye bağımlıdır. Yüzeylerinde CD8 molekülü taşıyan sitotoksik T lenfositler (Tc) ise MHC sınıf I'e bağımlıdır. Somatik hücrelerin hemen hepsinde sınıf I MHC molekülleri bulunurken sınıf II MHC molekülleri başlıca profesyonel antijen sunan hücreler (dendritik hücreler, aktif makrofajlar ve B lenfositler) olmak üzere görece kısıtlı sayıda hücrede

bulunur. Dendritik hücreler deride ve mukozal yüzeyin altında bulduklarında langerhans hücreleri olarak adlandırılırlar. Karaciğerdeki Kupffer hücreleri, santral sinir sistemindeki mikroglial hücreler ve kemikteki osteoklastlar belli özellikleri olan doku makrofajlardır <sup>19, 22</sup>.

### **Büyük Doku Uyuşum Kompleksi**

Büyük doku uyuşum kompleksi içerisinde yer alan moleküller ilk olarak farklı türler arasında yapılan greft değişimlerini hızla reddedici özellikleriyle tanımlanmıştır<sup>23</sup>. Yabancı antijenleri, vücudun kendi antijenlerinden ayırt etme görevi MHC molekülleri ile gerçekleşir. Hücre yüzeyinde bulunan MHC molekülleri yabancı antijenleri bağlayarak immün sistemin efektör hücrelerine sunar ve bu şekilde immün yanıtın başlamasında anahtar rol oynarlar. MHC yerine HLA terimi de kullanılmaktadır <sup>24</sup>.

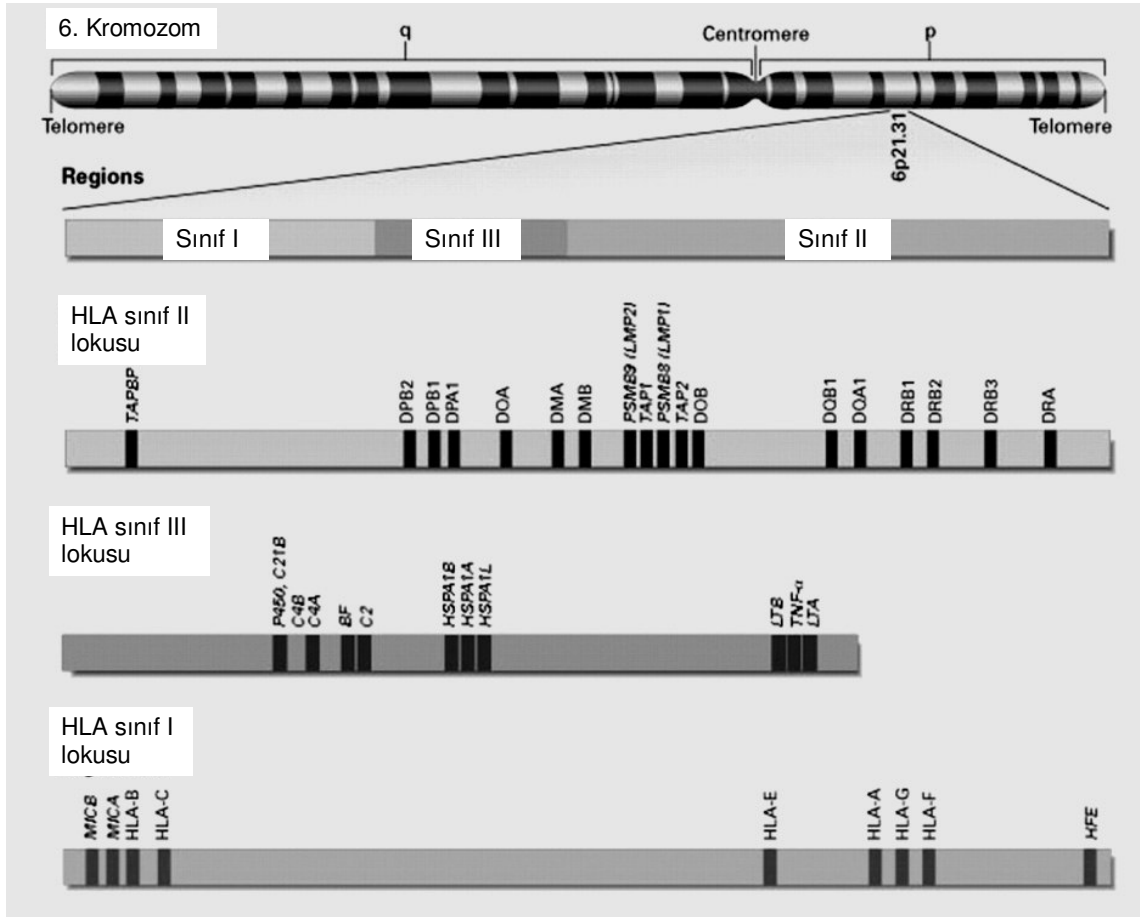
MHC antijenlerinin üzerlerinde yerleştikleri hücre tipleri ile immün işlevleri açısından 4 farklı grupta oldukları anlaşılmış olup, bunlara sınıf I, II, III ve IV MHC antijenleri adı verilmiştir. I. ve II. sınıf antijenleri hücre membranı üzerine yerleşmiş transmembran proteinlerdir. Ancak bu iki sınıf MHC antijenleri farklı genlerde kodlanırlar, farklı moleküler yapıya sahiptirler ve işlevleri de birbirine benzemez. III. ve IV. sınıf antijenler transplantasyonla doğrudan ilgili değildir. Ancak HLA gen bölgesinde ifade edilen antijenler olup bazı kompleman komponentlerini, inflamasyon moleküllerini (C4 A, C4 B, HSP, LT, MIC A, MIC B ve TNF) içerirler <sup>25</sup>.

İnsanda MHC antijenlerini kodlayan gen bölgesi 6. kromozomun kısa kolu üzerinde sentromere yakın bir bölgeye yerleşmiş ardışık bir DNA alanıdır (6p 21.3) (Şekil 3). Bu bölge 4 santimorgan (cM) büyüklüğünde bir bölge olup 203 tane gen immün sistemle ilişkilidir. MHC sistemi polimorfik olup kalıtım şekli ise Mendelian ve kodominattır <sup>24</sup>.

İnsanda 6. kromozomda yerleşik olan sınıf I gen bölgesi, MHC'nin telomerik ucunda yer alır. HLA -A, -B ve -C olarak da tanınan spesifik transplantasyon antijenlerini ve HLA -E, -F ve -G gibi spesifik olmayan Sınıf I antijenleri kodlayan gen lokuslarını, HLA -H, -J, -K, -L ve -X gibi psödogenleri ve gen segmentlerini içerir. Sınıf II bölgesi ise sentromere yakın yerleşmiş olup, HLA -DRA, -DRB, -DQA, -DQB, -DPA, -DPB, -DNA, -DMA ve -DOB lokuslarını barındırır. Bunların yanısıra çeşitli psödogenler, LMP1, LMP2, TAP1 ve TAP2

gibi antijen işlenmesinde rol alan genler de bu bölgede yer alır. HLA DRB ile HLA B bölgeleri arasında Sınıf III genleri bulunur. Bunlar kompleman komponentleri (C2, C4 ve faktör B) sitokinler (interferon, tümör nekrozis faktör), enzimler (21 hidroksilaz koenzim) ve bazı ısı şok proteinleridir (şekil 3). Adı geçen lokusların bir kısmı, çok sayıda polimorfik allelin kodlanmasından sorumludur. HLA tiplendirilmesi ile amaçlanan da bu alellerin ve kodladıkları antijenlerin belirlenmesidir <sup>26</sup>.

İnsanda MHC genleri Mendel kuralına göre ebeveynden çocuklara geçiş göstermektedir. Her bireyde bir çift kromozomun yarısı anneden yarısı babadan geçer. Böylece çocuklar ile anne-baba arasında bir haplotip uygunluğu vardır. Bir haplotipde bulunan alleller bir blok halinde geçer. Genetik geçiş sırasında %1-3 oranında rekombinasyon (Çapraz geçme=**Crossing over**) görülebilir <sup>27</sup>.



**Şekil 3:** HLA gen bölgesinin 6. kromozom üzerindeki yerleşimi ve Sınıf I, II, III Bölgeleri <sup>26</sup>.

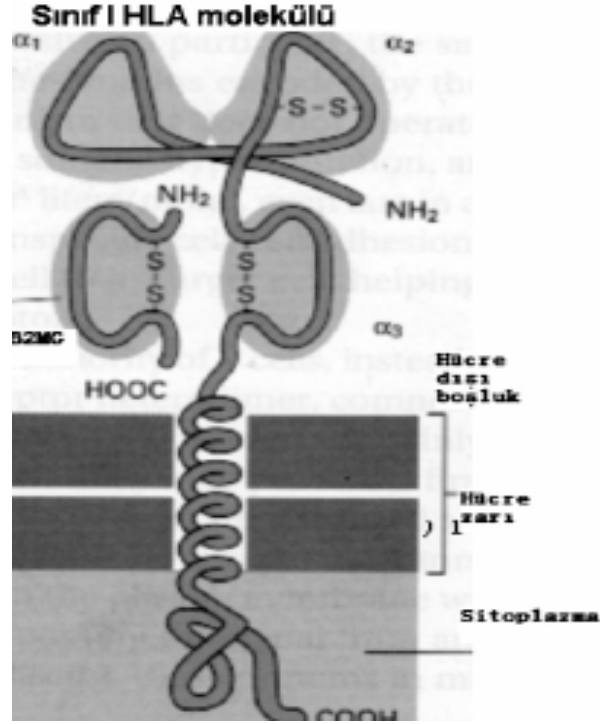
## MHC Sınıf I Molekülleri

Sınıf I MHC (HLA A, B, C) molekülleri tüm çekirdekli somatik hücrelerde bulunurlar. HLA sınıf I molekülleri, kovalan olmayan bağlarla bir arada tutulan, iki polipeptid zincirinden oluşmuş heterodimerlerdir. Bunlardan ağır olan alfa zinciri 45 KDa ağırlığında olup MHC bölgesinde kodlanır, hücre membranı boyunca ilerleyen bu molekülün amino ucu membranın dışında yer alır. Membran dışındaki alfa zinciri,  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  ve  $\alpha 3$  "domain"lerden oluşur. Bu domainler sırasıyla 90, 63 ve 86 amino asit dizisinden ibarettir. Zincirin membranı geçen kısmını takiben sitoplazmik kısa bir uzantısı vardır. Molekülde bulunan hafif zincir ise  $\beta 2$  mikroglobulin ( $\beta 2m$ ) olup 12,5 KDa ağırlığındadır.  $\beta 2m$  non-kovalent bağlarla ağır zincire bağlanmış olup MHC dışında, 15. kromozomda kodlanır<sup>25, 26</sup>.

Molekülün üç boyutlu yapısına bakıldığında membran dışında birbirine benzerlik gösteren bölgelerin karşılıklı gelmesi ile iki çift domain oluştuğu görülür.  $\alpha 1$  ve  $\alpha 2$  membran distalinde,  $\alpha 3$  ve  $\beta 2m$  de membran proksimalinde karşılıklı yer alır (şekil 4). Karşılıklı yerleşen  $\alpha 1$  ve  $\alpha 2$  zincirleri antijenlere ait 8-10 amino asit büyüklüğünde peptidlerin yerleşebileceği kovuğa benzer bir yapı oluştururlar.  $\beta 2m$  molekülün üç boyutlu yapısının korunmasında rol almaktadır.

Sınıf I molekül genleri, kodlama yapan 8 exon ve kodlama yapmayan 7 introndan oluşur. Polimorfik bir yapı gösteren  $\alpha 1$  ve  $\alpha 2$  bölgeleri ekzon 2-3 tarafından kodlanır. Altıncı kromozom üzerinde sınıf I molekülleri kodlayan genlerden önce sınıf I genleri düzenleyen bir bölge yer almaktadır. Bu kontrol bölgesi farklı sınıf I genleri ve hatta farklı aleller için bile farklı olabilir<sup>25, 26, 28</sup>.

HLA sınıf I gen bölgesinde (sınıf I benzeri) HLA-E ve HLA-G genleri belirlenmiştir. HLA-E, HLA-G'ye göre daha polimorfiktir. Trasplantasyon sonrası ortaya çıkan olumsuzlukların HLA-G'den kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Ayrıca HLA B lokusuna yakın bir bölgede MIC A (major histokompatibilite I zincir ilişkili antijen A) ve MIC B (major histokompatibilite I zincir ilişkili antijen B) adında yeni birtakım genler keşfedilmiştir. Bu genler sınıf I genleriyle yapısal benzerlikleri olan IV. sınıf genler olup tercihen epitel hücrelerinde transkribe olurlar ve özellikle stresle aktifleşirler<sup>29</sup>.



**Şekil 4:** Sınıf 1 HLA molekülünün şematik görünümü<sup>26</sup>.

### **Doğal Öldürücü (Natural Killer, NK) hücreler**

NK hücreleri kemik iliği kökenli büyük granüllü lenfosit morfolojisindeki hücrelerdir. Doğal bağışıklığın elemanı olan NK hücreleri esas olarak kan, dalak ve periton sıvısında bulunur. Bu hücrelerin insanlarda ve deney hayvanlarında timus olmadan olgunlaşabildikleri gösterilmiştir. NK hücreleri tümör hücre büyümesinin kontrolünde, viral enfeksiyonlarda, ayrıca parazit, mantar, bakteri gibi mikrobiyal enfeksiyonların kontrolünde, sitokin üretimi, hematopoetik sistem hücre büyüme ve farklılaşması, allograft rejeksiyonu gibi immünoregülatör fonksiyonlarda ve graft versus host hastalığı (GvHH) gelişimi, aplastik anemi, nötropeni, diyabet, gastrointestinal hastalıklar gibi farklı hastalıklarda rol oynamaktadır<sup>1,2</sup>.

Antijen sunan hücrelerden salgılanan IL-12 NK hücrelerinin çoğalmasını, IFN $\gamma$  ise mRNA transkripsiyonunu ve sitotoksik etkilerini artırır. Periferik kandaki mononükleer hücrelerin % 5-10'u yüzeylerinde T ya da B hücresi işareti taşımazlar. Bu hücrelerin yüzeylerinde IgG Fc kısmına karşı reseptör bulunur. Bir kısmı bir T hücre göstergesi olan CD8 taşır ve IL-2 ile çoğalır. NK

hücrelerinin büyük sitoplazmik granülleri vardır ancak fagositoz yapma ve yapışma özellikleri bulunmamaktadır<sup>1,2</sup>.

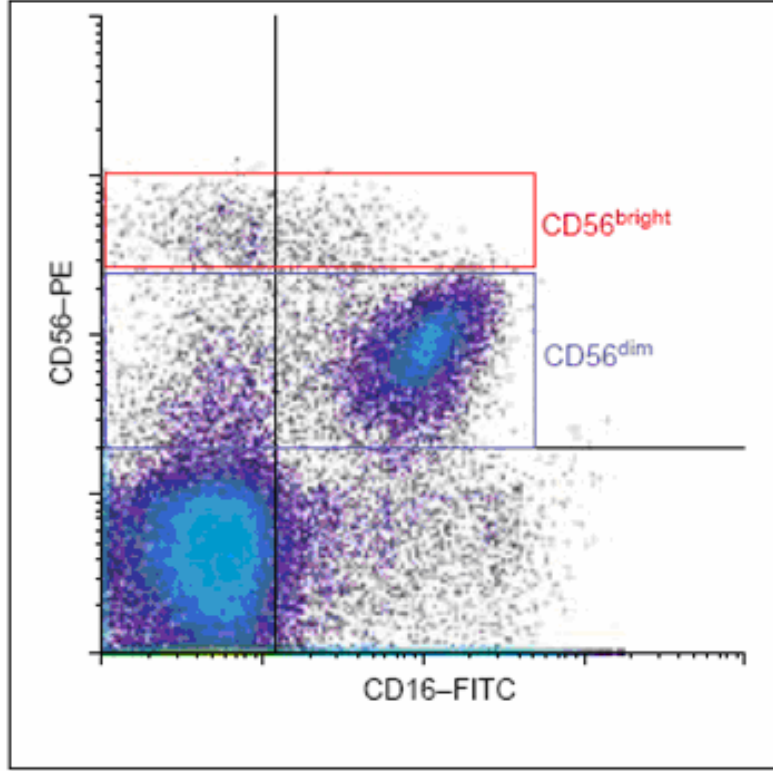
Monosit-makrofaj ve nötrofil benzeri fonksiyonları olan NK hücreleri antikör bağımlı hücrel sitotoksikite (ADCC) etkisi gösterirler. Antikora bağı hücrel öldürme Fc reseptörü olan lenfositin antikör ile kaplı (opsonize) hücreye Fc yolu ile bağlanıp onu öldürmesidir. NK hücre aktivitesi ise daha önceden hedef ile karşılaşmamış lenfositin antikör varlığı gerektirmeyen öldürücü aktivitesidir<sup>2</sup>.

NK hücreleri malign hücreler, virüs ile enfekte hücreler ve transplante edilmiş yabancı hücrelerin yok edilmesinde rol alır. Hedef hücre yıkımının mekanizması tam olarak aydınlatılamamakla beraber sitoplazmik bileşenlerde bulunan perforin ve granzimler aracılığı ile yıkımın gerçekleştiği kabul edilmektedir. Konağın korunmasında ADCC'nin önemi açık olmamakla beraber, bakteri ve virüslerin yok edilmesinde ek bir mekanizma olarak kabul edilmektedir<sup>1</sup>.

NK hücrelerinin öldürücü yeteneği hedef hücrelerin HLA sınıf I molekül ekspresyonları ile ters orantılıdır. Virüsler ve malign dönüşüm, hücrelerin HLA sınıf I ekspresyonunu azaltır, bu durum CD8+ T hücrelerinin HLA sınıf I'e bağımlı sitotoksik yanıtlarını etkiler. NK hücrelerinin immün sistemdeki bu boşluğu doldurmak üzere geliştikleri düşünülmektedir<sup>1</sup>.

NK hücreleri fenotipik olarak CD3 negatif, CD16 pozitif, CD56 negatif ya da pozitif olabilirler. Yaklaşık 1/3'ünde CD8 pozitifliği de bulunur. NK hücreleri, hücre yüzey moleküllerinden CD56'nın dansitesine göre sınıflandırılabilirler. NK hücrelerinin % 90'ında CD56'nın düşük dansiteli (CD56<sup>dim</sup>) ekspresyonu gerçekleşmekte iken %10 kadarında yüksek dansiteli CD56 (CD56<sup>bright</sup>) ekspresyonu gerçekleşmektedir. Perifer kanda CD56<sup>dim</sup> hücrelerin sayısı CD56<sup>bright</sup> hücrelerden fazla iken ve kemik iliği ve dalakta CD56<sup>bright</sup> hücrelerin sayısı CD56<sup>dim</sup> hücrelerden fazladır (şekil 5). Yine CD56<sup>dim</sup> hücrelerde sitotoksik etki baskın iken CD56<sup>bright</sup> hücreler minimal sitotoksik etki gösterirler ve potent sitokin salınımlarından sorumludurlar<sup>2, 22</sup>.

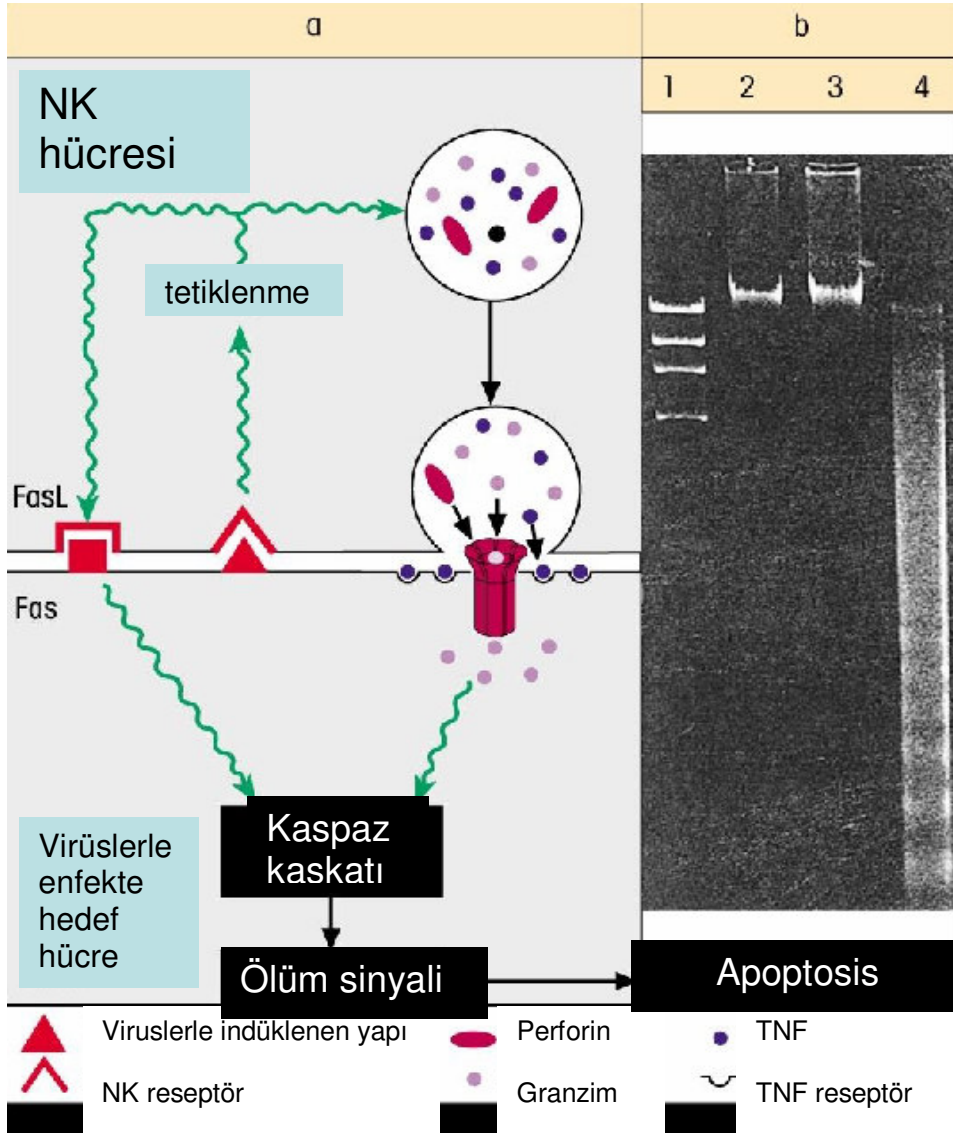




**Şekil 5:** CD56<sup>bright</sup> ve CD56<sup>dim</sup> doğal öldürücü hücrelerin periferik kan örneğinde akımsitometri ile analizi <sup>22</sup>.

NK hücreleri, antikor veya antijenik uyarıya gerek duymaksızın hedef hücreleri öldürme yeteneğindedirler. Non-özgül olarak mitojenler, IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-12, IL-15 ve IL-18 ile aktifleşirler. Virüsle enfekte hücrelerin yok edilmesinde ilk yanıt veren hücrelerdir. NK hücreleri lektin-benzeri ve diğer reseptörler ile virüsle enfekte hücre yüzeyinde bulunan yüksek molekül ağırlıklı glikoproteinlere bağlanır. NK hücresinin aktivasyonu ile dakikalar içinde çekirdek ile hedef arasında granüllerin polarizasyonu meydana gelerek granül içeriği hücre dışına salınır ve hücre dışı öldürme gerçekleşir (şekil 6) <sup>17</sup>.

Granüller içinde bulunan en önemli bileşen perforin ya da C9 ile yapısal homoloji gösteren sitolizindir. C9 tarafından indüklenen hücre lizisinde önce dış membran daha sonra nükleer değişiklikler sonucu hücre zarar görür. NK hücreleri ise apoptozisi aktifleştirerek hücre ölümüne neden olur. NK hücrelerinde granüller içinde bulunan proteazlara dirençli, negatif yüklü bir proteoglikan olan kondroitin sülfat-A hücrelerin kendi kendini otoliz etmesini önler <sup>17</sup>.



**Şekil 6:** Virüslerle enfekte hücrelerin, NK hücreleri ile ekstrasellüler olarak öldürülmesi <sup>15</sup>.

### NK Hücrelerinin Yüzey Reseptörleri

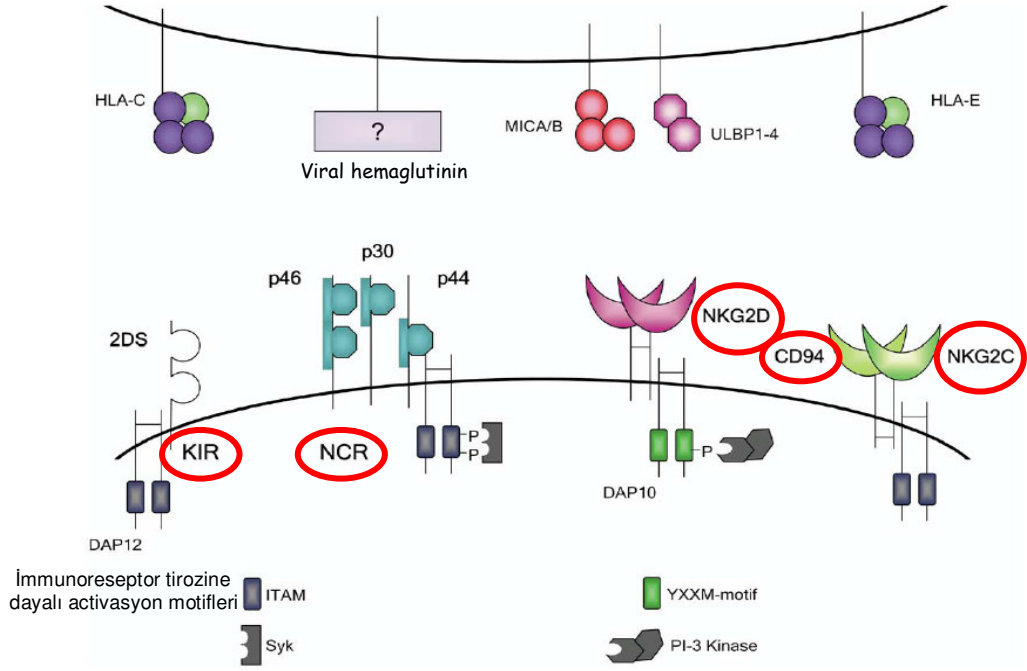
NK hücreleri HLA-A, HLA-B ve HLA-C gibi spesifik HLA antijenleri, HLA-E ve HLA-G gibi non-spesifik HLA antijenleri ve stress ile indüklenen molekül MICA moleküllerinin her biri için reseptör üretir. Bu reseptörler doğal öldürücü reseptörler (NKR) olarak adlandırılır. İki farklı yapıda NK reseptör ailesi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

hücrelerinden sitotoksik granüller veya sitokin sekresyonu gerçekleşir. Aktifleştirici reseptörler DAP-12 gibi proteinlerle ilişkilidir ve bunlar sitoplazmik uçta pozitif aktivasyon gösteren ITAM (İmmunoreseptör tirozine dayalı aktivatör motifler) içerirler. ITAM'lar NK aracılı saldırı olaylarını yönetirler. İnhibitör reseptörler MHC sınıf I moleküllerine bağlandıklarında sinyali baskırlar. Aksi halde NK hücreleri aktifleşir<sup>23</sup>.

HLA sınıf I molekülleri ile reaksiyona girdiğinde öldürme veya sitokin üretimini inhibe eden sinyal iletimine yol açan reseptörler ilk olarak katil inhibitör reseptörler olarak daha sonra ise katil immünoglobulin-benzeri reseptörler (KIR), öldürme ve sitokin üretimi gibi efektör işlevleri tetikleyen reseptörler ise katil aktivatör reseptörler (KAR) olarak adlandırılmıştır. İlk çalışmalarda tanımlanan KIR, NK hücrelerine inhibitör sinyaller göndermesine karşılık daha sonraki çalışmalar sınıf I MHC antijenleri için aktifleştirici reseptörlerin de KIR ailesi içinde olduğunu göstermiş ve genel olarak killer immünoglobülin-benzeri reseptörler olarak adlandırılmıştır. İnhibe edici sinyaller konağın kendine karşı toleransını sağlarken, Aktive edici sinyaller patojenlere ve transforme hücrelere karşı erken savunmada görev alırlar. Aktive edici NK Hücre reseptörleri doğrudan sitotoksik etki gösterenler ve antikör aracılı sitotoksik etki gösterenler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Antikör aracılı sitotoksik etki gösteren reseptörlere bir örnek CD16'dır. CD16, IgG Fc reseptörü için düşük afinite gösterir. Bu durumda reseptörün ligandı anormal durumda hedef hücrede var olan antijene bağlı IgG'dir. Diğer ligandların ne olduğu halen bilinmemektedir. Doğrudan sitotoksik etki gösteren reseptörler NK hücrelerine özgün olanlar (aktive edici KIR, Ig süper ailesinden NKp46, NKp44, NKp30, CD244, NTB-A, Lektinlerden, NKG2D, CD94/NKGC,-E,-F) ve NK hücrelerine özgün olmayanlar (CD2, CD26, CD69) olmak üzere iki grupta incelenmektedir (şekil 7) <sup>1, 12, 30</sup>.

Farelerde ana MHC sınıf I'i tanıyan reseptörler Ly49 multigen familyasıyla temsil edilirler. Her bir NK hücresi bir ile dört farklı Ly49 geni eksprese eder. Ancak insanlarda Ly49 bazlı reseptörler bu görevi yerine getirmede kullanılmazlar. Bunun yerine insanlarda işlevsel olarak aynı, yapısal olarak farklı olan KIR reseptörleri bulunur. Bu ilişkisiz genler, aynı işlevi yerine getirmek üzere gelişme olarak adlandırılan konverjent evolusyona iyi bir örnektir. Bazı Ly49 reseptörleri peptid bağı oluşturmadan MHC sınıf I moleküllerini tanıyabilirler. Ly49 dimerleri MHC sınıf I molekülleriyle TCR

bölgesi ile örtüşme oluşturmadan, iki farklı noktadan bağlanırlar. Bunun aksine KIR'lar MHC sınıf I molekülleriyle TCR oluşuna peptid bağı yardımıyla yerleşerek ilişki kurar<sup>23</sup>.

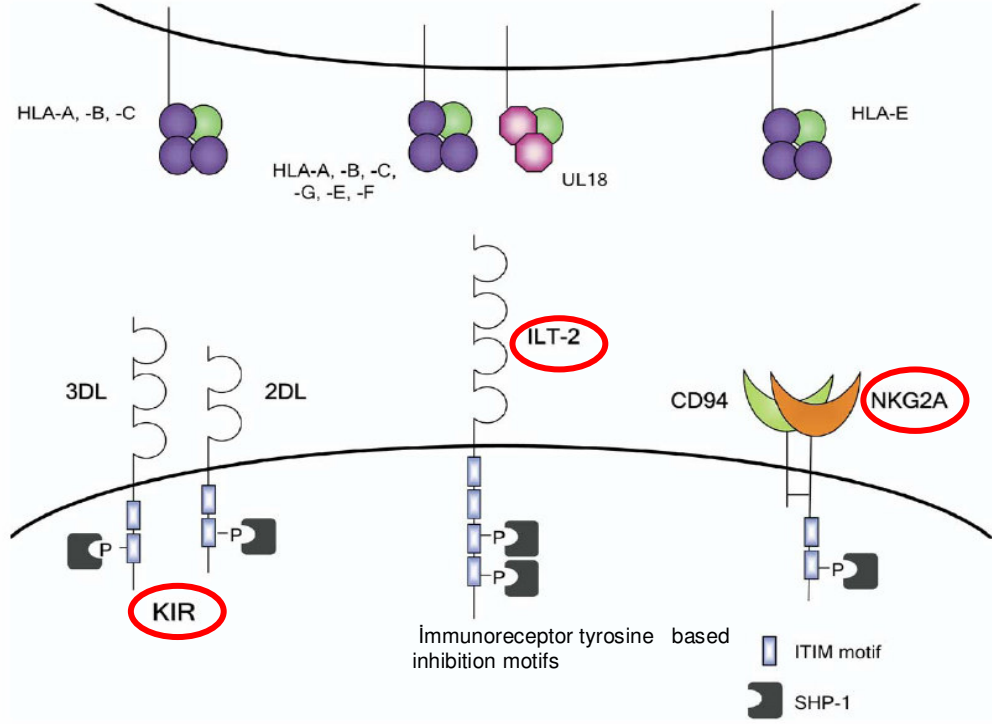


**Şekil 7:** Aktive edici NK Hücre Reseptörleri<sup>30</sup>.

İnhibe edici NK hücre reseptörleri ise katil hücre immunglobulin benzeri reseptörler (killer cell immunglobulin like receptors; iKIR), Immunglobulin benzeri transkriptler (ILT) ve C-tip Lektinlerdir (CD94/NKG2A heterodimeri) (şekil 8)<sup>30</sup>.

KIR sadece NK hücrelerinin değil aynı zamanda daha önceden aktifleşmiş T hücre aktivasyonunun düzenlenmesinde de rol oynar. Th1 ve Th2 hücrelerine benzer şekilde insan NK hücre alt gruplarının in vivo koşullardaki varlığı taze olarak saflaştırılan IFN- $\gamma$  salgılayan ve salgılamayan NK hücre gruplarında gösterilmiştir. IFN- $\gamma$  salgılayan NK hücre alt grubunun asıl IFN- $\gamma$  salgılamasına karşılık IL-4, IL-5 ve IL-13 salgılamadığı, tersine IFN- $\gamma$  salgılamayan NK hücrelerinin ise IL-4, IL-5 ve IL-13 salgıladığı bulunmuştur. Taze olarak saflaştırılan IFN- $\gamma$  salgılayan ve salgılamayan NK hücre alt grupları ile in vitro olarak farklılaşmış NK1 ve NK2 hücre alt gruplarının K562 hücrelerine

karşı benzer sitotoksik aktivite gösterdiği saptanmıştır. Son bulgular dolaşımdaki NK hücrelerinin farklı sitokin profillerine sahip efektör NK hücre alt gruplarına dönüşebileceğini ve farklı inflamatuvar özellikler kazanabileceğini göstermektedir <sup>12,30</sup>.

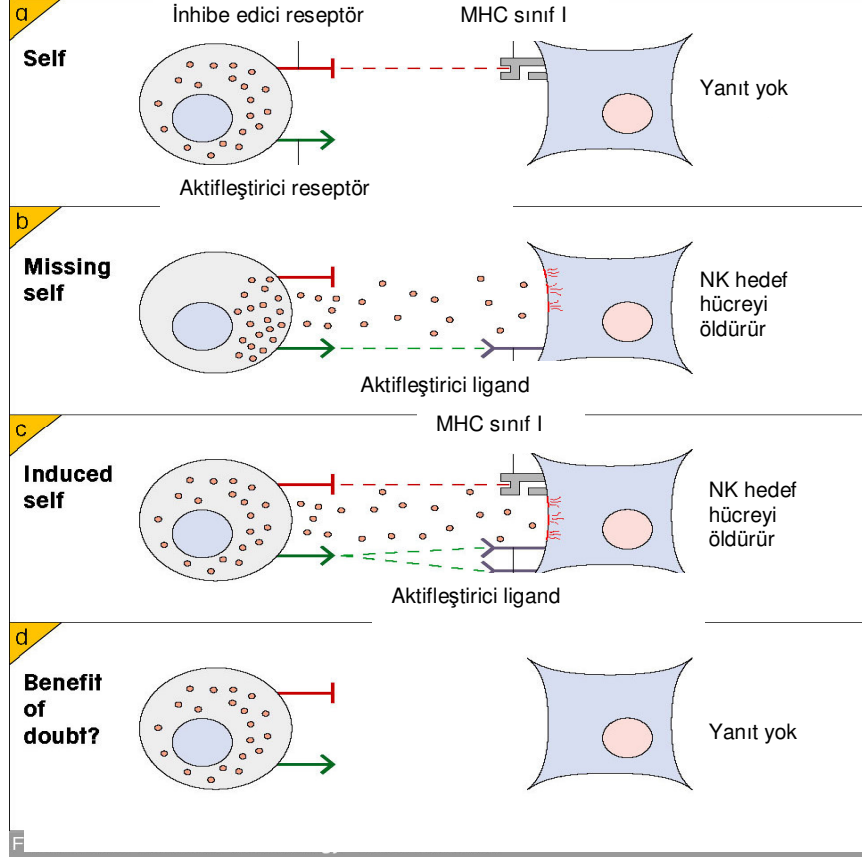


**Şekil 8:** İnhibe edici NK hücre reseptörleri <sup>30</sup>.

### NK Hücrelerinin Uyarılması

NK hücreleri normal otolog MHC sınıf I molekül üreten hücreyle karşılaştığında inhibe edici reseptörler ile bu hücreye bağlanma olurken aktive edici NK reseptörleri hedef hücre yüzeyinde üretilen aktive edici ligand olmadığı için boşa kalır. Böylece NK hücreleri aktive edilmemiş olur. NK hücrelerinin uyarılması iki ayrı hipotezle açıklanmıştır. Bunlardan birincisi kimliğini kaybetme (Missing Self) hipotezidir. Bu hipoteze göre hedef hücrede MHC moleküllerinin kaybı, inhibitör reseptör etkisini ortadan kaldırır ve aktivatör reseptörler baskın hale geçerek yabancı hücrenin ortadan kaldırılması sağlanır. Diğer bir hipotez ise "kendini indükleyen tanıma" (Induced self recognition) hipotezidir. Bu hipoteze göre hedef hücrede MHC sınıf I ekspresyonu bulunmasına rağmen bu hücreler NK aktive edici ligandları da eksprese ediyorsa, NK hücrelerinin vereceği yanıt aktive ve inhibe edici sinyallerin gücüne göre değişir. Bazı

durumlarda NK hücreleri MHC sınıf I molekülleri ya da aktivatör ligandları eksprese etmezler, bu durumda NK hücreleri alternatif inhibe edici ligandlar nedeniyle hücreleri tanıyamayabilirler (şekil 9) <sup>23</sup>.



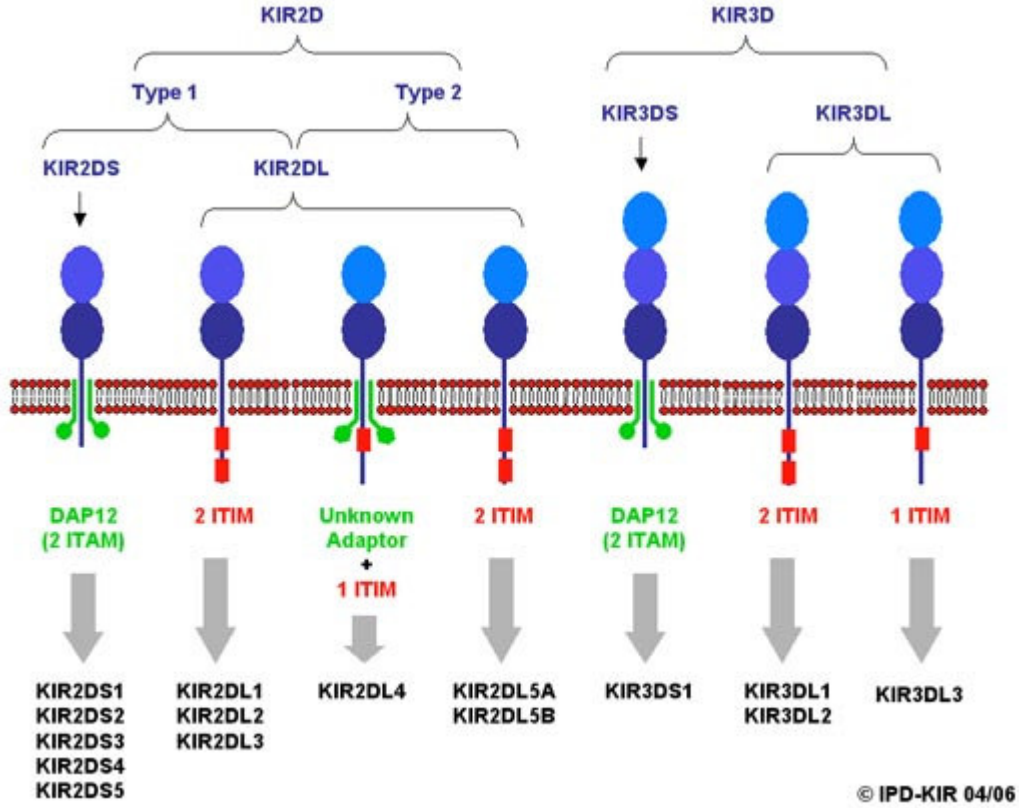
**Şekil 9:** NK hücre aktivasyonu <sup>23</sup>.

### KIR'ların Yapısı

KIR reseptörü, T hücrelerinin alt grupları ve NK hücrelerinin üzerlerinde eksprese olan hücre yüzey reseptörüdür. Bu reseptörler hedef hücreler üzerindeki HLA sınıf I ligandını tanıyarak NK hücrelerinin sitotoksik aktivitesini düzenlerler <sup>12</sup>.

KIR2D iki adet, KIR3D ise üç adet immüno globulin domainine sahiptir. KIR'ların üyesi olan bu alt ailelerin inhibitör ve stimülatör işlevleri bulunmaktadır<sup>5</sup>. KIR allellerinin (2DL1, 2DL2, 2DL3, 2DL4, 2DL5, 3DL1, 3DL2) inhibitör sinyal iletimine yol açan, ITIM taşıyan uzun sitoplazmik kuyrukları bulunmaktadır<sup>31, 32</sup>. Kısa sitoplazmik kuyruk (S) varlığı reseptörün stimülatör

karakterli olduğunu göstermektedir (2DS1, 2DS2, 2DS3, 2DS4, 2DS5 ve 3DS1) (şekil 10).



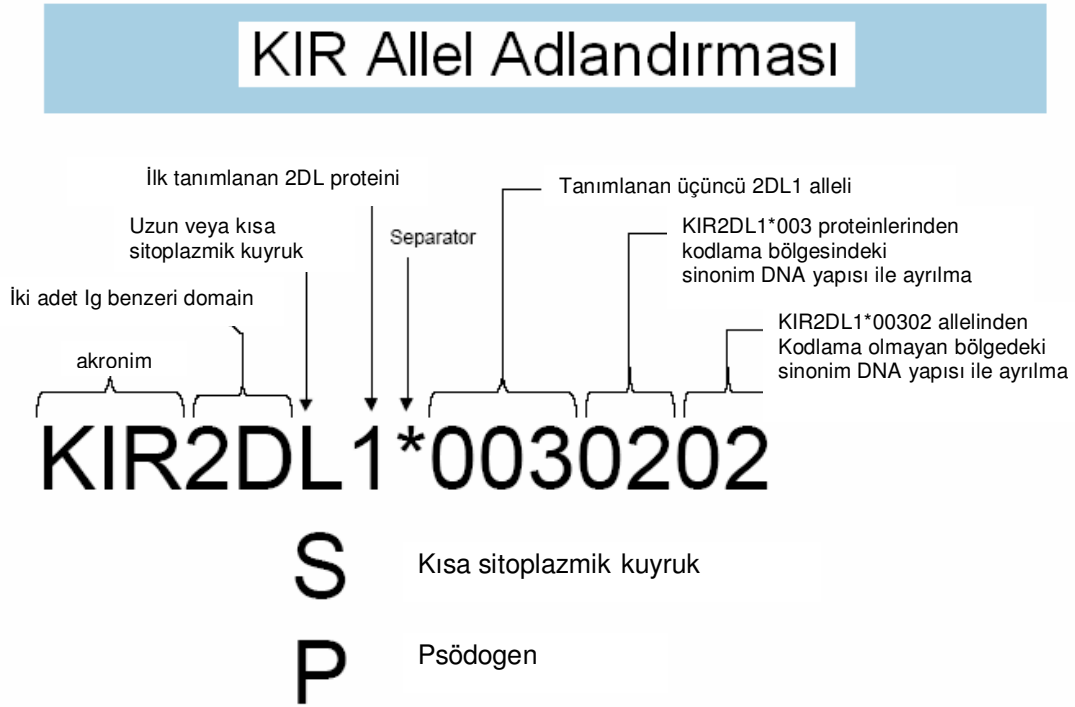
**Şekil 10:** KIR'ların yapısı<sup>33</sup>.

### KIR'ların Adlandırılması:

KIR genlerinin adlandırılması için iki ayrı sistem kullanılmaktadır. Bunlardan en yaygın kullanılanı İnsan Genom Organizasyonu'nun (Human Genome Organization, HUGO) önerdiği protein yapısını, ekstraselluler Ig domainlerini ve stoplazmik kuyruklarını karakterize eden adlandırma sistemidir. Diğeri ise kromozom 19 daki genlerin sentromerik-telomerik sıralarına göre CD158a, CD158b gibi CD adlandırma sistemidir<sup>34</sup>. CD adlandırması yapıyı, işlevi, ekspresyonu veya yerleşimi göstermediği için bu sistem rutinde kullanılmamaktadır.

Bizim de kullandığımız sınıflama bu moleküllerin sahip olduğu immünoglobulin domainlerinin sayısına göre yapılmaktadır. Örneğin 2 domainli KIR'lar KIR2D, üç domainli KIR'lar ise KIR3D olarak adlandırılır. KIR'ların alt gruplarının inhibitör sinyal iletimine yol açan ITIM taşıyan uzun sitoplazmik

kuyrukları bulunmaktadır ve bunlar domain sayısının yanına eklenen “L” harfi ile gösterilir (2DL1, 2DL2, 2DL3, 2DL4, 2DL5, 3DL1, 3DL2). Kısa sitoplazmik kuyruk ise stimülatör fonksiyonlara sahiptir ve “S” harfi ile gösterilir (2DS1-2DS5 ve 3DS1). KIR3DL3 ise yukarıda belirtilen bir gruba dahil edilmeyip, psödogen olarak kabul görmektedir. Psödogenler ise, domain sayısının yanına eklenen “P” harfi ile gösterilir (şekil 11) <sup>35</sup>. KIR’ların yapısal ve işlevsel farklılıklarıyla sınıflandırılması çok önemlidir. Bunun yanı sıra lokuslara ait diziler ve alelik varyantların çözümlenebilmesi yönünde çalışmalar da devam etmektedir.



**Şekil 11:** KIR allel adlandırılması <sup>36</sup>.

### KIR Ligandları:

Hedef hücreler üzerinde bu reseptörlerin bağlandığı ligandların genellikle HLA Sınıf I molekülleri olduğu bildirilmektedir. Üç domainli KIR’ların insan lökosit antijenlerinden özgül olarak HLA A ve HLA B antijenlerine bağlanabildiği gösterilmiştir. Bununla birlikte iki domainli KIR’ların farklı olarak HLA C antijenleriyle de ilişkide olabilecekleri gösterilmiştir<sup>6</sup>. KIR’lar için ligand olması olası moleküller üzerine çalışmalar devam etmektedir. Populasyonda birçok birey; her üç major HLA sınıf I epitopu için reseptörleri kodlayan inhibitör KIR genlerine sahiptir. KIR 2DL1, KIR 2DL2 ve KIR2DL3 HLA C antijenlerine



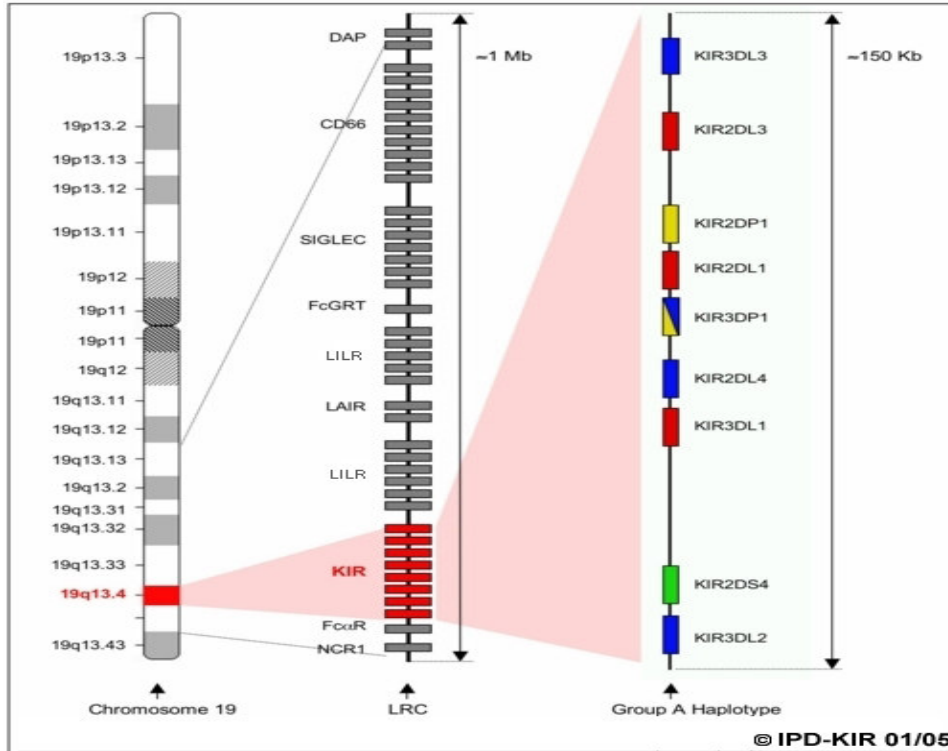
bağlanırken, KIR 3DL1'in HLA B antijenleriyle bağlandığı bilinmektedir<sup>37</sup>. Bilinen stimülatör KIR'lar (2DS1, 2DS2, 2DS3, 2DS4, 2DS5, 3DS1) kısa sitoplazmik kuyruğa sahip olup ITIM motifini taşımazlar (tablo 2). Ayrıca transmembran domainlerinde yüklü bir aminoasit rezidüsüne sahiptirler ve inhibitör sinyal taşıma özellikleri de yoktur. Aktivatör KIR'lar için özgül bir ligand net olarak bulunamamıştır. Ancak deneysel çalışmalar KIR 2DS1 ve KIR 2DS2'nin zayıf da olsa HLA antijenlerine bağlandığını göstermektedir. KIR 2DL4 hem inhibitör hem stimülatör özelliği ile ön plana çıkmaktadır ve işlevi bugün için belirsizdir<sup>38</sup>.

**Tablo 2:** KIR'ın Ligandları<sup>33</sup>.

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

## KIR Genleri

Polimorfik ve yüksek homoloji gösteren KIR lokusları kromozomun 19q13.4 bölgesinde, 1Mb'lık lökosit reseptör kompleksinde (LRC) bulunmaktadır. LRC hızla evrimleşen immün genlerin yoğun kümeler halinde bulunduğu bir bölgedir (şekil 12)<sup>3, 4</sup>. KIR genlerini kodlayan LRC bölgesi aynı MHC bölgesi gibi polimorfik, poligenik ve kompleks bir yapıdadır. LRC; KIR reseptör ailesinin yanı sıra sentromerden telomere doğru siyalik asid bağlayan immunoglobulin-benzeri lektinler (SIGLEC), lökosit Ig-benzeri reseptör ailesi (LILR), lökosit-ilişkili inhibitör reseptör (LAIR) ailesi ve doğal sitotoksisite-tetikleyici reseptör 1 (NCR1) olarak bilinen FcGamma reseptörlerini kodlar<sup>39</sup>. Gen içeriği haplotipler arasında değişiklik göstermektedir<sup>3</sup>. KIR gen ailesi LRC'nin 100-200 Kb lık bölgesinde yer alır ve 15 KIR geni (KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR2DL5A, KIR2DL5B, KIR2DS1, KIR2DS2, KIR2DS3, KIR2DS4, KIR2DS5, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3 ve KIR3DS1) ile 2 psödogeni (KIR2DP1 ve KIR3DP1) kodlar<sup>7</sup>.



**Şekil 12:** Lökosit reseptör kompleksi (19q13.4) ve bir KIR haplotipi <sup>33</sup>.

NK hücrelerindeki KIR reseptörlerinin gen içeriği kişiden kişiye farklılık gösterir. Bir haploidde 8-14 gen veya yalancı gen olabilir. Bunun yanısıra KIR genlerinin

kopya sayısı da farklılık gösterebilir. Bu farklılıkları arttıran önemli bir etken KIR genlerindeki polimorfizmdir.

### **KIR Genlerinin Allelik Polimorfizmi:**

KIR genomik bölgesindeki farklılıklara allelik polimorfizmler önemli bir katkıda bulunur. Tüm KIR lokuslarında nokta mutasyonları veya homolog rekombinasyonlarla oluşan allelik polimorfizmler saptanmıştır. KIR polimorfizminin işlevsel anlamı bazı polimorfizmler dışında halen tam olarak çözülememiştir<sup>7</sup>. Örneğin KIR2DS4\*001 alleli normal aktive edici KIR2DS4 yüzey molekülünü kodlamaktayken KIR2DS4\*003, KIR2DS4\*004 ve KIR2DS4\*006 delesyona uğramış variant allellerdir ve eksprese edilmeyen allelik formlardır. Bu variant allellerin homozigot olduğu ve aktive edici reseptör olarak sadece 2DS4 taşıyan bireylerin bu moleküllerinin işlevsiz olduğu ve bu kişilerde immün cevabın devamlılığında KIR2DL4 molekülünün hem inhibe hem aktive edici özelliği rol oynamaktadır<sup>40, 41</sup>.

Avrupa Moleküler Biyoloji Laboratuvarına (European Molecular Biology Laboratory, EMBL) bağlı Avrupa Biyoinformatik Enstitüsü (European Bioinformatics Institute, EBI) KIR allelleri için bir database oluşturmuştur (tablo 3).

**Tablo 3:** EMBL KIR bilgi bankasına 15.05.2008 tarihine kadar girilmiş olan allel tipleri ve sayıları<sup>42</sup>.

Allel Bilgileri									
KIR allelleri									292
KIR allelleri									
Gen	2DL1	2DL2	2DL3	2DL4	2DL5	2DS1	2DS2	2DS3	
Alleller	15	5	7	26	21	12	10	7	
Proteinler	10	5	7	12	11	8	5	3	
Null allel	0	0	0	0	0	0	0	1	
Gen	2DS4	2DS5	3DL1	3DS1	3DL2	3DL3	2DP1	3DP1	
Alleller	11	10	49	14	38	55	5	7	
Proteinler	7	8	43	12	34	34	0	0	
Null allel	0	0	1	1	0	0	0	0	

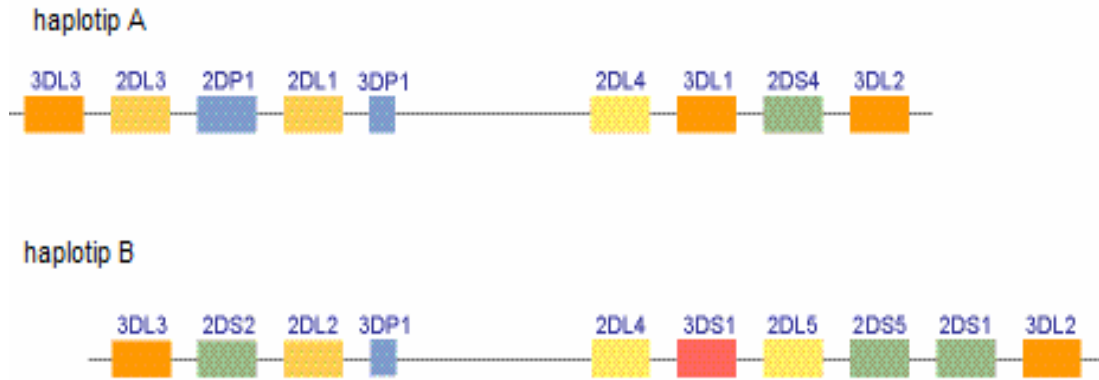
## KIR Genlerinin Dizilimi ve Haplotipik Değişkenlik

KIR genlerinin DNA segmentindeki yerleşimi sürekli genişleyen ve kontraksiyon yapan bir bölgededir. KIR haplotiplerinin tarihini gen duplikasyonları ve eşit olmayan crossing over bölgeleri oluşturmuştur. KIR lokuslarının sayısının bireyden bireye değişkenlik göstermesi nedeniyle farklı KIR haplotipleri oluşmaktadır<sup>43</sup>. Kromozom üzerindeki KIR gen diziliminin farklılığı ile birbirinden farklı iki haplotip yapısı oluşturulmaktadır<sup>39</sup>. Her gen yaklaşık olarak 10-16 kb uzunluğundadır ve her gen çifti 2 kb'lık aralıklarla birbirinden ayrılmaktadır. KIR gen kompleksindeki varyasyon hem bazı KIR genlerindeki allelik polimorfizmlerle hem de haplotipler üzerinde bulunan genlerin sayısı ve tiplerindeki farklılıklarıyla ortaya çıkmaktadır<sup>3, 44</sup>.

Haplotiplerin her iki grubu da şimdiye kadar analiz edilen bütün popülasyonlarda görülmüş olmakla beraber, oranları farklı ırk ve etnik gruplarda değişmektedir<sup>10</sup>. Ancak KIR gen lokusunun geniş genomik dizilemesi sonuçları ve popülasyon çalışmalarının sonuçları 4 KIR geninin hem A grubu, hem de B grubu haplotiplerde ortak olduğu izlenimini vermektedir. Bunlar sentromerik sınırda yer alan KIR3DL3 geni, telomerik uçta yer alan KIR3DL2 geni, KIR gen kümesinin ortasında yer alan KIR2DL4 ve KIR3DP1 genidir<sup>38</sup>. KIR haplotiplerindeki gen sayılarının ve tiplerinin değişik olmasına rağmen, 2DL4, 3DP1, 3DL2 ve 3DL3 genleri hemen hemen her haplotipte bulunmakta ve çerçeve genleri (framework lokus) olarak adlandırılmaktadırlar<sup>39</sup>. Diğer genlerin tamamı total haplotipik havuzun bir parçası olarak bulunmaktadırlar. Tek bir haplotipte eksprese olan KIR sayısının, temel olarak aktive edici KIR lokusunun olmasına veya olmamasına dayanarak, 7 ile 12 arasında olduğu varsayılmaktadır<sup>3, 39, 45</sup>. Haplotipler gen içeriğine dayalı olarak A ve B olarak iki gruba ayrılmışlardır. Bu ayırım southern blot analizi ile belirlenen 24kb'lık HindIII fragmanının varlığına dayanarak yapılmıştır<sup>3</sup>.

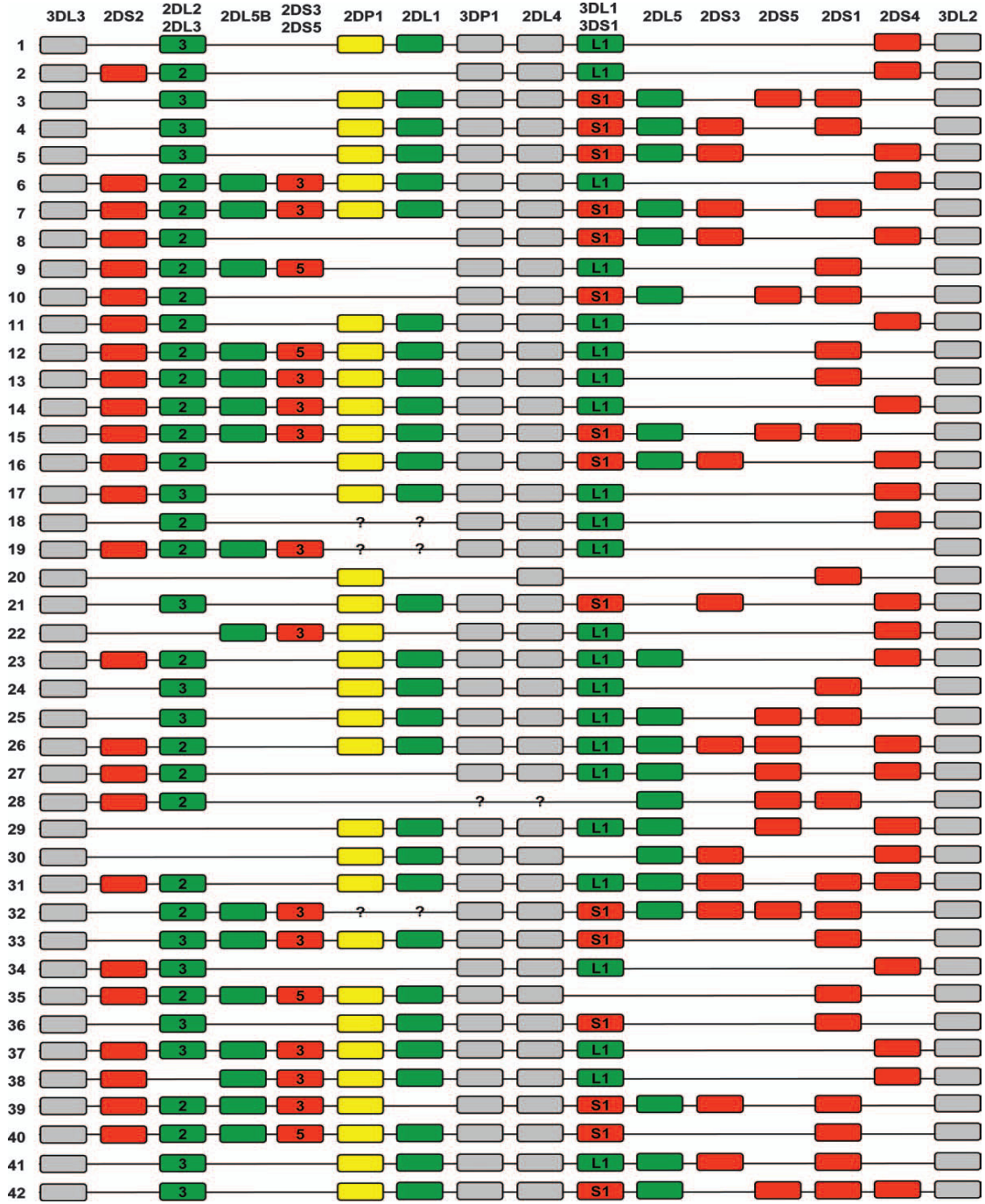
Haplotip A da 7 lokus (2DL1, 2DL3, 2DL4, 2DS4, 3DL1, 3DL2 ve 3DL3) bulunmaktadır. Haplotip A ile B arasındaki en önemli fark içerdikleri stimülatör reseptörlerin sayısıdır. Haplotip A sadece bir stimülatör KIR geni içerirken (2DS4) Haplotip B 2DS1, 2DS2, 2DS3, 2DS5, 3DS1 ve 2DS4 ün farklı bileşimlerini içerir. Ayrıca 2DS4 geninin popülasyonun %84 ünde null alleli bulunmaktadır (allel frekansı olarak % 60)<sup>46</sup>. Bundan dolayı, bazı bireyler stimülatör KIR geni içermeyen A haplotipi için homozigot olabilirler<sup>47</sup>. Her iki

haplotip grubu KIR2DL ailesinin karakteristik elemanlarını içermektedir<sup>48</sup>. A haplotipi KIR3DL3, -2DL3, -2DL1, -2DL4, -3DL1, -2DS4 ve -3DL2'yi içerir. A grubu haplotipi hem KIR2DL1 hem de KIR2DL3'ün varlığı ve aynı anda KIR2DL2'nin yokluğu ile karakterizedir<sup>49</sup>. B grubu haplotipleri için bunun tam tersi geçerlidir. Yani KIR2DL2'nin varlığı ve aynı zamanda KIR2DL1 ve KIR2DL3'ün olmaması ile belirlenen haplotip grubu B olarak isimlendirilir (şekil 13, şekil 14)<sup>47</sup>.



**Şekil 13:** KIR Haplotiplerinin gen dizisi<sup>50</sup>.

Çerçeve genlerinin bulunmasına rağmen ortaya çıkan bu değişken poligeni HLA-DR de görülen poligeni ile analogtur. HLA DR lokusunda DRA genleri her zaman bulunmakla birlikte DRB genlerinin sayısı değişkendir. Beyaz ırkta haplotip A ve B frekansları yaklaşık olarak birbirine eşittir. Gen içeriğine bakıldığında ise haplotip B subtipleri açısından daha büyük bir varyasyon göstermektedir<sup>50</sup>.



**Şekil 14.** Populasyonlarda bulunan farklı KIR haplotiplerinin şematik görünümü. 1. haplotip, grup A haplotipini gösterirken, diğerleri B haplotip grubundandır. Tüm haplotiplerde bulunan, çerçeve genleri gri renk ile, aktivatör reseptörlerin kodlandığı genler kırmızı, inhibitör reseptörlerin kodlandığı genler ise yeşil ile gösterilmiştir. KIR2DP1 psödogendir ve sarı ile gösterilmiştir. Framework genlerden KIR2DL4 hem aktive hem inhibe edici, KIR3DL2 inhibe edici reseptörlerdendir, KIR3DL3'ün fonksiyonu bilinmemektedir, KIR3DP1 ise psödogendir<sup>51</sup>.

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

KIR bölgesinin eşit olmayan kromozomal parça değişimi (crossing over) sonucunda bu bölgenin genişlemesi ve kontraksiyonu gerçekleşebilir. Bu olay sonucunda iki veya daha çok gen kopyası içeren KIR haplotipleri tek haplotip üzerinde bulunabilir ve gen dizisinin rearanjmanını sağlayabilir. En son bulunan KIR geni 2DL5'tir<sup>52</sup>. Segregasyon analizleri tek 2DL5 lokusundaki allellerin aslında tek bir haplotipte bulunan iki farklı lokustan oluştuğunu göstermektedir<sup>53</sup>. İlginç bir şekilde, 2DL5A ve 2DL5B olarak adlandırılan bu genler, haplotipler üzerinde her iki geni de içeren, ardışık şekilde değil de nonresiprokal parça değişimi gerektiren bir mekanizma ile lokalize olmaktadır. Her iki genin ekzonlarında ve intronlarında %99'un üzerinde dizi benzerliği bulunmaktadır<sup>53</sup>. 2DL4 ve 3DL1'de olmak üzere bazı KIR'ların silinmiş olduğu en az bir haplotip bulunmaktadır<sup>55</sup>.

### **Bağlantı Dengesizliği**

Aynı kromozom veya haplotipde bazı allellerin birbirleri ile birlikte görülme sıklıkları beklenenden daha yüksek saptanmıştır. Bu durum bağlantı dengesizliği (linkage disequilibrium) olarak ifade edilir. Farklı toplumlarda bu beraberlikler değişiklikler gösterir. KIR lokusundaki polimorfik gen çiftlerinin arasındaki bağlantı dengesizliğine yönelik çalışmalar, 2DL4 ün telomerik ve sentromerik bölgelerine yerleşen baz çiftleri arasında güçlü allelik dengesizliğin ortaya konmasıyla birlikte önem kazanmıştır<sup>44, 50</sup>. Yapılan diğer çalışmalarda, her ne kadar zayıf olsa da lokusun karşılıklı bölgelerindeki gen çiftleri arasında anlamlı dengesizlik paternleri gözlenmiştir. Genel olarak bugüne kadar gözlenebilmiş bağlantı dengesizlikleri genler arasındaki fiziksel uzaklıklarla uyumlu olarak ortaya çıkmıştır.

### **KIR Gen Dizileri**

EMBL ve Nükleotid Dizi Veritabanında (EMBL Nucleotide Sequence Database; EMBL-Bank) 100'ün üzerinde KIR dizisi bulunmaktadır. Bunların bir kısmı parsiyel cDNA veya genomik dizilere sahip olmakla birlikte, bir kısmı ise tam uzunluğa sahiptir. Gen bankasında tanımlanmış fakat yeri belirlenmemiş

her KIR dizisi bilinen diziden % 2'den az farklılık gösteriyorsa özgül bir KIR geninin alleli olarak tanımlanır<sup>4, 50</sup>.

### **KIR Genlerinin Ekzon ve İntron Yapıları**

Farklı KIR genlerinin ekzon ve intron yapılarının dizilimi temel düzenleme ile son derece uyumludur: sinyal dizisi ilk iki ekzon tarafından, her Ig bölgesi (N terminal uçtan başlayarak D0, D1 ve D2) uygun olan tek bir ekzon tarafından (sırasıyla ekzon 3-5), bağlantı ve transmembran bölgelerinin her biri ise tek bir ekzon tarafından (ekzon 6 ve 7) ve sitoplazmik bölge ise son iki ekzon tarafından kodlanmaktadır<sup>50</sup>.

KIR2DL1, 2DL2, 2DL3 ve tüm 2DS genleri (tip 1, iki- domainli KIR genleri) KIR moleküllerini üç Ig bölgesi ile kodlayan identik bir genomik dizilime sahiptirler. Bununla birlikte bu iki-domainli KIR genlerinde bulunan ekzon 3, üç baz çiftinin delesyonundan dolayı sıklıkla çerçevede kalsa bile, sonuç olarak kesilen bir psödo ekzondur. Tüm NK hücreleri en az bir tip 1 iki-domainli KIR eksprese etmektedir<sup>56</sup>. 2DL4, 2DL5A ve 2DL5B yi içeren tip 2, iki-domainli KIR'lar ise ekzon 4 ün olmaması ile karakterizedir ve bunların protein ürünlerinde D1 domaini bulunmamaktadır. 3DL3 geni, ekzon 6 nın olmaması dışında, diğer 3 domainli genler ile benzerlik göstermektedir. İki KIR psödogeni tanımlanmış ve adlandırılmıştır. Bu psödogenlerden KIR2DP1 (KIRZ), KIR 2DL2 ve 2DL1 genleri ile yakın ilişkilidir (nükleotid düzeyinde 97% nin üzerinde homoloji göstermektedir) ve iki psödoekzon (3. ve 4. psödoekzon) içermektedir. 2DP1'in psödoekzon 3'ü tip 1 iki-domainli KIR genleri ile aynı sapmayı göstermektedir. 2DP1'in psödoekzon 4'ü ise çerçeve kayması sonucu stop kodonunun ortaya çıkmasına yol açan tek baz çifti delesyonuna sahiptir<sup>50</sup>.

İkinci KIR psödogeni, 3DP1 (KIRX) in ise ucu kesilmiş olup, genin değişik formları ekzon 2'nin ortadan kalkmasına yol açan 1,5 kb'lık delesyon ile birbirlerinden farklılık göstermektedirler<sup>39</sup>.

### **KIR Ekspresyonu ve KIR Repertuarının Devamlılığı**

NK hücrelerinin klonal olarak dağılmış KIR repertuarı ürettiği ve bunu değişik NK hücreleri üzerindeki yeniden düzenlenmesi olmayan değişik KIR gen grupları oluşturarak yaptığı gösterilmiştir. Genel olarak bireyin sahip olduğu tüm KIR genleri rastgele oluşmaktadır<sup>37</sup>. İki ya da daha fazla KIR geninin olası tüm kombinasyonları farklı NK hücrelerinde eksprese edilebilir. KIR kombinasyonlarındaki farklılık 2 faktörle sınırlanabilmektedir<sup>43</sup>. Bunlardan



birincisi bütün NK hücrelerinde KIR2DL4'ün ekspresyonudur, diğeri de bütün NK hücrelerinde (self) HLA Sınıf I antijenine özgül en az bir adet inhibitör NK hücre reseptörü olmasıdır. Self HLA Sınıf I ligandlarıyla NK hücrelerinin inhibisyonu uygun inhibitör KIR eksprese edilmediğinde lektin benzeri inhibitör reseptör olan CD94: NKG2A ile gerçekleştirilebilir<sup>50</sup>.

Farklı KIR ekspresyon paternlerinin oluşmasında KIR genlerinin promotor bölgesinde genetik olarak kodlanmış düzenleyici mekanizmaların yanı sıra epigenetik mekanizmaların da rol oynadığı düşünülmektedir<sup>57</sup>. Örneğin DNA metilasyonu bireysel hücrelerde farklı gen ekspresyonu için gereklidir. Yapılan çalışmalarda KIR genlerinde sitozin guanin dinukleotidlerin kümeleşme yaptığı bölgeler (CpG adaları) tanımlanmıştır<sup>58</sup>. Bu CpG adaları 2DL4 dışında eksprese olan tüm KIR genlerinde ortak yapıya sahiptir. KIR genlerinin metilasyon durumu transkripsiyonel aktiviteleri ile korelasyon göstermektedir. Yüksek metilasyon gösteren CpG adaları eksprese olmayan KIR'larda bulunmakla birlikte, eksprese olan KIR'ların metilasyona uğramadığı gözlenmiştir. Bu korelasyon hem NK hücre serilerinde hem de taze elde edilmiş NK hücrelerinde gözlenmiştir<sup>58</sup>.

De novo KIR ekspresyonu NK hücrelerinde ve T hücre alt gruplarında uyarılabilmekteyken diğeri hücre tiplerinde bu olay gerçekleştirilememektedir. Bu da bize NK ve T hücrelerinde diğeri hücrelerde bulunmayan KIR'a özgü transkripsiyon faktörleri olduğunu düşündürmektedir<sup>59</sup>.

KIR moleküllerinin yüzey ekspresyonu genetik olarak ta kontrol edilmektedir. Örneğin inhibitör reseptör olan 3DL1'in, 3DL1\*004 allelik formunun D0'daki 86. ve D1'deki 182. pozisyonlardaki kritik bölgelerdeki değişimlerden dolayı molekülün hücre yüzeyinde ekspresyonu gerçekleşmemektedir<sup>60</sup>. Bu allelik formda 3DL1 molekülleri intrasellüler olarak bulunmaktadır.

### **KIR'ların Transplantasyondaki Önemi**

#### **KIR ve Hematopoetik Kök Hücre Transplantasyonu**

KIR-MHC uyumsuzluğu NK hücre aktivasyonuna yol açar ve MHC uyumsuz olan hücre yok edilir. HLA tam uyumlu olmayan transplantasyonda çok sayıda alloreaktif NK hücresi oluşumu akut GvHH gelişiminde etkilidir. NK hücrelerinde bulunan KIR reseptörlerinin diğeri hücrelerle tam uyumlu MHC tip I molekülü yoluyla etkileşmesi ise NK hücre üzerine inhibitör etki göstermektedir.

NK hücreleri alıcı immün sistemi hedefleyerek rejeksiyonu önlemede de etkili olurlar<sup>13</sup>.

NK hücreleri kendine toleranslı olmakla beraber, HLA ekspresyonunun düzenlenmesinin bozulmasına yol açan malign hücreler ve viral olarak enfekte hücrelerin tanınmasında allogenik hücrelerin HLA ligand yokluğunu saptayabilir. NK hücrelerinin doğuştan bir alloreaktif repertuarının varlığının hematopoietik kök hücre naklinde (HKHN) bu hücre tipi için önemli işlevler gördüğü ileri sürülmüştür<sup>61</sup>. Murin türü LRC KIR genlerine sahip olmamasına rağmen işlevsel anlamda eşit görünen Ly49 reseptörleri bu alloreaktif yanıtta sorumludur. Polimorfik insan NK reseptörlerinin tanımıyla birlikte insan popülasyonundaki benzer etkilerin olabileceği düşünülmüştür<sup>62</sup>. Hematopoietik kök hücre nakli, miyeloplastik sendromlar ve hematolojik tümörlerin bazı tipleri için tedavi edici bir terapidir. Ayrıca otoimmün hastalıklar ve bazı solid tümörler için bir tedavi olarak kabul görmüştür. İnsanda MHC polimorfizmin yüksek düzeyde olmasından dolayı bir hematopoietik kök hücre transplantasyonunda donör için en iyi aday HLA-uyumlu-kardeştir. Bu durum hastaların yaklaşık %25'inde mümkün olabilmektedir<sup>63, 64</sup>. Hasta ve donörün HLA C uyumsuzluğu graft rejeksiyonu ve akut GvHH sıklığında artış ile karakterizedir ki bu NK hücrelerince yönetilen allo-tanıma işaret eder<sup>65</sup>. İlgili HLA ligandlarında hasta KIR genotipine göre uyumsuzluk nakil sonuçları üzerine bazı etkiler yapmıştır<sup>9</sup>. Bu etkileri sıralayacak olursak birincisi alloreaktif donör NK hücrelerinin GvHH'yi hasta dendritik hücrelerinin selektif olarak öldürülmesi ile azaltması, ikincisi hasta T hücrelerinin öldürülmesi ile graft rejeksiyonunun önlenmesi ve üçüncüsü ise rezidüel alıcı tümör hücrelerinin tahrip edilmesi ile Graft versus Lösemi olarak özetlenebilir<sup>10</sup>. Yapılan araştırmalarda akut miyeloid lösemide hastalıksız sağkalımda da yararlı NK hücre etkileri görülmüş ama akut lenfoid lösemi hastaları için bu mümkün olmamıştır<sup>66</sup>. Küçük bir grup hasta üzerindeki genetik çalışma GvHH'in gelişimi ile KIR2DS aktivatör reseptör varlığı arasındaki ters ilişkiyi ortaya koymuştur<sup>67, 68</sup>.

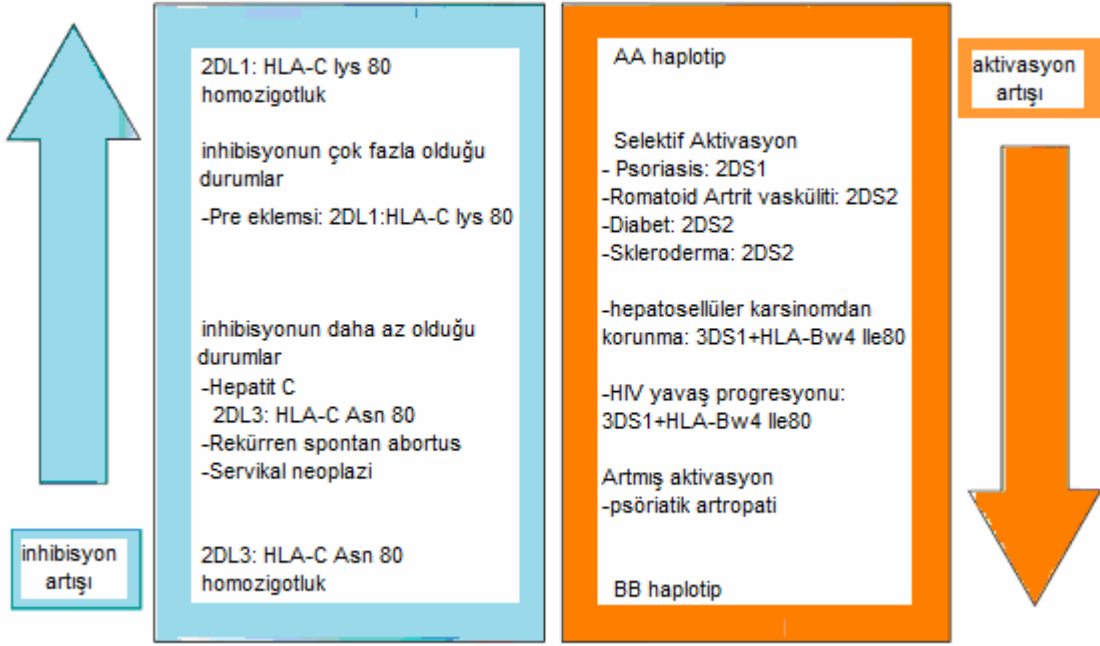
### **KIR ve Solid Organ Transplantasyonu**

Böbrek transplantasyonu da dahil olmak üzere tüm solid organ transplantasyonları için hayvan modellerinde yapılan deneysel çalışmalarla NK hücrelerinin rolü ortaya konmaya çalışılmaktadır<sup>3</sup>. Akut redde NK hücrelerinin sayısının arttığı gösterilmiştir. Değişik lökosit belirteçleri kullanılarak NK

hücrelerinin erken dönem redde renal grefti infiltre ettiği, bu dönemi takiben T hücre ve makrofajların akınının izlediği bildirilmiştir<sup>49</sup>. Deneysel hayvan modelleri ile yapılan çalışmalarda kronik vasküler red ile organların reddinde NK hücrelerinin önemli bir rolü olduğu ileri sürülmüştür. KIR2DS2 ve onun HLA-C ligandları vasküler sorunların gelişimi için bir risk faktörüdür ve NK hücreleri doğrudan aktif olan vasküler endotel hücrelerince tanınmaktadır<sup>11, 69</sup>. KIR moleküllerinin NK hücreleri dışında T hücre alt grupları üzerinde de eksprese olmaları nedeniyle kronik redde de etkili oldukları düşünülebilir. KIR'lar vaskülerize organ greftleri derinliğine çalışılmamıştır. Deneysel hayvan modellerinde NK hücrelerinin KIR'lar aracılığı ile redde rol oynadığı ileri sürülmüştür. Benzeri rolün kronik vasküler redde de olabileceği rapor edilmiştir<sup>12, 13, 68</sup>.

### **KIR'ların Hastalıklardaki Rollerini**

KIR genlerinin niteliklerinin belirlenmesi ve haplotiplerinin tanımlanması çok yeni olduğu için bu genlerin özgül hastalıklarla ilişkisini gösteren kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır. NK hücrelerinin KIR reseptörlerini kodlayan genlerinde ortaya çıkan bazı farklılıkların çeşitli hastalıklarla ilişkili olduğu ortaya çıkmıştır. KIR reseptörlerinin hastalıkla bağlantısıyla ilgili genetik çalışmalarda viral enfeksiyonlar ve otoimmün hastalıklar başı çekmektedir<sup>13</sup>. MHC ile otoimmün hastalık bağlantısı özgül KIR'ların bu hastalık gruplarıyla da ilişkide olabileceğini düşündürmektedir. KIR'ların ayrıca gebelik ve hematolojik hastalıklarda da önemli rol oynayabileceğini gösteren bulgular vardır (şekil 15)<sup>70, 71, 72</sup>. KIR reseptörlerindeki farklılıklar ve bu genlerin işlevleriyle ilgili ipuçları genelde fare Ly49 geninde yapılan çalışmalarla ortaya çıkmaktadır.



**Şekil 15:** KIR genlerinin farklı hastalıklarla ilişkisini gösteren şematik resim<sup>13</sup>.

## KIR ve Enfeksiyon Hastalıkları

### Viral Enfeksiyonlar

NK hücrelerinin viral enfeksiyonlardaki önemli rolü, KIR ve HLA sınıf I ligandlarının özellikle insan immün yetmezlik virüsü (Human Immunodeficiency Virus; HIV), hepatit C virüsü (HCV) ve sitomegalovirüs (CMV) enfeksiyonlarında araştırılmasına neden olmuştur<sup>73, 74, 75</sup>.

### HIV

HIV'le enfekte bireylerde HLA Bw4 (KIR3DL1 ve KIR3DS1 ligandı) homozigotluğunun CD4+ T hücre sayısındaki azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. HIV ile enfekte olan binden fazla bireyin analizinde; KIR3DS1 genotipi ve HLA-Bw4+ alellerinin bir alt kümesi MHC sınıf I ağır zincirinin 80. pozisyonunda izolösine sahip (Bw4ile80) aktifleştirici KIR-HLA birlikteliği, bu birlikteliği olmayana göre daha yavaş ilerlemektedir<sup>76</sup>. Bw4ile80'in yokluğunda KIR3DS1, bu iki alellin sinerjik etkisini gösterdiğinden koruyucu değildir<sup>77</sup>. Şimdiye kadar KIR3DS1'in yüzey ekspresyonu tam olarak kanıtlanmamıştır; buna rağmen işlevsel deneylerde KIR3DL1 allotipleri için bir ligand olarak Bw4ile80'in Bw4+'den daha güçlü olduğu görülmektedir. Yapılan çalışmalarda HLA-Bw4'ün etkisinin AIDS'in ilerlemesi için engelleyici bir faktör olduğu bulunmuştur. HIV enfeksiyonunda ortaya çıkan bu durumun NK hücreleri mi

yoksa T hücreleri üzerindeki KIR3DS1'in mi ekspresyonu olduğu net değildir. T hücre reseptörüne karşı oluşturulan sinyaller, KIR-HLA etkileşimleriyle düzenlenebilmektedir<sup>13</sup>.

KIR3DSI aktiveleştirici reseptörü ile HLA-B allelinin birarada olması HIV-1 enfekte AIDS hastalarında gecikmiş progresyona neden olmaktadır. Bu bulgular, daha önce belirlenen HLA-Bw4 homozigot kişilerde HIV-1 ile oluşan viremi ve AIDS progresyonundan korunma bulgusu ile uyum göstermektedir.

### **Hepatit C Virüsü (HCV)**

Hepatit C ile enfekte hastalarda KIR ve HLA genotiplerinin incelenmesiyle inhibitör reseptör KIR2DL3'ün HLA-CAsn80 ile birlikteliğinin koruyucu reseptör ligand çifti olduğu gösterilmiştir, ancak bu koruma sadece enfeksiyonun düşük olduğu ve genlerin homozigotluğu olan bireylerde desteklenmiştir<sup>78</sup>. Bu, HCV'de koruma için sayısal bir model oluşturmakta ve hem KIR2DL3 hem de HLA-CAsn80 için homozigot olan bireyler KIR2DL2/KIR2DL3 için heterozigot olan bireylerden sayıca daha fazla KIR2DL3 korumasıyla inhibe olan NK hücrelerine sahiptirler<sup>72</sup>. Bireylerin yaklaşık %99'unun KIR2DL1-pozitif olmasından dolayı HLA-CAsn80/HLACLys80 için heterozigot bireyler, KIR2DL1 tarafından inhibe edilmiş NK hücre havuzuna sahiptirler. Bu sonuçlar aynı zamanda, koruyucu etkinin NK hücrelerinde T hücrelerine göre daha belirgin olduğunu açıklamaktadır.

Hepatit C ile enfekte hastalarda enfeksiyonun çözülmesinde 2DL3 homozigotluğu ve iki grup 1 HLA-C allel varlığının etkili olduğu gösterilmiştir<sup>68</sup>.

### **Sitomegalovirus (CMV)**

NK hücre yetersizliği olan bireyler herpes virus enfeksiyonuna yatkındırlar. NK hücreleri CMV enfeksiyonlarında hızlı ve efektif immün yanıt oluşumu için gereklidir<sup>79</sup>. Bununla birlikte, bu virüsün MHC sınıf 1 ekspresyonunu tetikleyen mekanizmaları olmasına rağmen CMV ye immün yanıtta rol oynayan özgül bir KIR tanımlanamamıştır<sup>80</sup>. NK hücrelerinin tümünde KIR2DL1 eksprese edilen bir bireyde CMV'nin de içinde bulunduğu yinelenen enfeksiyonlar görülmüştür<sup>81</sup>.

NK hücre aktivasyon reseptörü Ly49 H ile ilgili araştırmalar bu reseptörün fare sitomegalovirusüne karşı geliştirilen direnç de yaşamsal rol oynadığını göstermektedir. Fare sitomegalovirüs proteini m157'nin NK hücre aktivasyon

reseptörü Ly-49 H'nin ligandı olduğu saptanarak reseptörün dirençle ilgili rolü doğrulanmıştır<sup>82, 83</sup>.

### **KIR ve Gebelik**

NK hücrelerinin gebe uterusun desiduası ve fetal trofoblastın implantasyonu ile aynı zamanda gerekenden daha fazla sayıda oldukları bulunmuştur. Yetersiz plasentasyon, yükselen kan basıncı ve idrarda protein, epileptik hastalık atakları, gelişen fetus ve anne ölümü ile karakterize edilen eklampsiye neden olan bir mekanizmadır. Yeterli plasentasyonun üremede önemli olduğu ve NK hücrelerinin bu işte önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir. Trofoblast maternal NK hücre işlevlerini düzenleme potansiyelini gösteren NK hücre reseptörleri, HLA-A ve HLA-B'den çok HLA-C,-E ve -G için HLA sınıf 1 ligandları ile ilişkidir<sup>84, 85</sup>. Maternal KIR ve fetal HLA tipleri için çalışmalar bu genlerin pre-eklampsinin gelişimi için risk faktörleri olabileceğini öne sürmektedir. Pre-eklampsi çalışmasında, A haplotipi hastalığın gelişimiyle düşük derecede korelasyon göstermektedir; bu düşük korelasyon en azından bir HLA-CLys80 alelli içeren fetus korteksinde güçlendirilmiş olarak bulunmuştur. KIR2DL1: HLA-CLys80 etkileşiminin daha güçlü bir inhibisyon yaptığı bulunmuştur<sup>86</sup>. Bunun yanı sıra, annede sunulan KIR genlerinin aktive edilmesinin ve pre-eklampsinin geneli arasında bir ilişki izlenmiştir. Bu veri aynı zamanda güçlü inhibitör sinyallerin ve zayıf aktivatör sinyallerin preeklampsi ile ilişkili olduğunu göstermektedir<sup>87</sup>. Çünkü popülasyon analizi AA KIR ve HLA-CLys80 haplotipleri arasında bir uyum olduğunu göstermektedir. Bütün sonuçlara bakılırsa, bu mekanizma KIR2DL1: HLA-CLys80 'in KIR2DL3: HLA CLys80'e göre daha kuvvetli inhibitör sinyal gönderdiği hipotezi üzerine kurulan Hepatit C modeline yakın bir mekanizma olarak görülmektedir. Eşler arasında ortak HLA sayısındaki fazlalık tekrarlayan spontan abortusla ilişkili bulunmuştur. Özellikle HLA DQA1\*0505'in eşler arasında ortak olmasıyla tekrarlayan spontan abortusda artış olduğu görüşü son çalışmalarda tartışmalı hale gelmiştir<sup>13</sup>.

## **KIR ve Otoimmün Hastalıklar**

### **Romatoid Artrit**

KIR2DS2 molekülü CD4+ CD28- sitotoksik T hücrelerinde eksprese olduğundan Romatoid vaskulit gelişiminde anlamlı şekilde artış gösterir. KIR aktivasyonunun uygun sinyalleşmesinde adaptör molekül olan sitotoksik hücre aktivasyon reseptörü bağlantılı protein (KARAP) / DAP-12 doğrudan KIR2DS2 ile aktiveleştirilebilir. Bu inflamatuvar reaksiyonu sürdürmek için başka bir mekanizma önerilmektedir. Romatoid artritli bireylerin bir alt grubunda romatoid vaskulitle KIR2DS2 (aktifleştirici bir KIR) arasındaki ilişkiye işaret edilmektedir. Bu çalışmalar, KIR'ın asıl olarak NK hücreleri üzerinde açıklanmasına rağmen, T hücrelerini değiştirmek için ekstra özelliklere sahip olduğunu ve böylece kazanılmış immün yanıtı direkt olarak etkilediğini açıklamaktadır<sup>71</sup>.

### **Tip I Diabetes Mellitus**

Diyabetiklerde KIR2DS2 ve KIR2DL2'nin kontrollere göre azaldığı saptanmıştır. Tip I diyabetlilerdeki otoreaktivitenin nedeninin inhibitör KIR ile regülasyonun olmadığı durumlarda aktivatör KIR frekansında artma olduğu düşünülmektedir. Aktivatör KIR molekülleri, özgül HLA ligandlarının olduğu durumlarda, T hücre mediatörlüğündeki immün yanıtın hızlı indüksiyonunu sağlamaktadır. Tip I diyabetin aktivatör KIR'ların kostimülasyonu ile aktiveleşen T hücreleri aracılığıyla başladığı düşünülmektedir. Buna ek olarak yapılan çalışmalarda HLA allelleri açısından yüksek risk taşıyan bireylerde KIR2DS2-HLA ligand çiftlerinin, inhibitör KIR-HLA ligandı olmadığı durumlarda tip I diyabet gelişimi için ek risk oluşturduğu gözlenmiştir. KIR ve HLA sınıf I ligandlarının genetik dengesizliğinin T hücrelerinin pankreatik hücre antijenlerine karşı olan ilgisini arttırdığı ve bu şekilde tip I diyabetin patogeneğinde rol aldığı düşünülmektedir<sup>88</sup>.

### **Psoriasis Vulgaris**

Psoriasis vulgaris HLA sınıf I molekülü Cw6 ile ilişkili bir deri hastalığıdır. HLA sınıf I alelli HLA-CLys80 grubunun bir elemanı olup, KIR2DS1 (aktivatör) ve KIR2DL1 (inhibitör) için bir ligandır<sup>89</sup>. Psöriatik artirit, HLA-Cw6 birlikteliğini paylaşan benzer bir patolojidir ve bu hastalığın fenotipini değiştiren ekstra genetik bileşenlere sahiptir. Psöriatik artropatili bireylerde yapılan geniş bir çalışmada bu hastalığın aktivatör reseptörü etkileyen KIR ve HLA sınıf I haplotipleriyle ilişkili olduğunu öne sürmektedir<sup>90</sup>. Bu modelde, aktifleştirici KIR

reseptörlerinden birine sahip ve C1 ya da C2 grubu HLA C ligandlarını homozigot olarak taşıyan bireylerde psöriatik artropati oluşma riski yüksek bulunurken, aktifleştirici KIR reseptörünü hiç taşımayanlarda hastalığın oluşma riski yok denecek kadar azdır<sup>91</sup>.

### **Behçet Hastalığı**

Behçet hastalığı (BH) oral ve genital aftöz ülserasyonlar, üveit ve deri lezyonları ile karakterize inflamatuvar bir hastalıktır. Etyopatogenezi yeterince bilinmemektedir. Bazı mikrobiyal ajanlarla birlikte diğer çevresel etkenlerin ve bazı genetik faktörlerin de neden olduğu immunolojik anormallikler hastalığın ortaya çıkmasında önemli bir rol oynar. Doğal öldürücü hücreler sitotoksik aktiviteleri ve sitokin üretmeleri sayesinde immunolojik açıdan önemlidir. BH'da hastaların periferik kanında artmış sayıda NK hücresi (daha düşük aktiviteli) olduğu bildirilmektedir<sup>92</sup>.

### **Hematolojik hastalıklar**

KIR'ların hematolojik hastalıklardaki rollerinin genetik ve fonksiyonel çalışmalar ile ortaya konulması ile bazı hastalıkların tanı, patogenez, prognoz ve tedavi aşamalarında yol gösterici olabileceği gösterilmiştir. Hematolojik malignansilerle ilgili az sayıda çalışma bulunmaktayken, kemik iliği transplantasyonu ile ilgili daha kapsamlı çalışmalar bulunmaktadır<sup>13</sup>.

### **Büyük Granüler Lenfositik Lösemi (LGL)**

Bu hastalıkta KIR'lar klonlaşmanın belirteci olarak görev almakta ve hastalığın patogenezinde rol aldıkları düşünülmektedir. Büyük granüler lenfositik lösemiler, sitotoksik T hücrelerinin (T-LGL) veya Natural Killer hücrelerinin (NK-LGL) klonal proliferasyonu ile ortaya çıkmaktadır (97). Hastalık durumunda efektör bellek T hücreleri CD45RA+CD27-CD28-CCR7- hücrelerine dönüşürler. Sağlıklı kişilerde bu subpopulasyonlarda T hücreleri KIR ekspresyonu yapmaktadır. T-LGL olgularının % 48'inde CD158a'nın (KIR2DL1 veya KIR2DS1), CD158b'nin (KIR2DL2, KIR2DL3, veya KIR2DS2), CD158e'nin (KIR3DL1) antikoru olan tek KIR ekspresyonu gösterilmiştir. Bu da T-LGL olgularında klonal çoğalmayı desteklemektedir(99). T-LGL hastalarında eksprese edilen KIR için HLA sınıf I ligandı bulunmayanlarda<sup>93</sup> splenomegali, sitopeni görülmekte ve tedaviye ihtiyaç duyulmakta iken, KIR-MHC sınıf I uyumu olan bireylerin ise asemptomatik seyrettiği bildirilmektedir.



NK-LGL'de ise hastaların % 36'ında KIR görülmekte ve klonal olarak eksprese olmaktadır. Zambello ve arkadaşları onsekiz NK-LGL vakasının onbirinde hücre yüzeyinde eksprese olan KIR'ları özgül mAb boyanması ile göstermişlerdir. Vakaların onüç tanesine genotipleme yapılmış ve hiçbirinde inhibitör grup A haplotipi için homozigotluk saptanmamış fakat heinde sıklıkla B grup haplotiplerinde bulunan en az bir aktiveleştirici KIR saptanmıştır. Buna ek olarak yedi hastadan işlevsel data biriktirilmiş ve hepsinin aktiveleştirici KIR fonksiyonu sergilediği görülmüştür<sup>94</sup>.

### **Kutanöz T Hücreli Lenfoma**

Kutanöz T hücreli lenfomalar, mikozis fungoides, sezary sendromu ve CD30+/- pleomorfik T-hücreli lenfomayı da içine alan, deri tutulumu ile giden heterojen grup lenfomalardır. Yapılan çalışmalarda sezary sendromlu hastalarda CD4+ tümör hücrelerinde selektif KIR3DL2 (CD158k/p140) ekspresyonu olduğu görülmüştür<sup>95</sup>. Yine mikozis fungoidesli hastalarda CD158k'nın in situ CD4+ klonal hücreleri ayırabildiği gösterilmiştir<sup>96</sup>. Bu inhibitör reseptörün bu hastalıktaki rolü hala tam olarak açıklanamamış olmasına rağmen, ileride değerli bir tanı markerı olabilir.

### **Akut Myeloid Lösemi (AML)**

Bu hastalığın patogenezinde KIR'ların rolünü gösteren sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. KIR2DL2 ve KIR2DS2 ile lösemi gelişimi arasında ilişki olduğu bildirilmiştir. AML hastalarında tüm inhibitör reseptörler ve sadece iki aktiveleştirici reseptörünün (KIR2DS2 ve KIR2DS4) bulunduğu özgül bir KIR birlikteliği bildirilmiştir<sup>13</sup>.

### **Solid Tümörler**

NK hücreleri, pek çok farklı tümör hücrelerinin ortadan kaldırılmasında ve bazı tümörlerde MHC sınıf I ekspresyonunu azaltarak anti-tümör immün yanıtın ortaya çıkmasında görev almaktadır. Genetik düzeyde KIR'lar viral enfeksiyonlarla ilişkili maligniteler üzerine etkilidir. Örneğin insan papilloma virüsünün neden olduğu servikal neoplazilerde HLA ve KIR genotiplerinin aktivasyonla ilişkili olduğu bilinmektedir. Güçlü inhibitör KIR:HLA reseptör ligand ilişkisi ile (HLA-CLys80 homozigot ve HLA-Bw4) hastalık koruyuculuğunun yüksek olduğu buna karşılık aktiveleştirici reseptör KIR3DS1 içeren haplotip ve bunun zayıf ilişkiye girdiği HLA ligandlarının (HLA-CAsn80 homozigot ve HLA-Bw4-) varlığı durumunda ise hastalığa yatkınlık artmaktadır. Bu sistemde

KIR3DS1'in genetik belirteç olabileceği düşünülmele birlikte aktifleştirici diğer haplotiplerin de hastanın viral enfeksiyon sonrası inflamasyonunun artmasına ve bu şekilde kansere yatkınlığın artmasına yol açtığı öne sürülmüştür. Kronik hepatit C sonrası ortaya çıkan hepatosellüler karsinomda ise KIR3DS1'in HLABw4Ile80 ile kombinasyonu sonucu Hepatosellüler karsinoma karşı koruyuculuk olduğu bildirilmiştir<sup>97</sup>.

Yine malign melanoma'da HLA-CLys80– homozigot olan ve KIR2DL1: HLA-C çiftleşmesi olan bireylerde göreceli koruyuculuk görülmektedir<sup>98</sup>.

Hepatosellüler karsinomu infiltre eden NK hücreleri sağlıklı karaciğerde bulunan NK hücrelerinden daha az miktarda KIR ve NKG2A ekspresyonu yapmaktadır<sup>99</sup>. Düşük KIR- ve NKG2A- ekspresyonunun tümör büyümesinin kontrolünde görev aldığı düşünülmektedir.

Tümör infiltrasyonu yapan T lenfositlerdeki, inhibitör KIR ekspresyonu, T lenfosit işlevlerini düzenlemekte ve kanser hücrelerinin öldürülmesini sağlamaktadırlar<sup>100</sup>. Soluble ligandların NK ve T hücrelerinin yüzeylerinde bulunan MIC-A ve –B ye bağlanması için ortama salınması ile bu hücrelerin tümörler ile olan bağlantısı bloke edilerek bu şekilde normal reseptör düzeyine sahip NK hücrelerin aktivasyon ve inhibisyon dengesi sağlanır<sup>101</sup>.

### **Populasyon Genetiği**

Populasyon genetiği populasyonun özelliklerini, bu özellikleri belirleyen genleri ve genlerin dağılımını inceleyen bir genetik bölümdür. Populasyon genetiğinin amacı bir populasyonun genetik içeriğini, yani genetik varyasyonun derecelerini ve bu içeriği belirleyen-değiştiren güçleri anlamaktır.

Populasyon genetiği populasyonu oluşturan bireylerin genetik özelliklerinin populasyonda ortaya çıkma sıklığını araştırır. Bu nedenle birçok bireyin genetik özellikleri üzerinde çalışır. Populasyonlar da insanlar gibi dinamik bir yapıya sahiptir. Dolayısıyla bu topluluklar da değişik etkilere yanıt verme özelliğine sahiptirler. Kişilerden farklı olarak değişik parametrelerle tanımlanırlar. Bu parametreler; yoğunluk, farklı dağılım, doğum hızı, ölüm hızı ve allel sıklığı gibi özelliklerdir. Populasyon kişilerden farklı olarak farklı özellik gösterir. Genetik bilginin tümünü taşıyan populasyona “gen havuzu” denir.

Populasyon, aynı türe ait, aynı coğrafyada yaşayan ve potansiyel olarak birbirleri ile eşleşebilen bireylerden oluşur. Çalıştığımız türün genomunda tek bir genetik lokusu göz önüne alırsak, populasyon içindeki farklı bireylerin farklı

genotiplere sahip olduklarını görebiliriz. Populasyonun belirli bir genotipe sahip kısmına genotip frekansı denir.

Populasyonlar dinamik bir yapıya sahiptir. Doğum-ölüm oranlarındaki değişimlerle, göçle ve diğer populasyonlar ile karışarak büyüebilir ve genişleyebilir ya da küçülebilir. Populasyonların dinamik doğasının önemli sonuçları vardır ve bu dinamik doğa zamanla populasyonun genetik yapısındaki değişikliklere yol açabilir<sup>102</sup>.

### **Populasyonlarda Hardy-Weinberg Dengesi**

Hardy-Weinberg kanunu belirli varsayımlar altında allel frekanslarının nesilden nesile değişmediğini göstermektedir. Bu varsayım gerçek populasyonların karşılaştığı birçok karmaşık durumun bulunmadığı ideal bir populasyonda gerçekleşebilir.

Hardy-Weinberg kuralına göre bir populasyonda bulunan bireyler, diploid ise, erkek ve dişilerde gen frekansları aynı ise (X üzerinde yok), jenerasyonlar overlapping değil ise (ebeveyn ile yavru jenerasyonu çiftleşmez), çiftleşme rastlantısal ise, populasyon büyüklüğü sonsuz ise, göç yoksa, mutasyon ve seleksiyon yoksa populasyonu oluşturan gen havuzundaki genlerin frekansı dölden döle sabit kalır ve bu tip populasyonlar kararlı (dengeli) populasyon adını alır. Hardy-Weinberg tarafından tanımlanan ideal populasyonlar, gen ve genotip frekansları açısından düzenlidir (stable) ve bir nesil süren rastgele eşleşmenin ardından genotip frekansları allel frekansından tahmin edilebilir. Populasyondan elde edilen verilerin Hardy-Weinberg dengesine uyumunun test edilmesi populasyon genetiği çalışmalarının geçerliliği için oldukça önem taşımaktadır.

Dengede olan populasyona ait faktörlerden biri veya birkaçının değişmesi durumunda populasyonun dengesi bozulur. Populasyondaki genlerin frekansı değişir<sup>102</sup>.

### **Populasyonlarda Gen Sıklığını Değiştirmeye Yönelik Etkenler**

Hardy-Weinberg kuralına göre populasyona ait gen havuzunda mutasyon, göç, seleksiyon, izolasyon görülmediği sürece gen havuzunun gen frekansı değişmez. Ancak, genellikle populasyondaki genlerin frekansı değişir. Populasyonda genlerin frekansının değişmesine etki eden faktörler; mutasyon, seleksiyon, genetik kayma, gen akımı, izolasyon ve rastgele olmayan evliliklerdir<sup>102</sup>.

## **Mutasyon**

DNA'da herhangi bir nükleotid yerine başka bir nükleotid gelirse ifade ettiği mRNA ve kodladığı protein yapısında farklılık gösterir. Dolayısıyla populasyon genetiğinde mutasyon denildiği zaman mutlaka protein zincirindeki değişiklikten bahsedilir. Mutasyonlar çok seyrek olarak görülür. Ancak toplumdaki gen sıklıklarını değiştirirler<sup>102</sup>.

## **Seleksiyon**

Mutasyonlar toplumun gen havuzuna yeni genleri dolayısıyla yeni fenotipleri sokma eğilimindedir. Mutasyonla ortaya çıkan nitelikler söz konusu kişi için zararlı, yararlı ya da ne zararlı ne de yararlı olabilir. Etkileri ne olursa olsun gen havuzuna yeni giren mutasyonlar bir süzgeçten geçirilir. Bunların bir kısmı bir sonraki kusağa geçmeden elenirler. Bir kısmı ise bir sonraki kuşakta etkilerini gösterebilirler

Seleksiyon, mutasyona uğramış genin normal allele göre sonraki kuşağa geçme olasılığıdır. Gen havuzundaki mutasyona uğramış genleri uzaklaştırmaya çalışan seleksiyon doğal olduğu kadar yapay yollardan da gerçekleştirilebilir<sup>102</sup>.

## **Gen akımı**

Toplumdaki gen sıklığı, büyük çapta görülen göçlerden etkilenmektedir. Herhangi bir özgün gruba dışardan katılan kişilerin etkisiyle gen havuzuna yeni genlerin eklenmesi gen akımını ortaya çıkarır. Büyük göçler, savaşlar ve değişik ırklardan kişilerin evlenmesi topluma yeni genlerin eklenmesini sağlar<sup>102</sup>.

## **İzolasyon (Ayrılma)**

İzolasyon, gen frekanslarının değişmesinde ve evrimde rol oynayan en önemli etmendir. Bir populasyonun diğer populasyonlarla genetik alışverişinin kesilmesine izolasyon denir. Populasyonları birbirinden ayıran en önemli etken coğrafi izolasyonlardır. Coğrafi izolasyon sonucu meydana gelen populasyonlar arasında gen alışverişi olmazsa populasyonlar yavaş yavaş farklı hâle gelir<sup>102</sup>.

## **Rastgele olmayan evlilikler**

Toplumda zararlı ya da yararlı resesif bir gen için hem homozigot hem de heterozigot kişiler bulunur. Eğer toplumdaki kişiler rastgele değil de, örneğin homozigotlar homozigotlarla, heterozigotlar heterozigotlarla evlenecek olursa doğacak homozigotların sayısı artmış olacaktır. Evlenecek kişilerin belirli kalıtsal özelliklere göre birbirlerini seçmeleri yani rastgele olmayan evlilik yapmaları gen

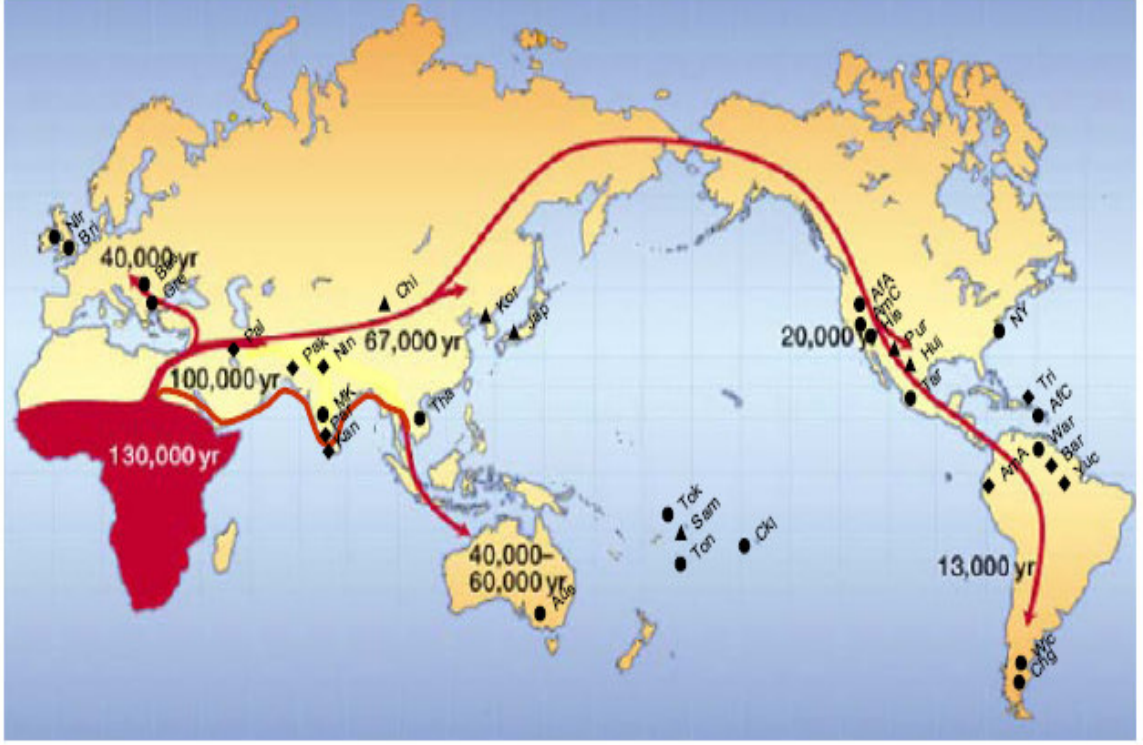
sıklığının değişmesine yol açar. Çünkü ister yararlı, ister nötr etkili olsun bir kişideki genler akraba evlenmeleri nedeniyle aile içerisinde kalır. Akraba evlilikleri aynı gen ya da genotiplere sahip kişilerin artmasına yol açar<sup>102</sup>.

### **Farklı Populasyonlarda KIR Gen Frekansları**

Populasyondaki KIR genotiplerinin farklılığının üç nedeni bulunmaktadır; bunlar haplotipik gen içeriği, allelik polimorfizmler ve maternal ve paternal haplotiplerin kombinasyonudur. Bu üç bileşenin birleşmesi ile akraba olmayan bireyler KIR genotipleri açısından farklılık ortaya çıkarır ve dünya üzerindeki farklı populasyonların çok farklı KIR genotip frekansına sahip olmasına yol açar<sup>8</sup>.

KIR gen farklılığına dayanarak dünya populasyonları altı geniş gruba ayrılmıştır: Afrikalılar, Kuzeydoğu Asyalılar, Meksikalılar, Native Amerikalılar, Asyalı Hintler ve Avrupalılar. Birbirinden ayrılan bu populasyonlar, tarih öncesi dönemde Afrika'dan başlayan üç büyük göç dalgasıyla açıklanmaktadır (şekil 16). Birinci göç yaklaşık 40,000–60,000 yıl önce Afrika'dan ilk çıkışın olduğu göç dalgasıdır. Bu göç dalgası, Afrika'dan başlayıp Suudi Arabistan, Hindistan, Güneydoğu Asya'ya ve Avusturalya'ya kadar uzanmaktadır. Afrika'dan başlayan ikinci göç dalgası yaklaşık 20,000 yıl önce gerçekleşmiş olup, orta Asya ve Çin'e kadar uzanmış oradan Behring Boğazı'ndan Amerika'ya geçerek, Güney Amerika'ya kadar uzanmıştır. Üçüncü göç dalgası ise Avrupa'ya uzanmaktadır. Bunun sonucu olarak Afrikalılarda ve Avrupalılarda Grup A ve B KIR haplotipleri eşit olarak dağılmıştır. Buna karşılık birinci ve ikinci göç dalgalarından etkilenen populasyonlar grup A ve grup B haplotiplerinin içeriği açısından farklılıklar göstermektedirler. İkinci göç dalgasının erken dönemlerinden etkilenen populasyonlar (Çinliler, Koreliler ve Japonlar yüksek oranda grup A haplotipi içerirler ve bu populasyonların çoğu tek bir aktivatör KIR geni taşırlar. Bu göç dalgasının geç dönemleri ise native Amerikalıları etkilemiş olup bu bölgelerde grup B haplotipi baskındır. Büyük göç alan populasyonlarda (native Amerika, Hindistan ve Avusturalya) grup B KIR haplotipleri ve Aktivatör KIR genlerinin frekansı yüksek olarak gözlenmiştir. İlginç bir hipotez olarak bu populasyonlardaki kazanılmış aktivatör KIR genlerinin büyük göçlerde bireylerin sağ kalabilmek için çevre ile mücadele edebilmesi amacıyla geliştiği düşünülmektedir. Bu çalışmalar sonucunda, modern populasyonların KIR dağılımlarının belirlenmesinde, tarih öncesi göç dalgaları ve bunun sonucu

olarak ortaya çıkan populasyon karışımlarının belirgin rol oynadığını çıkarabiliriz<sup>103</sup>.



**Şekil 16:** KIR genlerinin içeriği ile tarih öncesi göçlerin ilişkisini gösteren mitokondrial populasyon genetiğine göre hazırlanmış harita. Grup A ve grup B haplotiplerinin dağılımına göre populasyonlar 3 gruba ayrılırlar: dominant grup A haplotipleri taşıyan populasyonlar (haritada üçgen ile gösterilmiş), dominant grup B haplotipleri taşıyan populasyonlar (haritada kare ile gösterilmiş), ve eşit oranda AB haplotipi içeren populasyonlar (haritada daire ile gösterilmiş). Chi Han: Çin, Kor: Kore, Jap: Japon, Tha: Tayland, Gre: Yunan, Ckl: Cook Adası Sam: Samoan, Tok: Tokelau, Ton: Tongan, Bri: Britanyalı beyazlar, Aus: avustralyalı beyazlar, Nlr: Kuzey İrlandalılar, NY: New Yorklu beyazlar, AmC: Amerikalı beyazlar, His: Hispanikler, MK: Mollukurumba, Pal: filistinliler, Tri: Trinidad Asyalılar, Pak: Pakistani, Nln: kuzey Hindistanlılar, Par: Paravar, Kan: Kanikar, War: Warao, Bar: Bari, Yuc: Yucpa, Hui: Huichol, Pur: Purepecha, Tar: Tarahumara, Wic: Wichis, Chg: Chiriguanos, AmA: Amazon Amerindian, Bas: Bask populasyonu, AfA: Afrikalı Amerikalı, AfC: Afro-karaibliler<sup>103</sup>.

KIR allellerindeki ve haplotipik yapılarındaki bu farklılıklar, birbirinden farklı coğrafyalarda yaşayan değişik populasyonlara yansır. Yapılan

çalışmalarda, bu hipotez ile uyumlu olarak, farklı populasyonlarda, farklı KIR genotipleri ve gen frekansları olduğu görülmüştür (tablo 4). Özgül KIR haplotipleri ve iki major haplotipik grup, populasyonlar arasında etnik farklılıklar göstermektedir<sup>45, 55, 104, 105, 106</sup>. Grup A haplotipi beyaz ırkta ve japonlarda daha sık görülmekte iken (A haplotipi için % 50'nin üzerinde homozigotluk) . Buna karşılık Hindistanlılarda, Filistinlilerde, Güney Asyalılarda ve Afro-Karaiplilerde B haplotipinde predominans gözlenmiştir<sup>41</sup>. Örneğin A haplotipinin frekansı Japonlarda 75% iken Avusturalya Aborijinlerinde 15% oranındadır<sup>104, 105</sup>. Populasyon içi haplotip farklılığı en çok Güney Asya'da görülmekte iken<sup>55, 106</sup> en az farklılık Japonlarda görülmektedir<sup>105</sup>.

Günümüzde KIR genlerinin özellikle transplantasyon reddi ve hastalıklarla ilişkisini gösteren çalışmaların sayısının artmasıyla birlikte tüm toplumlarda bu konuyla ilgili populasyon taramaları yapılmaya başlanmıştır. KIR genleri ile ilgili birbirinden bağımsız olarak yapılan bu çalışmalar, 2003 yılında HLA için hazırlanmış olan bilgi bankasına eklenilerek bir araya getirilmiştir<sup>14</sup>. Bilgi bankasında 77 farklı populasyondan 274 farklı genotip, 267 farklı allel bulunmaktadır (EMBL nin bilgi bankasında genotip sayısı bildirilmemiştir, allel sayısı ise 292'dir). Populasyonlar arasında KIR haplotiplerindeki anlamlı farklılıkları belirlemek bu gruplar arasında hastalığa yatkınlıktaki varyasyonların belirlenmesi açısından önem taşımaktadır.

**Tablo 4:** Farklı popülasyonlarda yapılmış popülasyon taramalarının KIR gen frekansları (\* 2DS4\*003)

KIR gen	Yunan (n=233) %	Çek C. (n=125) %	Almanya (n=120) %	İrlanda (n=154) %	Hindistan (n = 72) %	Çin (n=104) %	Japonya (n=41) %	Aborjin (n=67) %	Filistin (n=105) %	Fransa (n=108) %	Guadelup (n=118) %	Senegal (n=90) %	Finlandiya (n=105) %	Lübnan (n =120) %	Meksika (n= 86 %
2DL1	89	95	93	98	88	99	100	72	83	97	100	100	100	99	100
2DL2	50	59	56	47	79	17	17	78	62	50	61	55	44	59	43
2DL3	88	86	87	90	65	99	100	65	85	91	84	90	96	88	100
2DL5	—	35	44	37	79	35	39	—	—	47	61	52	56	—	49
2DS1	43	43	37	38	54	33	34	82	44	36	38	13	43	41	42
2DS2	54	57	62	47	63	17	17	84	64	51	58	42	40	59	44
2DS3	37	36	28	30	43	13	17	81	37	31	33	24	24	38	17
2DS4*001-002	—	38	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2DS4	88	74*	98	98	81	94	96	81	88	96	98	100	94	95	98
2DS5	21	26	26	31	47	23	28	—	27	27	32	30	40	31	40
3DL1	90	94	96	98	88	94	97	57	88	96	99	99	94	96	99
3DS1	46	38	—	39	39	33	33	78	39	44	24	4	51	36	42
Kaynaklar	(107)	(108)	(48)	(109)	(106)	(110)	(105)	(104)	(108)	(41)	(41)	(41)	(41)	(111)	(112)



## Türk Toplumunda KIR Gen Frekansları

Hazırlanmış olan bilgi bankasında Türkiye'den, İstanbul Üniversitesinden yapılmış bir çalışma bulunmaktadır<sup>92</sup>. Çalışma Behçet hastalarında yapılmış bir çalışma olup, kontrol grubu popülasyon olarak alınmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre toplumumuzdaki KIR genotiplerine bakıldığında, 2DL1 2DL3 2DL4 3DL1 3DL2 3DL3 2DS4 dizili genotipin en sık görüldüğü (%27.2) belirlenmiştir. 2DL1 2DL2 2DL3 2DL4 3DL1 3DL2 3DL3 2DS2 2DS4 genotipi %13.6 oranında görülürken, en sık görülen 3. genotip 2DL1 2DL2 2DL3 2DL4 2DL5 3DL1 3DL2 3DL3 2DS2 2DS3 2DS4 olmuştur (görülme oranı: %11.6) (tablo 5). KIR Gen Frekansları incelendiğinde beklenildiği üzere 2DL4, 3DL2, 3DL3, 3DP1 her bireyde bulunan aleller olarak göze çarpmaktadır (tablo 6).

**Tablo 5:** Türk toplumundan bilgi bankasına girmiş olan çalışmada belirlenmiş olan KIR genotiplerinin oranları<sup>92</sup>.

																	Turkey KIR pop 2		
Group	ID	3DL1	2DL1	2DL3	2DS4	2DL2	2DL5	3DS1	2DS1	2DS2	2DS3	2DS5	2DL4	3DL2	3DL3	2DP1	3DP1	Popn	Oran
AA	1	1	1	1	1								1	1	1	1	1	57	27.27
AB	10	1	1	1	1					1			1	1	1	1	1	16	0.64
AB	15	1	1	1	1				1				1	1	1	1	1	13	0.64
AB	200	1	1	1	1		1						1	1	1	1	1	3	0.64
AB	36	1	1	1	1		1			1	1		1	1	1	1	1	5	0.64
AB	35	1	1	1	1		1		1			1	1	1	1	1	1	7	0.64
AB	33	1	1	1	1		1	1	1				1	1	1	1	1	7	0.64
AB	2	1	1	1	1		1	1	1			1	1	1	1	1	1	52	5.19
AB	8	1	1	1	1		1	1	1		1		1	1	1	1	1	34	0.64
AB	28	1	1	1	1		1	1	1		1	1	1	1	1	1	1	8	0.64
AB	12	1	1	1	1		1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	12	0.64
AB	19	1	1	1	1	1							1	1	1	1	1	11	0.64
AB	4	1	1	1	1	1				1			1	1	1	1	1	50	13.63
AB	31	1	1	1	1	1	1			1			1	1	1	1	1	7	0.64
AB	5	1	1	1	1	1	1			1	1		1	1	1	1	1	45	11.68
AB	9	1	1	1	1	1	1		1	1		1	1	1	1	1	1	32	2.59
AB	13	1	1	1	1	1	1	1		1	1		1	1	1	1	1	17	1.29
AB	242	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1		1	1	0.64
AB	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	49	4.54
AB	7	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	36	3.89
AB	6	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	41	3.89
BB	243		1			1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1	0.64
BB	81		1			1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9	0.64
BB	117		1	1			1	1	1		1		1	1	1	1	1	7	0.64
BB	75		1	1			1	1	1		1	1	1	1	1	1	1	15	0.64
BB	68		1	1		1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	32	1.29
BB	72	1			1	1				1			1	1	1		1	20	1.29
BB	76	1			1	1	1	1	1	1		1	1	1	1		1	13	0.64
BB	241	1	1			1	1	1				1	1	1		1	1	1	0.64
BB	236	1	1		1	1	1			1	1		1	1	1		1	2	0.64
BB	71	1	1		1	1	1			1	1		1	1	1	1	1	26	3.89
BB	91	1	1		1	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	7	1.29
BB	90	1	1		1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	14	1.29
BB	73	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	18	3.24
BB	244	1	1	1					1			1	1	1	1	1	1	1	0.64
BB	80	1	1	1		1	1	1	1			1	1	1	1	1	1	6	0.64

**Tablo 6:** Türk toplumunda görülen KIR genlerinin frekansları <sup>92</sup>.

KIR GEN FREKANSI	Frekans %
2DL1	98
2DL2	59,7
2DL3	85
2DL4	100
2DL5	55,2
3DL1	96
3DL2	100
3DL3	100
2DS1	36,4
2DS2	60,4
2DS3	35,1
2DS4	94,2
2DS5	28,6
3DS1	32,3
2DP1	96
3DP1	100

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

### Mersin İlinde Yaşayan Populasyonu Etkileyen Etkenler ve Populasyon Taramasına Uygun Örnek Seçimi

Bu çalışma, Temmuz 2007- Haziran 2008 tarihleri arasında Mersin ilinde gerçekleştirilmiştir. Mersin, Türkiye'nin güneyinde Akdeniz'e kıyısı bulunan Antalya ve Adana'nın ortasında yer almaktadır. Coğrafik olarak 36-37° kuzey enlemleri ve 33-35° doğu boylamları arasında bulunan ilin kara sınırı 608 ve deniz sınırı 321 km olup, yüzölçümü 15.953 km<sup>2</sup>'dir. Merkez dahil olmak üzere 10 ilçesi (Mersin merkez, Anamur, Aydincık, Bozyazı, Çamlıyayla, Erdemli, Gülnar, Mut, Silifke, ve Tarsus), 70 belediyesi ve 513 köyü bulunmaktadır (şekil 17). Toplam nüfusu 1.651.400, şehir nüfusu 999.220 (% 61) ve köy nüfusu 652.180'dir (% 39). 1950 yılından sonra Mersin ilinin nüfusu hızlı ve sürekli bir artış göstermiştir. Nüfus artış hızı ‰ 26.47, Mersin merkez nüfus artışı hızı ise ‰ 29.00'dur. Yaz aylarında kente 6 milyon kişi giriş yapmaktadır <sup>113</sup>.

Mersin tarih boyunca pek çok uygarlığa ev sahipliği yapmıştır. Bu bölgedeki ilk yerleşimler M.Ö. 6000-5500 tarihlerinde neolitik dönem ile başlamıştır ve sırasıyla Kalkolitik Dönem, İlk Tunç Çağı, Orta Tunç Çağında yerleşim merkezi olmuştur. Ayrıca yine bu bölge tarih boyunca Kizuvatna Krallığı, Kue Krallığı, Pers Krallığı, Selevkoslar, Romalılar, Bizanslılar, Anadolu Selçukluları, Karamanoğulları ve Osmanlı yönetimine girmiştir. Mersin'in tarih sahnesine çıkışı 19. yüzyılın ortalarına rastlamaktadır. Bu dönemde henüz bir köy olan bölge, göçmen bir Türkmen aşiretine ev sahipliği yapar ve adını da bu aşiretten alır. Özellikle Amerika iç savaşı sırasında dünyadaki pamuk kıtlığını gidermek amacıyla Çukurova'da gelişen pamuk üretimi ve bölgenin 1866'da demiryolu ağına bağlanmasının etkisiyle Mersin hızla büyümeye başlamıştır. Bu dönemde Çukurova'nın tarım ürünlerinin ihraç edildiği bir liman ve ticaret merkezi haline gelmiştir. Kurtuluş Savaşı döneminde önce İngiliz işgali daha sonra Fransız işgaline uğramış ve 03 Ocak 1922'de kurtulmuştur. 1924 yılında Mersin Vilayet olmuş ve daha sonra 1933 yılında Mersin'in, İçel'in Vilayet Merkezi olan Silifke ile birleştirilmesi ile kurulan yeni ilin merkezi olmuştur <sup>113</sup>.



**Şekil 17:** Mersin ilinin konumu ve ilçeleri<sup>113</sup>.

Çalışma grubu olarak Mersin yöresinde önceden belirlenmiş alanlardan (Akbelen, Anamur, Arpaçsakarlar, Arslanköy, Aydıncık, Bozyazı, Çamlıyayla, Çavuşlu, Dalakderesi, Değirmençay, Emirli, Erdemli, Gözne, Gülnar, Hebilli, İçel Merkez, Kaleköy, Karacailyas, Kazanlı, Kepirli, Kocavilayet, Kürkçü, Mut, Silifke, Tarsus, Taşucu, Tepeköy) popülasyon taramasına uygun 200 kişiden örnek toplanmıştır. Bireyler çalışmaya alınma ölçütleri açısından ayrıntılı bir şekilde incelenmiş, uygun olanlar çalışmaya davet edilip moleküler inceleme için kan örnekleri alınmıştır.

Araştırmaya alınan tüm bireyler araştırma hakkında bilgilendirilmiş, bu amaçla hazırlanan Aydınlatılmış Onam Formu (Ek 1) okutularak, onayları alınmıştır.

Yaş, cinsiyet, doğum yeri, kaç nesil aynı yerde yaşadıkları, kronik viral hastalıklar, otoimmün hastalıklar (FMF, romatoid artrit, ankilozan spondilit, SLE), kanser öyküsü ve diğer hastalıklar, ailede hastalık öyküsü, kadınlar için gebelik ve düşük hikayesi gibi verileri içeren bir Hasta Takip Formu (Ek 2) düzenlenerek, bu form çalışmaya alınan tüm bireyler için doldurulmuştur.

Hasta ve kontrol gruplarından genetik çalışma için etilendiaminotetraenoik asit'li (EDTA) tüpe alınan kan örnekleri 2-8°C'de çalışma gününe kadar saklanmıştır.

Hasta ve kontrol gruplarında çalışılan parametreler:

- KIR tiplendirilmesi

## **Araç ve Gereç**

Çalışmada kullanılan cihazlar:

- Luminex<sup>100</sup> cihazı ve XY Platform (Tepnel Lifecodes)
- DNA izolasyon cihazı (Genovision GenoM-6 Biorobot EZ1)
- Thermal cycler (Corbett Research)
- Isıtıcı blok (Wealtec HB-1)
- Sonikatör (Branson 200 Ultrasonic Cleaner)
- Mikrosantrifüj (Sigma Sartorius 1-15)
- Vorteks (Velp Scientifica)
- Bilgisayar (Dell Optiplex PC)
- Yazıcı (Lexmark)
- Soğutucu (Bosch)

Çalışmada kullanılan diğer malzemeler:

- Eppendorf tüpü (Isolab 1.5 ml'lik)
- 0.04 ml %7.5'luk EDTA-K<sub>3</sub> içeren 5 ml'lik cam tüp
- Otomatik pipet (Labmate, Gilson Pipetman)
- PCR tüpleri ve kapakları (AB Gene. 2ml Thermo Strip, No.AB0451/G)
- 96 kuyucuklu Thermal cycler (PCR) plate'i (Costar No6509)
- Microseal Film (MJ Research, Inc. No.MSA-5001)

Çalışmada kullanılan kitler:

- KIR Tiplendirme Kiti (Lifecodes, Ref:545110)
- DNA izolasyon kiti (Qiagen EZ1, cat no: 951034)

Çalışmada kullanılan kimyasallar:

- R-Pycoerythrin Conjugated Streptavidin (SA-PE), 1mg/ml (Tepnel Lifecodes lot no: 08277A)
- Luminex Sheath Fluid (Tepnel Lifecodes Cat.No.628005)
- Recombinant Taq Polymerase
- Distile su

## Yöntemler

### KIR Moleküllerinin Tiplendirilmesi

#### Tam Kandan DNA Eldesi

DNA elde edilmesi sırasında Qiagen GenoM-6 Biorobot EZ1 cihazı kullanılmıştır.

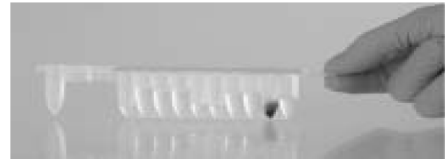
Prensip: Tam kandan DNA izolasyonu, manyetik partikül teknolojisi ile silikaya-dayalı DNA saflaştırılması prensibine dayanarak yapılmıştır. Lizatların içerisindeki DNA, guanidin hidroklorid gibi tuzların varlığında yüzeyi silika kaplı olan manyetik partiküllere bağlanarak izole edilir. Lizatlardan partiküllerin ayrılması mıknatıs aracılığıyla gerçekleşmektedir. Son olarak yıkama ve elüsyon tamponları kullanılarak DNA'nın ayrışması sağlanır.

Ayırıcılar: DNA elde edilmesi sırasında EZ1 DNA kiti kullanılmıştır (tablo 7).

**Tablo 7:** EZ1 DNA kiti içeriği.

Kit içeriği
Reaktif kartuşları (Etanol, guanidin hidroklorid, guanidin tiyosiyanat)
Pipet ucu taşıyıcıları
Pipet uçları
Örnek tüpleri (2ml)
Elüsyon tüpleri (1,5ml)

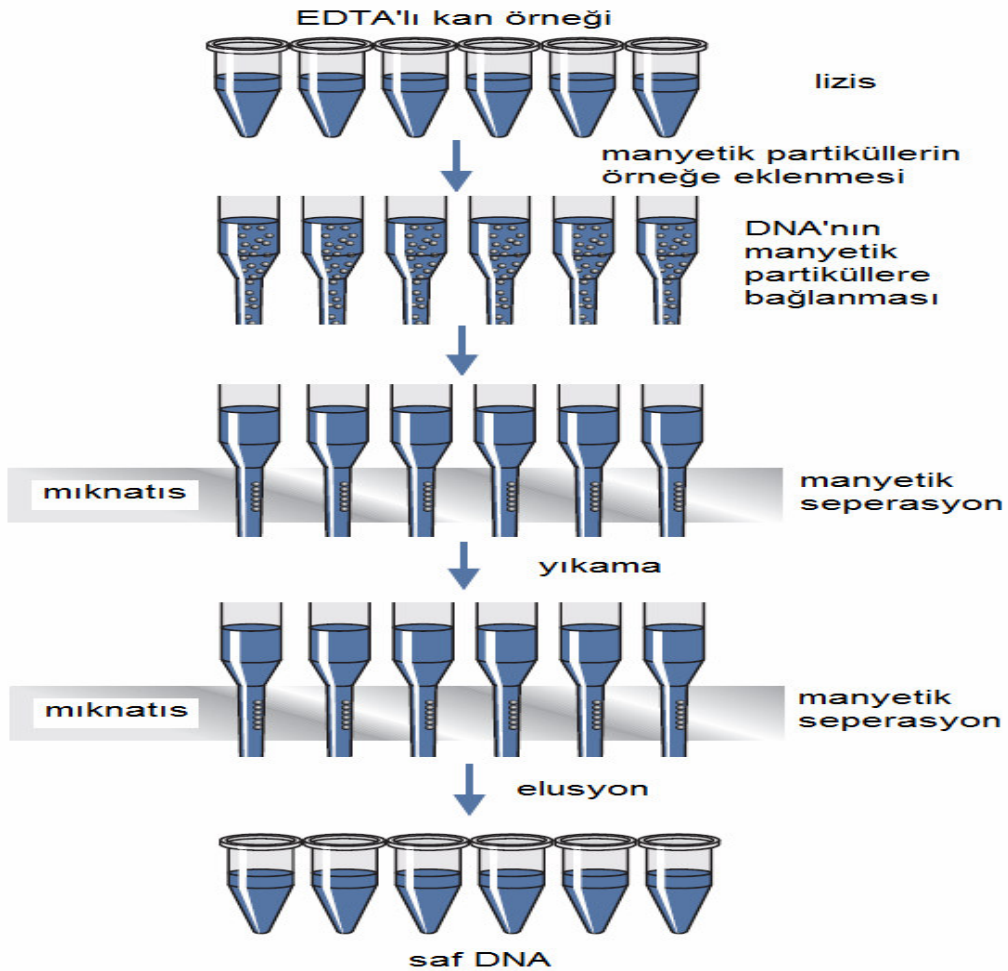
Reaktif kartuşları: kartuşun üzerindeki her tüpe farklı bir reaktif konulmuştur. Bunlar sırasıyla manyetik partiküller, lizis tamponu, yıkama tamponu ve elüsyon tamponudur. Reaktif tüplerini içeren reaktif kartuşları ve kartuşların raklara yerleştirilmesi şekil 18'de gösterilmektedir.



**Şekil 18:** Reaktif kartuşları

Yöntem:

- Reaktif kartuşları, pipet ucu taşıyıcıları, pipet uçları ve elüsyon tüpleri cihaza yerleştirilir.
- Programın yüklü olduğu EZ1 kartı cihaza takılır.
- Örnek tüplerine, 200 µl EDTA'lı tam kan konur. Örnek tüpleri de cihazlara yerleştirilir.
- İlk aşama lizis aşamasıdır. Lizis aşaması ile hücreler parçalandıktan sonra manyetik partiküller örneğe eklenir.
- DNA manyetik partiküllerin yüzeyinde bulunan slikeya bağlanır.
- Yıkama yapılır.
- Miknatis varlığında manyetik partiküller tüpün dibine doğru çekilir.
- Elüsyon buffer yardımıyla DNA partiküllerden ayrılır ve elüsyon tüplerine alınır (şekil 19).



**Şekil 19:** Manyetik partikül teknolojisi ile DNA izolasyonu yöntemi

## **Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)**

Lökositlerden elde edilen DNA'nın, analiz yapılacak bölgesinin, belli miktarda çoğaltılması aşamasıdır. PCR, DNA'nın bu bölgesinin iki ucuna özgü, sentetik primer (öncül)'ler, Taq polimeraz ve deoksi nükleotit trifosfatlar (dNTP) kullanılarak çoğaltılması esasına dayanır. Primerler öncü DNA görevi görürken, Taq polimeraz ise DNA polimeraz görevi görmektedir. PCR, denatürasyon, yapışma (annealing) ve zincir uzaması (extension) olmak üzere üç aşamadan oluşur. İlk aşama olan denatürasyonda, yüksek ısı etkisiyle çift sarmal DNA'nın ayrılması sağlanır. İkinci aşama olan yapışmada sıcaklık düşürülerek primerlerin kendilerini tamamlayıcı DNA dizilerine bağlanmaları sağlanır. Son aşama olan uzamada ise Taq polimeraz etkisiyle ortamda bulunan dNTP'ler primerlere eklenerek DNA zincirleri sentezlenmiş olur. Bu döngünün tekrarlanması ile istenen DNA bölgesi çoğaltılmış olur.

## **SSO Yöntemiyle KIR Tiplendirilmesi**

PCR ile amplifiye edilmiş örnekteki KIR allellerini saptamak için sekans-spesifik oligonükleotitleri (SSOs) kullanılır.

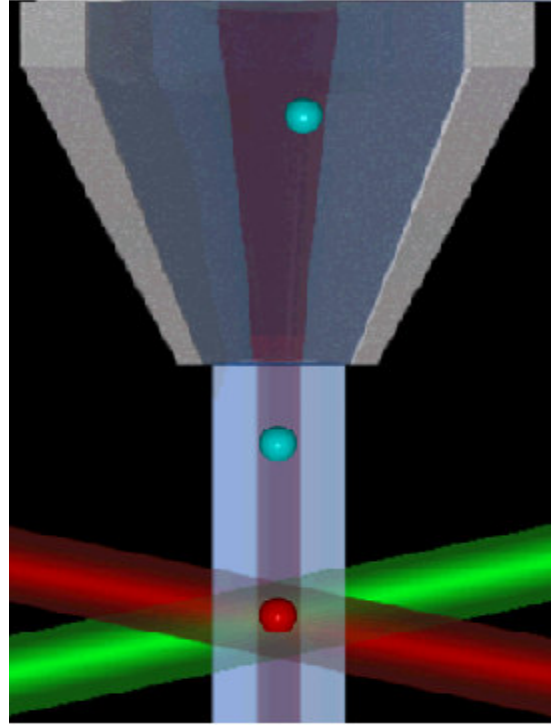
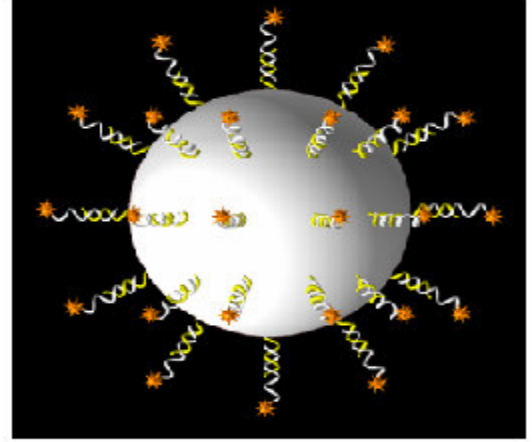
KIR-SSO tiplendirme prosedürü; işaretli tek sarmallı PCR ürünlerinin SSO problemlerine hibridizasyonuna dayanmaktadır. DNA'nın PCR ile amplifikasyonunda genellikle eşit miktarda forward ve reverse primerler kullanılarak çift-sarmallı DNA ürünleri elde edilir. Ancak eğer primerlerden biri diğerine göre daha fazla miktarda bulunursa reaksiyonda çift sarmallı DNA'ya ek olarak tek sarmallı DNA üretimi de gerçekleşir. Lifecodes amplifikasyon basamağının ilk döngülerinde çift-sarmallı DNA üretilir. İlerleyen döngülerde az miktarda bulunan sınırlı primer tüketildiğinde, kalan primer çift sarmallı ürünü bir şablon gibi kullanarak tek sarmallı DNA üretimini gerçekleştirir. Bu yöntemle hibridizasyon reaksiyonuna katılabilecek hem çift sarmallı hem de tek sarmallı ürünler meydana getirilir.

SSO tiplendirme yönteminde kullanılan farklı problemlerin her biri amplifiye DNA'ların içindeki allel veya allel gruplarına özgül olan dizilere karşı homologturlar. Başka bir anlatımla bu problemlerin her biri amplifiye DNA'da bulunan veya bulunmayan tamamlayıcı bölgelerle hibridize olmaları için tasarlanmışlardır. SSO tiplendirilmesinden elde edilen sonuçların analizi ile



amplifiye DNA'daki özel DNA dizilerinin varlığı veya yokluğu saptanabilir ve örnekteki olası alleller tanımlanabilir.

Lifecodes KIR-SSO Tiplendirme prosedüründe; probalar, Luminex<sup>100</sup> cihazında kullanılmak için Mikroküreciklere bağlanmışlardır (şekil 20a). Yaklaşık 100 farklı Mikrokürecik populasyonu bir arada karıştırılarak Luminex<sup>100</sup> cihazıyla analiz edilebilir. Çünkü her bir mikrokürecik populasyonu kendine has floresans veya rengiyle ayırt edilebilir (şekil 20b). Böylece probalar da birbirlerinden kolayca ayırt edilebilirler. Luminex<sup>100</sup> cihazı; her bir mikroküreciğe hibridize olan işaretli PCR ürünlerinin miktarını saptayabilir. SSO probalarından elde edilen bu sinyaller kullanılarak amplifiye DNA örneği ile pozitif veya negatif reaksiyon gösteren probalar belirlenebilir. Böylece örnekteki KIR fenotipinin belirlenmesi için gerekli bilgi elde edilir.



**Şekil 20:** a. Probların ve işaretli primerlerin bağlı olduğu mikrokürecikler  
b. Mikroküreciklerin kırmızı ve yeşil lazerden geçerek ayrılması.

## DNA Amplifikasyon (PCR) ve Hibridizasyon Prosedürleri

Polimeraz zincir reaksiyonu ve hibridizasyon prosedürü için, Lifecodes KIR Tiplendirme kitleri kullanılmıştır.

### Lifecodes KIR-SSO Tiplendirme Kiti İçeriği:

KIR-1 Master Mix

KIR-2 Master Mix

KIR Probe Mix

Dilution Solution

### DNA Amplifikasyon (PCR) Prosedürü

- Master Mix'in oda ısısına gelmesi beklenir.
- Master Mix 10 saniye vortexlenir.
- Her bir hasta için 6 µl Master Mix, 0,2 µl Taq polimeraz ve 10,8 µl steril distile su bir mikrosantrifüj tüpünde karıştırılır, vortexlenir ve bir amplifikasyon karışımı hazırlanır.
- Her bir hasta için PCR tüpüne 3 µl DNA konur ve üzerine 17 µl amplifikasyon karışımından eklenir (tablo 8).

**Tablo 8:** Amplifikasyon İçin Gerekli Reaksiyon İçerikleri.

İçerik	Her örnek için gereken miktar
Lifecodes Master Mix (MX-K1 ve MX-K2)	6 µl
DNA	3 µl
Taq Polimeraz	0,2 µl
Steril distile su	10,8 µl

- Tüplerin ağzı PCR sırasında olabilecek buharlaşmayı önlemek için kapatılır.
- Örnekler thermal cycler'a yerleştirilir ve tablo 9'daki program çalıştırılır.
- Amplifikasyon aşamasında kullanılan primer dizileri tablo 11'de gösterilmiştir.

**Tablo 9:** Amplifikasyonda Kullanılan Thermal Cyclers Programı.

Döngü sayısı 1	95 °C	2 dakika
Döngü sayısı 40	94 °C	30 saniye
	69 °C	45 saniye
	72 °C	45 saniye
Döngü sayısı 1	72 °C	15 dakika

### Hibridizasyon Prosedürü

- Hibridizasyon işlemine başlamadan önce Luminex<sup>100</sup> cihazı açılarak ısınması sağlanır.
- Probe Mix'leri ısıtıcı blokta 55-60 °C'de 7 dk ısıtılır.
- Daha sonra Probe Mixler 15 saniye sonikatöre koyulur ve ardından 15 saniye vortexlenerek süspansiyon haline gelmeleri sağlanır.
- PCR ürünleri Costar plate'in kuyucukları içine 5 µl pipetlenir.
- Her bir kuyucuğa 15 µl Probe Mix eklenir ve kuyucukların üzeri Mikrosealed film ile kaplanır.
- Örnekler termal cyclere yerleştirilir ve tablo 10'daki program çalıştırılır.

**Tablo 10:** Hibridizasyonda Kullanılan Thermal Cyclers Programı.

56 °C de 20 dk
56 °C de işlemleri tamamla

- Örneklerin hibridizasyonu sırasında 1:200 Dilüsyon solüsyonu/SA-PE karışımı hazırlanır. Her örnek için 170 µl Dilüsyon solüsyonu ile 0,85 µl SA-PE karıştırılır.
- Dilüsyon solüsyonu/SA-PE karışımı oda sıcaklığında karanlıkta tutulur. SA-PE ışığa duyarlıdır.
- Hibridizasyon basmağı ikinci 56 °C basamağına geçtiği anda örnekler termal cyclers üzerinde iken, her bir örnek 170 µl Dilüsyon solüsyonu/ SA-PE ile dilüe edilir. Tüm örnekler 5 dakika içinde dilüe edilmelidir.
- Dilüsyon işleminden sonra örnekler değerlendirilmek üzere Luminex<sup>100</sup> cihazına yerleştirilir.
- Hibridizasyonda kullanılan prob dizileri tablo 12 de gösterilmiştir.

**Tablo 11:** KIR amplifikasyon primerleri <sup>47</sup>.

KIR Locus	Sense (5'→3')	Antisense (5'→3')	Position <sup>a</sup>	Amplicon Size (bp)
2DL4	CCC CTC AAC AGA TAC CAG CGT GTG	GCA GGC AGT GGG GAC CTT AGA CA	962-3'-UTR 99 <sup>b</sup>	271
2DL4	GTA TCG CCA GAC ACC TGC ATG CTG	GCA GGC AGT GGG GAC CTT AGA CA	701-3'-UTR 99	1082
3DL3	AAC ACG GAA CTT CCA AAT GCT GAG CG	GCA GGC AGT GGG GAC CTT AGA CA	1233-3'-UTR 99	243
2DP1	GCA AGA CAC CCC CAA CAG ATA CCA GA	GCA GGC AGT GGG GAC CTT AGA CA	969-3'-UTR 99	278
3DL1	AAG ACA CCC CCT ACA GAT ACC ATC T	GCA GGC AGT GGG GAC CTT AGA CA	1256-3'-UTR 99	277
3DP1	ATC CTG TGC GCT GCT GAG CTG AG	GCC TAT GAA AAC GGT GTT TCG GAA TAC	5'-UTR 58-213	344
3DP1v	ATC CTG TGC GCT GCT GAG CTG AG	GCC TAT GAA AAC GGT GTT TCG GAA TAC	5'-UTR 58-249	1817
2DL3	CCT TCA TCG CTG GTG CTG <sup>d</sup>	CAG GAG ACA ACT TTG GAT CA <sup>d</sup>	791-1051	812
2DL5	GCT CTT CTT TCT CCT TCA TTG CTG C	GCA GGC AGT GGG GAC CTT AGA CA	765-3'-UTR 99	1025
2DL5.1 <sup>e</sup>	CTC CCG TGA TGT GGT CAA CAT GTA AA	GGG GTC ACA GGG CCC ATG AGG AT	5'-UTR 109-260	1883
2DL5.2 <sup>e</sup>	GTA CGT CAC CCT CCC ATG ATG TA	GGG GTC ACA GGG CCC ATG AGG AT	5'-UTR 119-260	1893
3DS1	CAG CGC TGT GGT GCC TCG C	CTG TGA CCA TGA TCA CCA T	233-355	249
2DS4	ATC CTG CAA TGT TGG TCG	CTG GAT AGA TGG TAC ATG TC	135-485	1902
KIR1D	ATC CTG CAA TGT TGG TCG	CTG GAT AGA TGG AGC TGC AG	135-465	1885
2DS1	TCT CCA TCA GTC GCA TGA A/G <sup>d</sup>	AGG GCC CAG AGG AAA GTG/T	251-567	1838
3DL2	TTG CTG CAG GGG GCC TGG CCA CT	CAT GGG CCT CCC CTT CCC TGG AC	43-787	4530
2DS2	CTT CTG CAC AGA GAG GGG AAG TA <sup>d</sup>	CAC GCT CTC TCC TGC CAA <sup>d</sup>	173-434	1761
2DS2	ATC CTG TGC GCT GCT GAG CTG AG	CAC GCT CTC TCC TGC CAA <sup>d</sup>	5'-UTR 58-434	5221
2DL2	CAT GAT GGG GTC TCC AAA <sup>d</sup>	CCC TGC AGA GAA CCT ACA <sup>d</sup>	228-521	1808
2DL2	ATC CTG TGC GCT GCT GAG CTG AG	CCC TGC AGA GAA CCT ACA <sup>d</sup>	5'-UTR 58-521	5438
2DS3	ATC CTG TGC GCT GCT GAG CTG AG	GCA TCT GTA GGT TCC TCC T <sup>d</sup>	5'-UTR 58-593	5920
2DS3	GAC ATG TAC CAT CTA TCC AC <sup>f</sup>	GCA TCT GTA GGT TCC TCC T <sup>d</sup>	465-593	130
2DL1	CTG TTA CTC ACT CCC CCT ATC AGG <sup>d</sup>	AGG GCC CAG AGG AAA GTC A <sup>d</sup>	307-566	1770
2DL1	CTG TTA CTC ACT CCC CCT ATC AGG <sup>d</sup>	CAG AAT GTG CAG GTG TCG	307-740	9365
2DS5	CTG CAC AGA GAG GGG ACG TTT AAC C	TCC AGA GGG TCA CTG GGC	176-355	179

**Tablo 12:** KIR reseptörleri için diziyeye özgü oligonükleotid primerleri <sup>35, 114</sup>.

Probe	Specificity	Sequence 5' _____ 3'	Wash Temp (°C)	Picomoles used	Nucleotide position*
trans/cyt amplified domain					
NK1	2DL1	TCTGCAGGAACAGAAC	50	20	1170-1186
NK2	2DL2	TCGTGTACGCGGAACCTT	54	20	1318-1334
NK3	2DL3	CTGGTGCTGCAACAAA	48	20	1126-1141
NK4	2DS1, 2DS3, 2DS4	TGGTGCTCCGACAAAA	48	20	1127-1142
NK5	2DS3, 2DS5	TGGTCAAACCTCCCTTTC	50	20	1080-1096
NK6	3DL1	CAGAACAGCCAACAGCGA	56	20	1181-1198
NK7	3DL2	GCCTGCGGGGGACAGAAC	62	20	1169-1186
NK8	3DS1	GGAACAGA AGTGAACAG	50	20	1177-1195
NK9	2DS1, 2DS2, 2DS4, 3DS1	GTGGTCAAATCCCTTTC	52	20	1079-1096
NK10	2DL4	GCCTGCGGGACACAGAAC	60	20	1169-1186
NK11	2DS3, 2DS5	AAATGCATCTGTAATG	42	20	1145-1160
NK12	2DS3	CTGACGAACAGGACCA	42	100	1204-1219
NK13	2DS5	CTGATGAACAGGACCA	50	20	1204-1219
1st Ig amplified domain					
2DS1	2DS1	CTGCAGGGACCAAGGTC	58	40	840-856
2DS2	2DS2	CCACGGTTITGGCAGGA	56	40	735-751
2DS3	2DS3	ATCTATCCAAGGAGGG	50	40	801-816
2DS4	2DS4	TCCGTGACGCTCCCTAC	56	40	930-946
2DS5	2DS5	GACTCTCCTCTGGACCCT	42	40	875-892
2DL4	2DL4	TTCGCTTACAGCCCGGC	56	40	712-728
Ig7	2DS1	TCCAGGCCAACTTTTCT	52	40	867-883
Ig8	2DS3	CCCAAGGAGAACCTAC	54	40	897-913
Ig9	2DS5	CGGAGGGGCCTACAG	52	40	901-915
3rd Ig amplified domain					
p70-1	3DS1	TGCCTCGCGGAGGAC	52	20	156-170
p70-2	3DL2	ACGTGGCTCTTCAAGTGTC	56	20	171-188
p70-3	3DL1 (NKAT3)	GAATCCACATTCCCATC	50	20	234-250
p70-4	3DL1 (NKB1)	ATGGCAGATTATTCCAG	52	20	255-271

## **Veri Analizi ve İstatistiksel Yöntemler**

### **A ve B KIR Haplotiplerinin saptanması**

Sadece KIR3DL3, 2DL3, 2DL1, 2DP1, 3DP1, 2DL4, 3DL1, 2DS4, 3DL2 genlerini taşıyan bireylerin karakteristik grup A haplotipini içerdiği ve grup A KIR haplotipinden iki kopya taşıdığı kabul edilmektedir (AA genotipi). Buna karşın 4 değişken genden KIR2DL1, 2DL3, 3DL1 ve 2DS4 herhangi birini içermeyen genotipin grup B KIR haplotipinden iki kopya taşıdığı kabul edilmektedir (BB genotipi). Diğer genotipler her iki haplogrubu taşıyan heterozigot AB genotipleridir.

### **İstatistiksel Metodlar**

Populasyondaki gözlenen KIR genlerinin oranları direk sayma ile bulunmuştur. genotiplemede KIR geninin yokluğu (-) resesif olduğu için bireylerde genin (-, +) ve (+,+) olduğu durumlar aynı sonucu vermektedir. Bundan dolayı gözlenen KIR frekanslarından (F) Bernstein formülü kullanılarak  $[f=1-\sqrt{1-F}]$  beklenen KIR frekansları (f) hesaplanmıştır. Bu formülle dağılımın Hardy-Weinberg dengesine uygunluğu kontrol edilmiştir.

Grup A ve grup B haplotiplerinin frekansı  $group-A=2NAA+NAB/2n$  ve  $group-B=2NBB+NAB/2n$  formülleriyle hesaplanmıştır (NAA, NAB ve NBB; AA, AB ve BB genotiplerinin sayılarını ifade ederken, n bireylerin toplam sayısını göstermektedir).

Bizim sonuçlarımızın farklı populasyonların KIR genlerinin frekansları ile karşılaştırılması için literatürden bilgi bankasına da girmiş olan 11 yayının sonuçları kullanılmıştır (Niokou et. al. 2003, Uhrberg et. al. 2002, Middleton et. al. 2007, Rajalingham et. al. 2002, Jiang et. al. 2005, Yawata et. al. 2002, Toneva et. al. 2001, Pavlova et. al. 2008, Denis et. al. 2005, Rayes et. al. 2007, Gutierrez-Rodriguez et. al. 2006). Farklı populasyonlar arası karşılaştırmalar için Minitab 15 programında Fisher Exact probability test kullanılmıştır. p değerinin 0,05'ten düşük olduğu karşılaştırmalar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

## BULGULAR

### Olguların Genel Özellikleri

Çalışmaya dahil edilen bireylerin tanımlayıcı bilgileri tablo13'te verilmiştir.

**Tablo 13:** Çalışmaya alınan bireylerin tanımlayıcı bilgileri

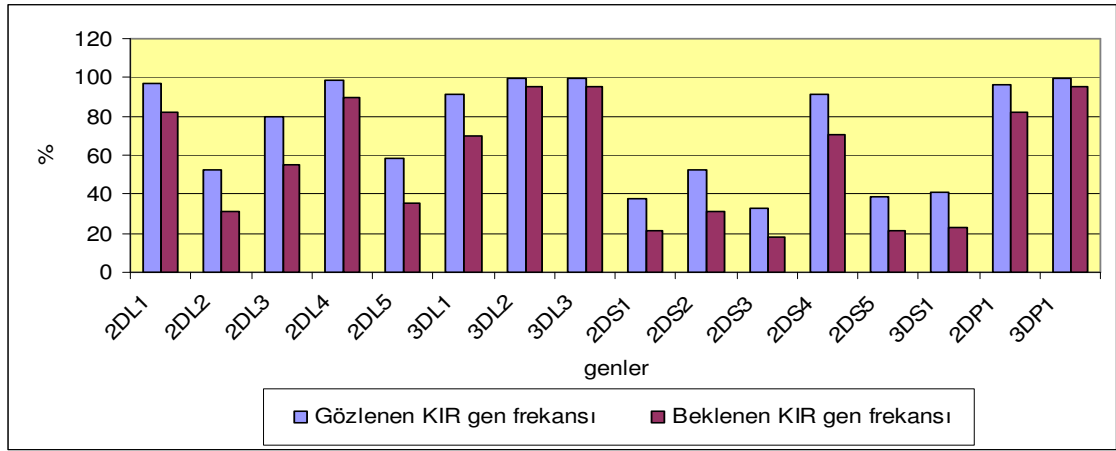
Tanımlayıcı Bilgiler	Populasyon grubu (n=200)		
Yaş ortalaması	46,7± 17		
Cinsiyet	Kadın= 111	Erkek= 89	
Mersin ilindeki yerleşimleri	Merkez: 60	İlçeler: 106	Köyler: 34
Hastalık Öyküleri			
Kanser	16		
Otoimmün hastalıklar	10		
Hepatit	Hepatit B: 9		Hepatit C: 4
Tip 2 Diabet	19		
Abortus hikayesi	1 kez: 20	2 kez: 5	3 kez: 2

### KIR Gen Frekansları

Mersin populasyonunda gözlenen (f) ve beklenen KIR gen frekansları (F) tablo 14'te gösterilmiştir. Daha önce beyazlarda, Afrikalılarda ve Asyalılarda yapılan çalışmalarda inhibitör genlerden KIR2DL4, KIR3DL2 ve KIR3DL3 nin tüm bireylerde bulunduğu bildirilmiştir (% 100). Bu çalışmada KIR2DL4'ün 2 bireyde (% 99), KIR3DL2 ve KIR3DL3'ün ise 1 bireyde bulunmadığı (% 99,5) gözlenmiştir. Buna ek olarak inhibitör KIR genlerinin frekanslarının, aktivatör KIR genlerinden daha yüksek olduğu ve daha homojen oldukları gözlenmektedir. Tüm inhibitör KIR genlerinin frekansları 2DL2 (0,53) ve 2DL5 (0,58) dışında 0,8'in üzerindeyken, tüm aktivatör KIR genlerinin frekansları 2DS4 (0,92) dışında 0,53'ün altındadır. Yine 2DS4, 2DP1, 2DL1 ve 3DL1'in gen frekansları 90%'in üzerindeyken, 2DS1, 2DS3, 2DS5 ve 3DS1'in gen frekansları 50 %'nin altındadır (şekil 21).

**Tablo 14:** Mersin populasyonunda gözlenen ve beklenen KIR gen frekansları

	Gen	Sayı	Gözlenen KIR gen frekansı (f)	Beklenen KIR gen frekansı (F)
<b>İnhibitör KIR</b>	2DL1	194	0,97	0,82
	2DL2	105	0,53	0,31
	2DL3	160	0,8	0,55
	2DL4	198	0,99	0,9
	2DL5	116	0,58	0,35
	3DL1	182	0,91	0,7
	3DL2	199	0,995	0,95
	3DL3	199	0,995	0,95
<b>Aktivatör KIR</b>	2DS1	76	0,38	0,21
	2DS2	106	0,53	0,31
	2DS3	65	0,33	0,18
	2DS4	183	0,92	0,71
	2DS5	78	0,39	0,21
	3DS1	83	0,42	0,23
	<b>Psödogen</b>	2DP1	193	0,96
3DP1		199	0,99	0,95



**Şekil 21:** Gözlenen ve Beklenen KIR gen frekanslarının karşılaştırılması.

#### **KIR Genotip Frekansları:**

Çalışma sonucu elde edilen genotip profilleri tablo 15'te verilmiştir. Bu çalışmada 200 bireyde 40 farklı genotip saptanmıştır. Bu konuyla ilgili yapılan tüm çalışmalarla uyumlu olarak bu çalışmada da en sık gözlenen genotip, 54 kişide gözlenen ve bilgi bankasında 1 numara olarak kayıtlı AA genotipidir (% 27). 8 farklı genotip profili sadece 2'şer kişide gözlenmekteyken, 17 farklı genotip profili sadece 1'er kişide gözlenmiştir.

**Tablo 15:** Saptanan tüm genotip profilleri. Çerçeve genleri gri renkle, aktive edici genler kırmızı renkle, inhibe edici genler yeşil renkle ve psödogenler sarı renkle gösterilmiştir.

	3DL3	2DS2	2DL2	2DL3	2DP1	2DL1	3DP1	2DL4	3DL1	3DS1	2DL5	2DS3	2DS5	2DS1	2DS4	3DL2	birey sayısı	%	genotip	No
																	54	27	AA	1
																	20	10	AB	4
																	20	10	AB	2
																	18	9	AB	5
																	10	5	BB	71
																	8	4	BB	73
																	7	3,5	AB	7
																	6	3	AB	6
																	4	2	AB	3
																	4	2	BB	69
																	4	2	AB	9
																	3	1,5	BB	68
																	3	1,5	AB	17
																	3	1,5	BB	70
																	3	1,5	BB	81
																	2	1	AB	27
																	2	1	AB	8
																	2	1	BB	118
																	2	1	AB	180
																	2	1	BB	106
																	2	1	<b>AB</b>	<b>yeni</b>
																	2	1	BB	176
																	2	1	<b>BB</b>	<b>yeni</b>
																	1	0,5	<b>BB</b>	<b>yeni</b>
																	1	0,5	BB	72
																	1	0,5	AB	200
																	1	0,5	BB	90
																	1	0,5	<b>BB</b>	<b>yeni</b>
																	1	0,5	AB	12
																	1	0,5	<b>BB</b>	<b>yeni</b>
																	1	0,5	BB	91
																	1	0,5	<b>BB</b>	<b>yeni</b>
																	1	0,5	BB	154
																	1	0,5	<b>BB</b>	<b>yeni</b>
																	1	0,5	<b>AB</b>	<b>yeni</b>
																	1	0,5	BB	76
																	1	0,5	BB	299
																	1	0,5	BB	89
																	1	0,5	<b>BB</b>	<b>yeni</b>
																	1	0,5	<b>AB</b>	<b>yeni</b>
																	toplam	200		



Çalışma sonucu elde edilen 10 genotip profili bilgi bankasında gösterilmemiş olup ilk defa bu çalışmada gösterilmiştir. Bu yeni genotip profillerinin 3'ü AB genotipindeyken, 7'si BB genotipindedir. Yeni genotiplerin adlandırılması bilgi bankasında bulunmadığı için uygun bir kodlama gereksinimi ortaya çıkmıştır. Bu genotipler bundan sonraki değerlendirilmelerimizde kolaylık olması açısından "yeni" anlamına gelen "Y" harfiyle gösterilmiş ve genotiplerin sırası da 1'den 10' a kadar numaralandırılmıştır. Yeni genotiplerden Y1 ve Y2'ye iki kişide rastlanılmıştır. Diğerleri ise birer kişide gözlenmiştir (tablo 16).

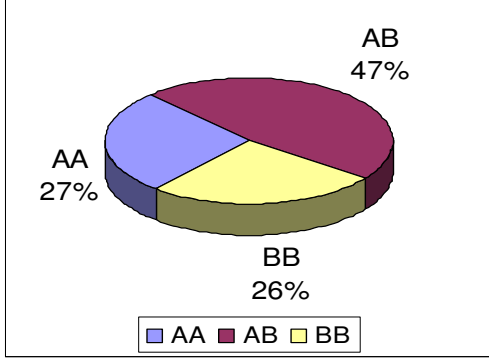
**Tablo 16:** Daha önce bilgi bankasında bulunmayan bu çalışma sonucu yeni tanımlanan 10 genotip profili (Y: yeni). Çerçeve genleri gri renkle, aktive edici genler kırmızı renkle, inhibe edici genler yeşil renkle ve psödogenler sarı renkle gösterilmiştir.

	3DL3	2DS2	2DL2	2DL3	2DP1	2DL1	3DP1	2DL4	3DL1	3DS1	2DL5	2DS3	2DS5	2DS1	2DS4	3DL2	Sayı	Genotip	Yeni No
		■	■	■	■	■			■	■			■		■		2	AB	Y1
		■	■		■	■			■	■	■	■	■		■		2	BB	Y2
				■	■	■				■	■		■				1	BB	Y3
					■	■			■					■	■		1	BB	Y4
		■	■		■	■				■	■	■	■				1	BB	Y5
				■	■	■				■	■		■	■			1	BB	Y6
		■	■			■			■						■		1	BB	Y7
				■	■	■			■						■		1	AB	Y8
		■	■			■			■		■		■	■	■		1	BB	Y9
			■		■	■			■						■		1	AB	Y10

Tüm grubu genotipler açısından incelediğimizde AA genotipi taşıyan bireylerin sayısının 54 (% 27), AB genotipi taşıyan bireylerin sayısının 94 (%47), BB genotipi taşıyan bireylerin sayısının ise 52 (% 26) olduğu gözlenmiştir (tablo 17, şekil 22).

**Tablo 17:** Belirlenen farklı AA, AB ve BB genotiplerinin sayısı, bu genotipleri taşıyan kişi sayısı ve oranları

Genotip	Genotip sayısı	Kişi sayısı	%
AA	1	54	27
AB	16	94	47
BB	23	52	26
<b>toplam</b>	<b>40</b>	<b>200</b>	<b>100</b>



**Şekil 22:** AA, AB ve BB genotip frekanslarının şematik görüntüsü

#### **AA Genotipli Bireylerde KIR2DS4'ün Allelik Formlarının Frekansları**

AA genotipi taşıyan 54 birey aktive edici KIR genlerinden sadece 2DS4 genini taşımaktadırlar. Bu bireylerde 2DS4'ün allelik formlarından aktive edici KIR2DS4 yüzey molekülünü kodlayan KIR2DS4\*001 alleli ile delesyona uğramış ve eksprese edilmeyen variant allelleri KIR2DS4\*003/4/6/7 taşıyan birey sayısı tablo 18'de gösterilmiştir.

**Tablo 18:** AA genotipli bireylerde KIR2DS4'ün allelik formlarının frekansları

	KIR2DS4*001 homozigot bireyler	KIR2DS4*001 ve KIR2DS4*003/4/6/7 heterozigot bireyler	KIR2DS4*003/4/6/7 homozigot bireyler
<b>Birey sayısı</b>	8	18	28
<b>%</b>	14,8	33,3	51,9

## Haplotip Frekansları

AA, AB, BB genotiplerinden hesaplanan A ve B haplotip frekansları tablo 19'da verilmiştir. A haplotipinin frekansı % 50,5 iken B haplotipinin frekansı % 49,5'tur. A ve B haplotiplerinin oranı ise 1,02'dir.

**Tablo 19:** A ve B haplotiplerinin sayıları, yüzdeleri ve birbirlerine oranları

Haplotip	Sayı	%
A	202	50,5
B	198	49,5
Toplam	400	100
A/B oranı	1,02	

## Mersin Merkez ile Civar Yerleşimlerinin KIR Gen Frekansı Açısından Karşılaştırılması

Merkez de yaşayan 60 kişi ile civar ilçelerde ve köylerde yaşayan 140 kişinin inhibitör, aktivatör KIR genleri ve psödogenlerin frekansları arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır (tablo 20).

**Tablo 20:** Mersin Merkez ile civar yerleşimlerinin KIR gen frekansı açısından karşılaştırılması

	Gen	Merkez		Civar yerleşimler		P değeri
		Sayı	%	Sayı	%	
İnhibitör KIR	2DL1	59	98,3	135	96,4	0,671
	2DL2	35	58,3	70	50	0,354
	2DL3	45	75	115	82,1	0,253
	2DL4	60	100	138	98,6	1
	2DL5	38	63,3	78	55,7	0,351
	3DL1	52	86,7	130	92,9	0,182
	3DL2	60	100	139	99,3	1
	3DL3	60	100	139	99,3	1
Aktivatör KIR	2DS1	25	41,7	51	36,4	0,526
	2DS2	35	58,3	71	50,7	0,356
	2DS3	24	40	41	29,3	0,143
	2DS4	53	88,3	130	92,9	0,284
	2DS5	25	41,7	53	37,9	0,637
	3DS1	26	43,3	57	40,7	0,756
psödogen	2DP1	58	96,7	135	96,4	1
	3DP1	59	98,3	140	100	0,3

## Mersin Merkez ile Civar Yerleşimlerinin KIR Genotip Frekansı Açısından Karşılaştırılması

Merkez ve civar yerleşimlerde en sık görülen genotipler aynıdır. Bunların oranları tablo 21’de verilmiştir.

**Tablo 21:** Merkez ve civar yerleşimlerde en sık görülen 6 genotip ve oranlarının karşılaştırılması. Çerçeve genleri gri renkle, aktive edici genler kırmızı renkle, inhibe edici genler yeşil renkle ve psödogenler sarı renkle gösterilmiştir.

	3DL3	2DS2	2DL2	2DL3	2DP1	2DL1	3DP1	2DL4	3DL1	3DS1	2DL5	2DS3	2DS5	2DS1	2DS4	3DL2	profil	% merkez	% civar yerleşim
																	AA	23,3	28,6
																	AB	11,6	9,3
																	AB	13,3	8,6
																	AB	8,3	6,4
																	BB	6,6	4,3
																	BB	6,6	2,9
																	toplam	70	60

## Göçten Etkilenmeyen Bölgeler ile Göç Alan Bölgelerin KIR Gen Frekansı Açısından Karşılaştırılması

Göçten etkilenmeyen bölgelerde yaşayan 93 kişi ile göçlerin yoğun olduğu bölgelerde yaşayan 107 kişinin KIR gen frekansları karşılaştırıldığında aktivatör KIR genlerinden 2DS2 ve 2DS3 gen frekanslarının göç alan bölgelerde yaşayan popülasyonda anlamlı derecede yüksek olduğu gözlenmiştir ( $p=0,047$ ,  $p=0,034$ ). Diğer inhibitör, aktivatör KIR genleri ve psödogenlerin frekansları arasında anlamlı farklılık gözlenmemiştir (tablo 22).

**Tablo 22:** Göçten etkilenmeyen bölgeler ile göç alan bölgelerin KIR gen frekansı açısından karşılaştırılması

	Gen	Göçten etkilenmeyen bölgeler		Göç alan bölgeler		P değeri
		Sayı	%	Sayı	%	
<b>İnhibitör KIR</b>	2DL1	89	95,7	105	98,1	0,42
	2DL2	42	45,2	63	58,9	0,065
	2DL3	80	86,0	80	74,8	0,053
	2DL4	91	97,8	107	100,0	0,215
	2DL5	50	53,8	66	61,7	0,315
	3DL1	86	92,5	96	89,7	0,622
	3DL2	92	97,8	107	85,0	1
	3DL3	92	98,9	107	100,0	0,465
<b>Aktivatör KIR</b>	2DS1	35	37,6	41	38,3	1
	<b>2DS2</b>	42	45,2	64	59,8	<b>0,047</b>
	<b>2DS3</b>	23	24,7	42	39,3	<b>0,034</b>
	2DS4	86	92,5	97	90,7	0,801
	2DS5	36	38,7	42	39,3	1
	3DS1	40	43,0	43	40,2	0,774
	<b>psödogen</b>	2DP1	90	96,8	103	96,3
3DP1		93	100,0	106	99,1	1

### **Mersin ile İstanbul Populasyonlarının KIR Gen Frekansları Açısından Karşılaştırılması**

Mersin ile İstanbul populasyonlarının KIR gen frekansları açısından karşılaştırıldığında aktivatör KIR genlerinden 3DS1 gen frekansının Mersin populasyonunda anlamlı derecede yüksek olduğu gözlenmiştir ( $p=0,046$ ). Diğer inhibitör, aktivatör KIR genleri ve psödogenlerin frekansları arasında anlamlı farklılık gözlenmemiştir (tablo 23).

**Tablo 23:** Mersin ile İstanbul popülasyonlarının KIR gen frekansları açısından karşılaştırılması

	Gen	Mersin%	İstanbul %	P değeri
<b>İnhibitör KIR</b>	2DL1	97	98	0,723
	2DL2	52,5	59,7	0,624
	2DL3	80	85	0,344
	2DL4	99	100	0,554
	2DL5	58	55,2	0,623
	3DL1	91	96	0,159
	3DL2	99,5	100	1
	3DL3	99,5	100	1
<b>Aktivatör KIR</b>	2DS1	38	36,4	0,8
	2DS2	53	60,4	0,269
	2DS3	32,5	35,1	0,698
	2DS4	91,5	94,2	0,499
	2DS5	39	28,6	0,073
	<b>3DS1</b>	41,5	32,3	<b>0,046</b>
<b>Psödogen</b>	2DP1	96,5	96	1
	3DP1	99,5	100	1

### Mersin ile İstanbul Popülasyonlarının KIR Genotipleri Açısından Karşılaştırılması

Mersin ve İstanbul popülasyonunda en sık görülen genotipler aynıdır. Bunların oranları tablo 24'te verilmiştir.

**Tablo 24:** Mersin ve İstanbul popülasyonunda en sık görülen 6 KIR genotipinin karşılaştırılması Çerçeve genleri gri renkle, aktive edici genler kırmızı renkle, inhibe edici genler yeşil renkle ve psödogenler sarı renkle gösterilmiştir.

	3DL3	2DS2	2DL2	2DL3	2DP1	2DL1	3DP1	2DL4	3DL1	3DS1	2DL5	2DS3	2DS5	2DS1	2DS4	3DL2	genotip	no	% İst	% mersin
																	AA	1	27,3	27
																	AB	4	13,6	10
																	AB	5	11,7	9
																	AB	2	5,2	10
																	AB	3	4,5	2
																	BB	71	3,9	5
																	BB	73	3,2	4

## **Mersin Populasyonunun KIR Gen Frekanslarının Diğer Dünya Populasyonlarıyla Karşılaştırılması**

Mersin populasyonunun KIR gen frekanslarının diğer dünya populasyonlarıyla karşılaştırılması sonucu elde edilen p değerleri tablo 25'te verilmiştir.

Yunan populasyonu ile Mersin Populasyonu KIR gen frekansı açısından karşılaştırıldığında 2DL1 ve 2DS5 genlerinde anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p=0,007$ ,  $p=0,002$ ).

Alman populasyonu ile Mersin populasyonu KIR gen frekansı açısından karşılaştırıldığında 2DL5, 2DS4, 2DS5 genlerinde farklılık saptanmıştır ( $p=0,027$ ,  $p=0,041$ ,  $p=0,029$ ).

İrlanda populasyonu ile Mersin populasyonu KIR gen frekansı açısından karşılaştırıldığında 2DL3, 2DL5, 2DS4, 3DL1 genlerinde farklılık saptanmıştır ( $p=0,032$ ,  $p=0,001$ ,  $p=0,041$ ,  $p=0,025$ ).

Fransız populasyonu ile Mersin populasyonu KIR gen frekansı açısından karşılaştırıldığında 2DL3, 2DS5 genlerinde farklılık saptanmıştır ( $p=0,020$ ,  $p=0,041$ ).

Fin populasyonu ile Mersin populasyonu KIR gen frekansı açısından karşılaştırıldığında 2DL3, 2DS2 genlerinde farklılık saptanmıştır ( $p=0,0$ ,  $p=0,038$ ).

Filistin populasyonu ile Mersin populasyonu KIR gen frekansı açısından karşılaştırıldığında 2DL1, 2DS5 genlerinde farklılık saptanmıştır ( $p=0,0$ ,  $p=0,041$ ).

Lübnan populasyonu ile Mersin populasyonu KIR gen frekansı açısından karşılaştırıldığında genler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Hint populasyonu ile Mersin populasyonu KIR gen frekansı açısından karşılaştırıldığında 2DL1, 2DL2, 2DL3, 2DL5, 2DS1, 2DS4 genlerinde farklılık saptanmıştır ( $p=0,04$ ,  $p=0,0$ ,  $p=0,007$ ,  $p=0,0$ ,  $p=0,010$ ,  $p=0,013$ ).

Çinli populasyonu ile Mersin populasyonu KIR gen frekansı açısından karşılaştırıldığında 2DL2, 2DL3, 2DL5, 2DS2, 2DS3, 2DS5 genlerinde farklılık saptanmıştır ( $p=0,0$ ,  $p=0,0$ ,  $p=0,0$ ,  $p=0,0$ ,  $p=0,0$ ,  $p=0,006$ ).

Japon populasyonu ile Mersin populasyonu KIR gen frekansı açısından karşılaştırıldığında 2DL2, 2DL3, 2DL5, 2DS2, 2DS3 genlerinde farklılık saptanmıştır ( $p=0,0$ ,  $p=0,0$ ,  $p=0,002$ ,  $p=0,0$ ,  $p=0,006$ ).

Senegal populasyonu ile Mersin populasyonu KIR gen frekansı açısından karşılaştırıldığında 2DL3, 2DS1, 2DS4, 3DL1, 3DS1 genlerinde farklılık saptanmıştır ( $p=0,032$ ,  $p=0,0$ ,  $p=0,001$ ,  $p=0,005$ ,  $p=0,0$ ).

Meksika populasyonu ile Mersin populasyonu KIR gen frekansı açısından karşılaştırıldığında 2DL3, 2DS3, 2DS4, 3DL1 genlerinde farklılık saptanmıştır ( $p=0,0$ ,  $p=0,006$ ,  $p=0,001$ ,  $p=0,041$ ,  $p=0,005$ ).

Avusturalya aborjinleri ile Mersin populasyonu KIR gen frekansı açısından karşılaştırıldığında 2DL1, 2DL2, 2DL3, 2DS1, 2DS2, 2DS3, 2DS4, 3DL1, 3DS1 genlerinde farklılık saptanmıştır ( $p=0,0$ ,  $p=0,0$ ,  $p=0,007$ ,  $p=0,0$ ,  $p=0,0$ ,  $p=0,0$ ,  $p=0,013$ ,  $p=0,0$ ,  $p=0,0$ ).



**Tablo 25:** Mersin populasyonunun KIR gen frekanslarının diğer dünya populasyonlarıyla karşılaştırılması (Mer: Mersin, Yun: Yunanistan, Al: Almanya, Ir: İrlanda, Fra: Fransa, Fin: Finlandiya, Lüb: Lübnan, Hin: Hindistan, Jap: Japonya, Sen: Senegal, Abor: Aborjinler, Mek: Meksika)

KIR	Yun-Mer p	Al-Mer P	Ir-Mer p	Fra-Mer p	Fin-Mer p	Fil-Mer p	Lüb-Mer p	Hin-Mer p	Çin-Mer p	Jap-Mer p	Sen-Mer P	Mek-Mer p	Abor-Mer p
2DL1	0,007	0,134	0,723	1.0	0,184	0,0	0,431	0,04	0,431	0,184	0,184	0,184	0,0
2DL2	0,714	0,624	0,393	0,714	0,179	0,139	0,326	0,0	0,0	0,0	0,714	0,142	0,0
2DL3	0,105	0,151	0,032	0,020	0,0	0,344	0,105	0,007	0,0	0,0	0,032	0,0	0,007
2DL5	—	0,027	0,001	0,085	0,805	—	—	0,0	0,0	0,002	0,327	0,142	—
2DS1	0,453	0,9	1.0	0,8	0,453	0,321	0,618	0,010	0,446	0,527	0,0	0,532	0,0
2DS2	0,903	0,175	0,331	0,807	0,038	0,084	0,389	0,109	0,0	0,0	0,086	0,178	0,0
2DS3	0,441	0,508	0,695	0,896	0,142	0,441	0,368	0,097	0,0	0,006	0,142	0,006	0,0
2DS4	0,407	0,041	0,041	0,229	0,499	0,407	0,351	0,013	0,499	0,229	0,001	0,041	0,013
2DS5	0,002	0,029	0,203	0,041	0,901	0,041	0,203	0,214	0,006	0,073	0,160	0,901	—
3DL1	0,834	0,159	0,025	0,159	0,499	0,420	0,159	0,420	0,499	0,058	0,005	0,005	0,0
3DS1	0,461	—	0,710	0,711	0,139	0,710	0,383	0,710	0,168	0,168	0,0	1	0,0

## Mersin Populasyonundaki Kadınlardan Spontan Abortus Öyküsü Olanlarla Olmayanların KIR Gen Frekansları Açısından Karşılaştırılması

Spontan abortus öyküsü olan 27 kadın ile spontan abortus öyküsü olmayan 84 kadın arasında KIR gen frekansları açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır (tablo 26).

**Tablo 26:** Mersin populasyonundaki kadınlardan spontan abortus öyküsü olanlarla olmayanların karşılaştırılması

	Gen	Spontan abortus öyküsü olmayan kadınlar		Spontan abortus öyküsü olan kadınlar		P değeri
		Sayı	%	Sayı	%	
<b>İnhibitör KIR</b>	2DL1	83	98,8	27	100	1
	2DL2	39	46,4	18	66,7	0,079
	2DL3	68	81	24	88,9	0,557
	2DL4	84	100	27	100	1
	2DL5	49	58,3	21	77,8	0,107
	3DL1	75	89,3	24	88,9	1
	3DL2	84	100	26	96,3	0,243
	3DL3	84	100	27	100	1
<b>Aktivatör KIR</b>	2DS1	30	35,7	13	48,1	0,265
	2DS2	39	46,4	18	66,7	0,079
	2DS3	28	33,3	11	40,7	0,496
	2DS4	76	90,5	24	88,9	0,727
	2DS5	34	40,5	12	44,4	0,823
	3DS1	36	42,9	13	48,1	0,661
<b>psödogen</b>	2DP1	83	98,8	26	96,3	0,429
	3DP1	84	100	26	96,3	0,243

## Mersin Populasyonunda Kanser Öyküsü Olanlarla Olmayanların KIR Gen Frekansları Açısından Karşılaştırılması

Mersin populasyonunda kanser öyküsü olan 16 kişi ile kanser öyküsü olmayan 184 kişi KIR gen frekansları açısından karşılaştırıldığında aktivatör KIR genlerinden 3DS1 gen frekansının kanser öyküsü olanlarda anlamlı derecede yüksek olduğu gözlenmiştir ( $p=0,032$ ). Bu iki grupta diğer inhibitör,

aktivatör KIR genleri ve psödogenlerin frekansları arasında anlamlı farklılık gözlenmemiştir (tablo 27).

**Tablo 27:** Mersin popülasyonunda kanser öyküsü olanlarla olmayanların KIR gen frekansları açısından karşılaştırılması

	Gen	Kanser öyküsü olanlar		Kanser öyküsü olmayanlar		P değeri
		Sayı	%	Sayı	%	
<b>İnhibitör KIR</b>	2DL1	16	100	178	96,7	1
	2DL2	7	43,8	98	53,3	0,462
	2DL3	13	81,3	147	79,9	1
	2DL4	16	100	182	98,9	1
	2DL5	12	75	104	56,5	0,191
	3DL1	14	87,5	168	91,3	0,642
	3DL2	16	100	183	99,5	1
	3DL3	16	100	183	99,5	1
<b>Aktivatör KIR</b>	2DS1	9	56,3	67	36,4	0,178
	2DS2	7	43,8	99	53,8	0,449
	2DS3	7	43,8	58	31,5	0,404
	2DS4	15	93,8	168	91,3	1
	2DS5	9	56,3	69	37,5	0,182
	<b>3DS1</b>	11	68,8	72	39,1	<b>0,032</b>
<b>psödogen</b>	2DP1	16	100	177	96,2	1
	3DP1	16	100	183	99,5	1

## TARTIŞMA

Günümüzde KIR genlerinin özellikle transplantasyon reddi ve hastalıklarla ilişkisini gösteren çalışmaların sayısının artmasıyla birlikte tüm toplumlarda bu konuyla ilgili populasyon taramaları yapılmaya başlanmıştır. KIR genleri ile ilgili birbirinden bağımsız olarak yapılan bu çalışmalar, 2003 yılında HLA için hazırlanmış olan bilgi bankasına eklenerek bir araya getirilmiştir<sup>14</sup>. Bilgi bankasında 77 farklı populasyondan 274 farklı genotip, 267 farklı allel bulunmaktadır. KIR genleri ile ilgili böylesine geniş kapsamlı bilgi bankalarının kurulmasının en büyük sebebi transplantasyon genetiği ile uğraşanların, akraba dışı kemik iliği nakillerinde alıcı ve verici arasındaki KIR uyumunun önemini ortaya koymasındır<sup>9, 10</sup>.

Hazırlanmış bilgi bankasında, İstanbul Üniversitesinden yapılmış bir çalışma bulunmaktadır. Çalışma Behçet hastalarında yapılmış olup, 154 kişiden oluşan kontrol grubu Türk populasyonu olarak değerlendirilmiştir<sup>92</sup>. Yaptığımız bu çalışma KIR genlerinin ve genotiplerinin belirlenebilmesi için Türkiye’de yapılmış ilk populasyon çalışmasıdır. Çalışmamızda Mersin populasyonunda KIR gen frekanslarının, haplotip ve genotip oranlarının değerlendirilmesi, bu oranların diğer populasyonlarla karşılaştırılarak tarihsel süreçte bölgemizin genotipinin nasıl etkilendiğinin ortaya konulması, yeni genotiplerin ortaya çıkarılması ve elde edilen verilerin bilgi bankasına eklenerek bilime katkı sağlanması amaçlanmıştır.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre Mersin’deki KIR gen frekansları yüksek değişkenlik göstermektedir. Daha önce beyazlarda, Afrikalılarda ve Asyalılarda yapılan çalışmalarda inhibitör genlerden KIR2DL4, KIR3DL2 ve KIR3DL3’ün tüm bireylerde bulunduğu bildirilmiştir (% 100)<sup>41,55,105</sup>. Çalışmamızda KIR2DL4’ün 2 bireyde (% 99), KIR3DL2 ve KIR3DL3’ün ise 1 bireyde (% 99,5) bulunmadığı gözlenmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda aktivatör KIR genlerinin inhibitör KIR genlerine oranla daha heterojen olduğu ve daha düşük değerler gösterdiği, buna ek olarak inhibitör KIR genlerinin frekanslarının, aktivatör KIR genlerinden daha yüksek olduğu ve daha homojen oldukları bildirilmiştir<sup>41</sup>. Bizim sonuçlarımız bu bulguları desteklemektedir. Tüm inhibitör KIR genlerinin frekansları 2DL2 (0,53) ve 2DL5 (0,58) dışında 0,8’in üzerindeyken, tüm aktivatör KIR genlerinin frekansları 2DS4 (0,92) dışında

0,53'ün altındadır. Yine frekansı en yüksek olan genler 2DS4, 2DP1, 2DL1 ve 3DL1 iken (90%'ın üzerinde), frekansı en düşük olan genler 2DS1, 2DS3, 2DS5 ve 3DS1'dir (50 %'nin altında).

A haplotipi için homozigot (AA genotipi) olan bireylerin genotiplerinde aktive edici KIR'lardan sadece KIR2DS4 bulunmaktadır. Beyaz ırkta yapılan çalışmalarda eksprese edilmeyen variant allelik form olan KIR2DS4\*003 frekansının daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Variant allelik formların homozigot olduğu ve aktive edici molekül olan 2DS4'ün eksprese edilmediği bireylerde hem aktive, hem inhibe edici KIR molekülü olan KIR2DL4'ün NK hücrelerinin aktivasyonundan sorumlu olduğu düşünülmektedir. Aktive edici KIR reseptörlerinin sentezlenmemesinin özellikle enfeksiyona karşı ortaya çıkan immün cevap üzerinde negatif etkili olduğu düşünülmektedir<sup>40,41</sup>. Çalışmamızın sonucunda AA genotipi taşıyan 54 bireyde (% 27) 2DS4 genini allelik formları açısından incelediğimizde delesyona uğramış ve eksprese edilmeyen variant allelleri (KIR2DS4\*003/4/6/7) homozigot olarak taşıyan 28 (%51,9) kişi olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre bizim populasyonun % 14'ünde aktive edici KIR genlerinin sentezlenmediğini ve bu bireylerin özellikle NK hücrelerin birincil savunmada rol oynadığı enfeksiyon hastalıklarına yatkınlıklarının daha fazla olacağı söylenebilir.

Çalışmamız sonucunda KIR genotiplerini taradığımız, 200 bireyde 40 farklı genotip saptanmıştır. Bu konuyla ilgili yapılan tüm çalışmalarla uyumlu olarak bu çalışmada da en sık gözlenen genotip, 54 kişide gözlenen ve bilgi bankasında 1 numara olarak kayıtlı AA genotipidir (% 27). 8 farklı genotip profili sadece 2'şer kişide gözlenmekteyken, 17 farklı genotip profili sadece 1'er kişide gözlenmiştir. Farklı populasyonlarda yapılan çalışmalarda AA genotipinin frekansları Çinlilerde % 58,7, Japonlarda % 56, Güney Asyalılarda % 15,7, Afrikalılarda % 35,3, Avusturalya aborjinlerinde % 1,7, beyazlarda ise % 28,3 oranındadır<sup>105, 110</sup>. Bizim toplumumuzda gözlenen % 27'lik frekans beyaz ırkla uyumlu görülmektedir.

Bugüne kadar tüm dünyada 77 farklı populasyon taranmış ve toplam olarak 274 farklı genotip bulunmuştur. Çalışma sonucu elde ettiğimiz 40 farklı genotipten 10'u bilgi bankasında daha önce gösterilmemiş olup yeni genotiplerdir ve ilk defa bu çalışmada gösterilmiştir. Bu bölgenin dünyanın pek

çok bölgesinden farklı genetik havuza sahip olması ve daha önce KIR genotipleri açısından taranmamış olmasından dolayı 200 kişilik bir grupta bu kadar önemli sayıda yeni genotip bulabildiğimizi düşünüyoruz. Bu yeni genotip profillerinin 3'ü AB genotipindeyken, 7'si BB genotipindedir. Yeni genotiplerden Y1 ve Y2 iki kişide ve diğer yeni bulunan 8 genotip ise birer kişide ilk kez gözlenmiştir.

KIR gen farklılığına dayanarak dünya populasyonları altı geniş gruba ayrılmıştır: Afrikalılar, Kuzeydoğu Asyalılar, Meksikalılar, Yerli Amerikalılar, Asyalı Hindular ve Avrupalılar. Birbirinden ayrılan bu populasyonlar, tarih öncesi dönemde Afrika'dan başlayan üç büyük göç dalgasıyla açıklanmaktadır. Birinci ve ikinci göç dalgalarından etkilenen populasyonlar grup A ve grup B haplotiplerinin içeriği açısından farklılıklar göstermektedirler. İkinci göç dalgasının erken dönemlerinden etkilenen populasyonlar (Çinliler, Koreliler, Taylandlılar ve Japonlar) yüksek oranda grup A haplotipi içerirler ve bu populasyonların çoğu tek bir aktivatör KIR geni taşırlar. Bu göç dalgasının geç dönemleri ise yerli Amerikalıları etkilemiş olup bu bölgelerde grup B haplotipi baskındır. Büyük göç alan populasyonlarda (yerli Amerika, Hindistan ve Avustralya) grup B KIR haplotipleri ve aktivatör KIR genlerinin frekansı yüksek olarak gözlemlendiği bildirilmiştir<sup>103</sup>. Bölgemizi de etkilediğini düşündüğümüz üçüncü göç dalgası ise Afrika'dan başlayıp Anadolu'dan Avrupa'ya uzanmaktadır<sup>103</sup>. Bu göç dalgasından etkilenen bölgelerde yapılan diğer çalışmalarda gösterildiği gibi<sup>47, 48, 105</sup> Mersin'de de grup A KIR haplotipleri ile grup B KIR haplotipleri eşit olarak dağılmıştır. Çalışmamızda A haplotipinin frekansı % 50,5 iken B haplotipinin frekansı % 49,5 olarak bulunmuştur. Bu sonuca göre A haplotipinin B haplotipine oranı 1,02'dir.

Bir populyasyonda B haplotipinin A haplotipine oranı arttıkça aktive edici KIR genlerinin inhibe edici KIR genlerine oranı artmaktadır. Patojenlere maruziyetin artmasıyla B haplotipinin A haplotipine oranının artması tercih edilen bir durumdur, çünkü B haplotipindeki KIR genleri NK ve/veya T hücrelerinin patojenlere karşı aktivasyonundan sorumludur. Bununla birlikte aynı aktivatör genlerin otoimmün hastalıkların patogeneğinde de rol oynadığı bildirilmiştir. A haplotipindeki KIR genleri ise daha güçlü self-tolerans sağlarken patojenlere karşı aktivasyonda daha az etkilidirler. Her iki KIR haplotipinin bu şekilde farklı

ve tamamlayıcı özellikleri dengeleyici seçilime temel oluşturmaktadır. Bu modelin sonucu olarak enfeksiyon hastalıkları açısından baskı altında olan populasyonlarda B haplotip frekansının daha yüksek olması beklenmektedir<sup>106</sup>. İlginç bir hipotez olarak populasyonlardaki kazanılmış aktivatör KIR genlerinin büyük göçlerde bireylerin sağ kalabilmek için çevre ile mücadele edebilmesi amacıyla geliştiği düşünülmektedir. Bu çalışmalar sonucunda, modern populasyonların KIR dağılımlarının belirlenmesinde, tarih öncesi göç dalgaları ve bunun sonucu olarak ortaya çıkan populasyon karışımlarının belirgin rol oynadığını çıkarabiliriz<sup>103</sup>.

Mersin ili tek başına ele alındığında, merkezde yaşayan 60 kişi ile civar ilçe ve köylerde yaşayan 140 kişi karşılaştırılmış ve bu iki grup arasında inhibitör, aktivatör KIR genleri ve psödogenlerin frekansları açısından anlamlı farklılık olmadığı gözlenmiştir. Yine merkez ve civar yerleşimlerde en sık görülen genotiplerin aynı olduğu ve bunların oranları arasında da anlamlı farklılık bulunmadığı gözlenmiştir. Mersin ili yoğun göç alan ve büyüme hızı yüksek olan bir ildir. İl merkezinin yanı sıra Tarsus gibi bazı ilçeleri de yine bu yoğun göçten etkilenen bölgelerdir. Merkez ile civar yerleşimler arasında anlamlı fark görülmemesinin sebebinin her iki grubun son dönem göçlerinden eşit oranda etkilenmesinden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Çalışmanın farklı bir ayağı olarak Mersin'in batısında yer alan ilçeler ile köyler göçten etkilenmeyen bölgeler olarak gruplandırılmış, Mersin'in doğusunda yer alan ve Tarsus ilçesini de içeren bölge göçlerin yoğun olduğu bölge olarak gruplandırılmış ve bu her iki bölgede yaşayan bireylerin KIR gen frekansları karşılaştırılması yapılmıştır. Bunun sonucunda göçten etkilenmeyen bölgelerde yaşayan 93 kişi ile göçlerin yoğun olduğu bölgelerde yaşayan 107 kişinin KIR gen frekansları karşılaştırıldığında aktivatör KIR genlerinden 2DS2 ve 2DS3 gen frekanslarının göç alan bölgelerde yaşayan populasyonda anlamlı derecede yüksek olduğu gözlenmiştir ( $p=0,047$ ,  $p=0,034$ ). Bununla birlikte diğer inhibitör, aktivatör KIR genleri ve psödogenlerin frekansları arasında anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Göç alan bölgelerde yaşayan populasyonda B grubu KIR haplotipinin karakteristik genlerinden olan 2DS2 ve 2DS3 aktivatör genlerinin frekansının yüksek olarak gözlenmesi "ortam değişikliği ve göçlerin

aktivatör genlerin frekansında artışa yol açtığı” hipotezini doğrulayan bir bulgudur.

Mersin ile İstanbul popülasyonlarını<sup>92</sup> KIR gen frekansları açısından karşılaştırdığımızda KIR genlerinden sadece 3DS1 gen frekansında farklılık olduğu gözlenmiş, 3DS1 geni dışında diğer inhibitör, aktivatör KIR genleri ve psödogenlerin frekansları arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. Bunlara ek olarak en sık gözlenen genotiplerin aynı olduğu bulunmuştur. Bu iki popülasyon arasında tek gende görülen frekans farklılığının sebebinin coğrafi farklılıktan kaynaklandığı düşünmekteyiz. Aynı ülkenin farklı coğrafi bölgelerinde bazı genlerde farklılıkların olması gözlenebilecek bir durumdur. Örneğin Rajalingham ve arkadaşları yaptıkları çalışmada Hindistan’ın güneyinden üç farklı bölgeyi kuzey Hindistan’dan farklı bir bölgeyle karşılaştırmışlar ve bazı bölgelerde beş gende bile farklılığa rastlamışlardır<sup>103</sup>. Yine Rodriguez ve arkadaşları Meksika’da yaşayan Mestizo yerlileriyle ülkenin üç farklı bölgesinden oluşturulmuş popülasyon gruplarını karşılaştırmış ve her grup arasında en az bir gende bazı gruplar arasında ise dört gende farklılıklar olduğunu bildirmişlerdir<sup>112</sup>.

Elde ettiğimiz sonuçları farklı toplumlarda yapılmış çalışmalar ile karşılaştırdığımızda ise gen frekanslarımızın yakın olduğu popülasyonların Lübnan, Fransa, Yunanistan, Filistin, Almanya ve Finlandiya olduğu gözlenmiştir<sup>41, 48, 107, 108, 111</sup>. Lübnan’dan 120 kişi ile yapılan çalışma sonucu elde edilen KIR gen frekanslarını Mersin popülasyonu ile karşılaştırdığımızda gen frekanslarının yüksek benzerlik gösterdiği saptanmıştır<sup>111</sup>. Yine Fransızlar, Yunanlılar, Filistinliler ve Finlandiyalılar ile Mersin popülasyonu karşılaştırdığımızda KIR gen frekanslarının benzer olduğu, sadece iki gende farklılık olduğu gözlenmiştir<sup>41, 107, 108</sup>. Fransızlarla 2DL3 ve 2DS5 genlerinde (p=0,020, p=0,041), Yunanlılarla 2DL1 ve 2DS5 genlerinde (p=0,007, p=0,002), Filistinlilerle 2DL1, 2DS5 genlerinde (p=0,0, p=0,041) ve Finlandiyalılarla ise 2DL3, 2DS2 genlerinde (p=0,0, p=0,038) farklılık olduğu gözlenmiştir. Almanlar ile Mersin popülasyonu KIR gen frekansı açısından karşılaştırıldığında gen frekanslarının benzer olduğu ve sadece üç gende, 2DL5, 2DS4, 2DS5’te farklılık olduğu gözlenmiştir (p=0,027, p=0,041, p=0,029). Elde edilen bu sonuçlardan, coğrafi olarak yakın olduğumuz ve üçüncü göç dalgasından



etkilenen Ortadoğu ve Avrupa ülkeleriyle KIR genleri açısından benzer özellikler taşıdığımızı söyleyebiliriz. Karşılaştırılan populasyonlardan sadece İrlanda, Avrupa ülkesi olmasına rağmen KIR frekansları açısından bizim populasyonumuzla pek uyumlu görülmemektedir<sup>109</sup>. İrlandalılar ile Mersin populasyonu KIR gen frekansı açısından karşılaştırıldığında dört gende, 2DL3, 2DL5, 2DS4, 3DL1' de farklılık olduğu gözlenmiştir (p=0,032, p=0,001, p=0,041, p=0,025).

KIR geninin kökeni Afrika'dır. Daha önce yapılan çalışmalarda Afrikalılar ve beyazların özellikle aktive edici KIR genleri açısından farklılık gösterdiği ve özellikle KIR2DS1, 2DS2, 2DS3, 3DS1 genlerinin Afrikalılarda daha düşük olarak gözlendiği bildirilmiştir<sup>41</sup>. Afrika ülkelerinden Senegallilerle<sup>41</sup> Mersin populasyonunu KIR gen frekansı açısından karşılaştırdığımızda 2DL3, 2DS1, 2DS4, 3DL1, 3DS1 genlerinde farklılık olduğu gözlenmiştir (p=0,032, p=0,0, p=0,001, p=0,005, p=0,0). Elde ettiğimiz sonuçlarda, bu bilgiler ile uyumlu olarak 2DS1, 3DS1 genlerinin frekanslarını Mersin populasyonunda Senegallilere oranla daha yüksek olduğu ve ek olarak inhibitör genlerden 2DL3, 3DL1'in bizim populasyonumuzda daha düşük olduğu gözlenmiştir.

Sonuçlarımızı Asya ülkeleri ile karşılaştırdığımızda bu ülkeler ile KIR gen frekanslarımızın uyumlu olmadığı gözlenmiştir. Hintliler ile Mersin populasyonu KIR gen frekansı açısından karşılaştırıldığında, altı KIR geninde, 2DL1, 2DL2, 2DL3, 2DL5, 2DS1, 2DS4 farklılık saptanmıştır (p=0,04, p=0,0, p=0,007, p=0,0, p=0,010, p=0,013). İkinci göç dalgası üzerinde bulunan Uzakdoğu ülkelerinde daha önce yapılan çalışmalarda KIR 2DL3 ve 2DL1 genlerinin beyazlara oranla daha yüksek olduğu, KIR 2DS2, 2DL2 ve 2DS3 genlerinin ise beyazlara oranla daha düşük olduğu gözlenmiştir<sup>105, 110</sup>. Çinliler ile Mersin populasyonu KIR gen frekansı açısından karşılaştırıldığında altı gende, 2DL2, 2DL3, 2DL5, 2DS2, 2DS3, 2DS5 genlerinde farklılık saptanmıştır (p=0,0, p=0,0, p=0,0, p=0,0, p=0,0, p=0,006). Yine Japonlarla, Mersin populasyonu KIR gen frekansı açısından karşılaştırıldığında beş KIR geninde, 2DL2, 2DL3, 2DL5, 2DS2, 2DS3'te farklılık saptanmıştır (p=0,0, p=0,0, p=0,002, p=0,0, p=0,006). Uzakdoğu populasyonlarının beyaz ırkla daha önce bildirilen gen frekansları farklılıklarına ek olarak Mersin populasyonu ile karşılaştırdığımızda 2DL5 ve 2DS5 genlerinde de farklılıklar olduğu gözlenmiştir.

İkinci göç dalgasından etkilenen ve coğrafi olarak Mersin'e uzak olan Meksika popülasyonu ile Mersin popülasyonu KIR gen frekansı açısından karşılaştırıldığında dört gende, 2DL3, 2DS3, 2DS4, 3DL1 genlerinde farklılık olduğu gözlenmiştir ( $p=0,0$ ,  $p=0,006$ ,  $p=0,001$ ,  $p=0,041$ ,  $p=0,005$ ).

Üçüncü göç dalgasından etkilenen en uzak bölge olan Avustralya Aborjinleri ile Mersin popülasyonu KIR gen frekansı açısından karşılaştırıldığında çerçeve genleri dışında diğer tüm genlerin frekansları (2DL1, 2DL2, 2DL3, 2DS1, 2DS2, 2DS3, 2DS4, 3DL1, 3DS1) arasında anlamlı farklılıklar olduğu gözlenmiştir ( $p=0,0$ ,  $p=0,0$ ,  $p=0,007$ ,  $p=0,0$ ,  $p=0,0$ ,  $p=0,0$ ,  $p=0,013$ ,  $p=0,0$ ,  $p=0,0$ ). Toneva ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada Avustralya Aborjinlerinin KIR gen frekansları açısından bugüne kadar taranmış olan tüm popülasyonlardan yüksek oranda farklılık gösterdiği bildirilmiştir<sup>104</sup>. Aborjinlerin KIR 2DS4 dışında diğer aktive edici KIR genleri frekanslarının beyazlara oranla yüksek olduğu, 2DL2 dışında diğer inhibe edici KIR reseptörleri açısından ise düşük olduğu bildirilmiştir<sup>104</sup>. Bizim sonuçlarımızda Aborjinlerin, beyazlarla olan farklılıklarıyla uyumlu görünmektedir.

Yapılan bir çalışmada inhibe edici KIR genlerinin spontan abortus ile ilişkili olduğu bildirilmiştir<sup>86</sup>. Eşler arası inhibe edici KIR reseptör farklılığı (2DL1, 2DL2, 2DL3) olan durumlarda ve kadınların sınırlı inhibitör KIR repertuarına sahip olduğu durumlarda alloimmün abortusların daha sık olduğu bildirilmiştir<sup>86</sup>. Çalışma grubunda bulunan 111 kadın, spontan abortus öyküsü olanlar (27 kadın) ile spontan abortus öyküsü olmayanlar (84 kadın) olarak iki gruba ayrılmış ve bu gruplar KIR gen frekansları açısından karşılaştırılmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlara göre iki grup arasında anlamlı farklılık bulunmadığı gözlenmiştir. Spontan abortuslarla ilgili literatürden farklı sonuçlar bulunmasının iki nedene bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Birincisi kadınlardan spontan abortus öyküsünün sadece geçmişe yönelik öykü ile alınması ve alloimmün nedeni olanların bu şekilde ayrılamaması. İkincisi ise hastalıklarda yapılan genetik çalışmalar için birey sayısının az olması.

KIR genlerinin hematolojik malignansilerin ve viral kaynaklı solid tümörlerin patogenezinde rol oynadığı daha önce yapılan çalışmalarda bildirilmiştir<sup>93, 95, 97, 98, 99</sup>. Çalışmamızda kanser öyküsü olan ve farklı kanserlere

sahip 16 kişi ile kanser öyküsü olmayan 184 kişi KIR gen frekansları açısından karşılaştırıldığında aktivatör KIR genlerinden 3DS1 gen frekansının kanser öyküsü olanlarda anlamlı derecede yüksek olduğu gözlenmiştir ( $p=0,032$ ). Kanseri grubundaki bireylerin farklı kanser türlerine sahip olmaları ve birey sayısının az olmasından dolayı bu karşılaştırma literatürde bulunan çalışmaları destekler nitelikte olmasına karşın yeterli değildir.

Sonuç olarak KIR genleri, yüksek polimorfizm gösteren, ve yaygın farklılıklar ile karakterize, HLA gibi populasyon genetiği belirteci olarak kullanılabilecek genlerdir<sup>41</sup>. KIR genleri ile ilgili geniş kapsamlı populasyon taramalarının yapılması ve bilgi bankalarının kurulmasının en büyük sebebi transplantasyon genetiği ile uğraşanların, akraba dışı kemik iliği nakillerinde alıcı ve verici arasındaki KIR uyumunun önemini ortaya koymasıdır. Fare ve insan modellerinde yapılan pek çok çalışmada KIR genlerinin ve genotiplerinin hematopoetik kök hücre ve kemik iliği transplantasyon sonuçları üzerinde önemli rol oynadıklarını göstermektedir<sup>65, 66</sup>. Bu nedenle transplantasyon için HLA doku tiplendirmesi yapan laboratuvarlar ve kemik iliği bankaları artık KIR tiplendirmesini de rutinlerine sokmaya başlamışlardır.

řu anda KIR tiplendirilmesi için kullanılan en ileri yöntem bizim de çalışmamızda kullandığımız SSOP tekniğidir. Bu tekniğin daha da geliştirilerek KIR genleri için DNA dizi analizi yapılması gündemde olmakla birlikte bu konudaki çalışmalar henüz tamamlanmamıştır. Bu çalışmaların geliştirilebilmesi ve tamamlanabilmesi için yeni bulunacak genotipler, genler ve alleller önem taşımaktadır. KIR genlerinin kodlandığı genomik bölgede bugüne kadar A ve B haplotipinin gen içeriğinin farklı sayılarla ve kombinasyonlarla oluşturduğu 300'e yakın farklı genotip gösterilmiştir. Buna rağmen, yeni genotiplerin ve değişik allelik variantları kodlayan genomik organizasyonların bulunabilmesi için farklı etnik gruplarda daha büyük çaplı populasyon taramaları ve aile çalışmalarının yapılması gerekmektedir.

Modern toplumların KIR gen dağılımının oluşmasında tarih öncesi göç dalgaları ve populasyon karışımlarının beslediği genetik havuz önemli rol oynamaktadır. Elde ettiğimiz sonuçlar, Mersin populasyonunda KIR genomunda görülen bu farklılığın sebebinin tarih boyunca pek çok uygarlığın

bu bölgeyi yerleşim alanı olarak seçmesi ve buna bağlı olarak farklı etnik kökenlerin birbirleriyle karışması sonucu ortaya çıktığını düşündürmektedir.

Yaptığımız bu çalışmanın, KIR gen farklılığının ve KIR genotiplerinin, transplantasyon ve hastalık patogeneziindeki rollerine yönelik yapılacak olan daha ileri araştırmalara temel oluşturabilecek nitelikte bir çalışma olduğunu düşünmekteyiz.

## SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Mersin popülasyonunun KIR gen frekansları yüksek değişkenlik göstermektedir. Frekansı en yüksek olan genler 2DS4, 2DP1, 2DL1 ve 3DL1 iken (90%'ın üzerinde), frekansı en düşük olan genler 2DS1, 2DS3, 2DS5 ve 3DS1'dir (50 %'nin altında).
2. Mersin popülasyonun % 14'ünde aktive edici KIR genlerinin sentezlenmediği gözlenmiştir. Bu bireylerin özellikle NK hücrelerin birincil savunmada rol oynadığı enfeksiyon hastalıklarına yatkınlıklarının daha fazla olacağı söylenebilir.
3. Çalışmamız sonucunda 200 bireyde 40 farklı genotip saptanmıştır. En sık gözlenen genotip, 54 kişide gözlenen ve bilgi bankasında 1 numara olarak kayıtlı AA genotipidir (% 27).
4. Çalışmamız sonucu elde ettiğimiz 40 farklı genotipten 10'u bilgi bankasında daha önce gösterilmemiş olup yeni genotiplerdir ve ilk defa bu çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışmanın literatüre girmesiyle birlikte yeni bulunan genotipler bilgi bankasına eklenecektir.
5. Mersin'de grup A KIR haplotipleri ile grup B KIR haplotipleri eşit olarak dağılmıştır. A haplotipinin frekansı % 50,5, B haplotipinin frekansı ise % 49,5 olarak bulunmuştur. Bu sonuca göre A haplotipinin B haplotipine oranı 1,02'dir.
6. Mersin ilinde merkezde yaşayanlar ile civar ilçelerde ve köylerde yaşayanlar karşılaştırıldığında inhibitör, aktivatör KIR genleri ve psödogenlerin frekansları açısından anlamlı farklılık olmadığı gözlenmiştir. Yine Merkez ve civar yerleşimlerde en sık görülen genotiplerin aynı olduğu ve bunların oranları arasında da anlamlı farklılık bulunmadığı gözlenmiştir. Merkez ile civar yerleşimler arasında anlamlı fark görülmemesinin sebebinin her iki grubun son dönem göçlerinden eşit oranda etkilenmesinden kaynaklandığını düşünmekteyiz.
7. Çalışmamızda göçten etkilenmeyen bölgelerde yaşayanlarla, göçlerin yoğun olduğu bölgelerde yaşayanların KIR gen frekansları karşılaştırıldığında aktivatör KIR genlerinden 2DS2 ve 2DS3 gen frekanslarının göç alan bölgelerde yaşayan popülasyonda anlamlı derecede yüksek olduğu gözlenmiştir. Göç alan bölgelerde yaşayan popülasyonda B

grubu KIR haplotipinin karakteristik genlerinden olan 2DS2 ve 2DS3 aktivatör genlerinin frekansının yüksek olarak gözlenmesi “ortam değişikliği ve göçlerin aktivatör genlerin frekansında artışa yol açtığı” hipotezini doğrulayan bir bulgudur.

8. Mersin ile İstanbul popülasyonlarını KIR gen frekansları açısından karşılaştırdığımızda KIR genlerinden sadece 3DS1 gen frekansında farklılık olduğu gözlenmiştir. Bunlara ek olarak en sık gözlenen genotiplerin aynı olduğu bulunmuştur. Bu iki popülasyon arasında tek gende görülen frekans farklılığının sebebinin coğrafi farklılıktan kaynaklandığı düşünmekteyiz.
9. Elde ettiğimiz sonuçlara göre coğrafi olarak yakın olduğumuz ve üçüncü göç dalgasından etkilenen Ortadoğu ve Avrupa ülkeleriyle (Lübnan, Fransa, Yunanistan, Filistin, Almanya ve Finlandiya) KIR genleri açısından benzer özellikler taşıdığımızı söyleyebiliriz.
10. KIR frekansı açısından, Mersin popülasyonunun karşılaştığımız diğer tüm popülasyonlarla arasında anlamlı farklılıklar olduğu gözlenmiştir (Senegal, Hindistan, Çin, Japonya, Meksika ve Avustralya Aborjinleri)
11. Spontan abortus öyküsü olan ve spontan abortus öyküsü olmayan kadınlar KIR gen frekansları açısından karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı farklılık bulunmadığı gözlenmiştir. Spontan abortuslarla ilgili literatürden farklı sonuçlar bulunmasının kadınlardan spontan abortus öyküsünün sadece geçmişe yönelik öykü ile alınmasından ve alloimmün nedeni olanların bu şekilde ayrılmasından dolayı ve hastalıklarda yapılan genetik çalışmalar için birey sayısının az olmasından dolayı olduğunu düşünmekteyiz.
12. Kanser öyküsü olan ve kanser öyküsü olmayan bireyler KIR gen frekansları açısından karşılaştırıldığında çalışmamızda aktivatör KIR genlerinden 3DS1 gen frekansının kanser öyküsü olanlarda anlamlı derecede yüksek olduğu gözlenmiştir. Kanser grubundaki bireylerin farklı kanser türlerine sahip olmaları ve birey sayısının az olmasından dolayı bu karşılaştırma literatürde bulunan çalışmaları destekler nitelikte olmasına karşın yeterli değildir.
13. Yeni KIR genotiplerinin ve değişik allelik variantları kodlayan genomik organizasyonların bulunabilmesi için farklı etnik gruplarda daha büyük çaplı popülasyon taramaları ve aile çalışmalarının yapılması gerekmektedir.

14. Bu bölgenin genetik havuzunun büyük olması dolayısıyla allelik düzeyde tarama yapılması ile yeni allellerin bulunabileceği düşünülmektedir.
15. Çalışmamızın, KIR gen farklılığının ve KIR genotiplerinin, transplantasyon ve hastalık patogenezindeki rollerine yönelik yapılacak olan daha ileri araştırmalara temel oluşturabilecek nitelikte bir çalışma olduğunu düşünmekteyiz.

## KAYNAKLAR

1. O'Connor GM, Hart OM, Gardiner CM. Putting the natural killer cell in its place. *Immunology*. 2005; 117: 1–10.
2. Deniz G, Erten G, Kucuksezer UC, Kocacik D, Karagiannidis C, Aktas E, Akdis CA, Akdis M. Regulatory NK Cells Suppress Antigen-Specific T Cell Responses *The Journal of Immunology*. 2008;180: 850–857.
3. Uhrberg M, Valiante NM, Shum BP, Shilling HG, Lienert-Weidenbach K, Corliss B, Tyan D, Lanier LL, Parham P. Human diversity in killer cell inhibitory receptor genes. *Immunity*. 1997;7(6):753-763.
4. Khakoo SI, Rajalingam R, Shum BP, Weidenbach K, Flodin L, Muir DG, Canavez F, Cooper SL, Valiante NM, Lanier LL, Parham P. Rapid evolution of NK cell receptor systems demonstrated by comparison of chimpanzees and humans. *Immunity*. 2000;12(6):687-698.
5. Warren HS, Campbell AJ, Waldron JC, Lanier LL. Biphasic response of NK cells expressing both activating and inhibitory killer Ig-like receptors. *Int Immunol*. 2001;13(8):1043-1052.
6. Borrego F, Kabat J, Kim DK, Lieto L, Maasho K, Peña J, Solana R, Coligan JE. Structure and function of major histocompatibility complex (MHC) class I specific receptors expressed on human natural killer (NK) cells. *Mol Immunol*. 2002;38(9):637-660.
7. Trowsdale J. Genetic and functional relationships between MHC and NK receptor genes. *Immunity*. 2001;15(3):363-374.
8. Parham P. Immunogenetics of killer cell immunoglobulin-like receptors *Molecular Immunology*. 2005;42:459–462.
9. Davies SM, Ruggeri L, Defor T, Wagner JE, Weisdorf DJ, Miller JS, Velardi A, Blazar BR. Evaluation of KIR ligand incompatibility in mismatched unrelated donor hematopoietic transplants. Killer immunoglobulin-like receptor. *Blood*. 2002;100(10):3825-3827.
10. Jacobs R, Stoll M, Stratmann G, Leo R, Link H, Schmidt RE. CD16-CD56+ natural killer cells after bone marrow transplantation. *Blood*. 1992;79(12):3239-3244.



11. Young NT, Bunce M, Morris PJ, Welsh KI. Killer cell inhibitory receptor interactions with HLA class I molecules: implications for alloreactivity and transplantation. *Hum Immunol.* 1997;52(1):1-11.
12. Moretta L, Biassoni R, Bottino C, Cantoni C, Pende D, Mingari MC, Moretta A Human NK cells and their receptors. *Microbes Infect.* 2002;4(15):1539-1544.
13. Williams AP, Bateman AR, Khakoo SI. Hanging in the balance. KIR and their role in disease. *Mol Interv.* 2005;5(4):226-240.
14. Middleton D, Menchaca L, Rood H, Komerofsky R. New allele frequency database: <http://www.allelefreqencies.net>. *Tissue Antigens.* 2003;61(5):403-407.
15. Roitt IM, Delves PJ. Innate Immunity. In: *Roitt's Essential Immunology*. Blackwell Science. Tenth Edition. UK, 2001. 1-19.
16. Delves PJ, Roitt İM. The immune system. (Second part). *N Engl J Med.* 2000; 343:108-117.
17. Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM. Doğal İmmün Cevap. *Roitt's Temel İmmünoloji. Çev. Ed. İlman MN, Yıldız M. Atlas Kitabevi, Ankara, 2008 ( In: Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM. Roitt's Essential Immunology, Blackwell Science, 11. Ed, UK) bölüm 1, sf: 1-20.*
18. Clark R, Kupper T. Old Meets New: The Interaction Between Innate and Adaptive Immunity. *J Invest Dermatol.* 2005; 125: 629–637.
19. Bachmann MF, Kopf M. Balancing protective immunity and immunopathology. *Current Opinion in Immunology.* 2002; 14:413–419.
20. Medzhitov R, Janeway C. Innate immunity. *N Engl J Med.* 2000;343 (5):338-344.
21. Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM. Antikorlar. *Roitt's Temel İmmünoloji. Çev. Ed. İlman MN, Yıldız M. Atlas Kitabevi, Ankara, 2008 (In: Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM. Roitt's Essential Immunology, Blackwell Science, 11. Ed., UK ) bölüm 3, sf: 37-60.*
22. Cooper MA, Fehniger TA, Caligiuri MA. The biology of human natural killer-cell subsets. *Trends in Immunology.* 2001;22(11):633-640.
23. Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM. Antijenler için Membran Reseptörleri. *Roitt's Temel İmmünoloji. Çev. Ed. İlman MN, Yıldız M. Atlas Kitabevi, Ankara, 2008 ( In: Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM.*

- Roitt's Essential Immunology, Blackwell Science, 11. Ed., UK ) bölüm 4, sf: 61-85. 97
24. Choo SY. The HLA system: Genetics, immunology, Clinical testing and Clinical Implications. *Yonsei Med. Journal.* 2007;48:11-23.
  25. Uçar F, Ovalı E, Değer O, Önder E, Kartı SS. MHC Gen Kompleksi ve HLA Doku Tipleme Testlerinin Önemi. *İbni Sina Tıp Dergisi.* 2001;6:117-124.
  26. Dalva K. Her Yerde Karşımda; Nedir Bu HLA Tiplendiri mi? XXXI. Ulusal Hematoloji Kongresi IV. Hematoloji İlk Basamak Kursu kitapçığı. 42-52.
  27. Shirley Ellis. The cattle major histocompatibility complex: is it unique? *Vet Immunol Immunopathol.* 2004;102(1-2):1-8.
  28. Van Kaer L. Major histocompatibility complex class I-restricted antigen processing and presentation. *Tissue Antigens.* 2002;60(1):1-9.
  29. Stephens HA. MICA and MICB genes: can the enigma of their polymorphism be resolved? *Trends Immunol.* 2001;22(7):378-385.
  30. Hsu KC, Dupont B. Natural killer cell receptors: regulating innate immune responses to hematologic malignancy. *Semin Hematol.* 2005;42(2):91-103.
  31. Keane L, Williams F, Meenagh A, Sleator C, Middleton D. Investigation of killer cell immunoglobulin-like receptor gene diversity III. KIR2DL3. *Tissue Antigens.* 2004;64(2):188-194.
  32. Williams F, Meenagh A, Sleator C, Middleton D. Investigation of killer cell immunoglobulin like receptor gene diversity: I. KIR2DL4. *Hum Immunol.* 2004;65(1):31-38.
  33. <http://www.ebi.ac.uk/ipd/kir/introduction.html>. erişim tarihi 21. 05.2008
  34. André P, Biassoni R, Colonna M, Cosman D, Lanier LL, Long EO, Lopez-Botet M, Moretta A, Moretta L, Parham P, Trowsdale J, Vivier E, Wagtmann N, Wilson MJ. New nomenclature for MHC receptors. *Nat Immunol.* 2001;2(8):661.
  35. Middleton D, Williams F, Halfpenny IA. KIR genes. *Transplant Immunology.* 2005; 14:135–142.
  36. <http://www.ebi.ac.uk/ipd/kir/alleles.html>. erişim tarihi 21. 05.2008.

37. Halfpenny IA, Middleton D, Barnett YA, Williams F. Investigation of killer cell immunoglobulin-like receptor gene diversity: IV. KIR3DL1/S1. *Hum Immunol.* 2004;65(6):602-612.
38. Marsh SG, Parham P, Dupont B, Geraghty DE, Trowsdale J, Middleton D, Vilches C, Carrington M, Witt C, Guethlein LA, Shilling H, Garcia CA, Hsu KC, Wain H. Killer-cell immunoglobulin-like receptor (KIR) nomenclature report, 2002. *Hum Immunol.* 2003;64(6):648-654.
39. Wilson MJ, Torkar M, Haude A, Milne S, Jones T, Sheer D, Beck S, Trowsdale J. Plasticity in the organization and sequences of human KIR/ILT gene families. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97(9):4778-4483.
40. Middleton D, Gonzalez A, Gilmore PM. Studies on the expression of the deleted KIR2DS4\*003 gene product and distribution of KIR2DS4 deleted and nondeleted versions in different populations. *Hum Immunol.* 2007;68(2):128-134.
41. Denis L, Sivula J, Gourraud PA, Kerdudou N, Chout R, Ricard C, Moisan JP, Gagne K, Partanen J, Bignon JD. Genetic diversity of KIR natural killer cell markers in populations from France, Guadeloupe, Finland, Senegal and Re´ union *Tissue Antigens.* 2005;66:267–276.
42. <http://www.ebi.ac.uk/ipd/kir/stats.html>. erişim tarihi 22.05.2008
43. Shilling HG, Young N, Guethlein LA, Cheng NW, Gardiner CM, Tyan D, Parham P. Genetic control of human NK cell repertoire. *J Immunol.* 2002;169(1):239-247.
44. Shilling HG, Guethlein LA, Cheng NW, Gardiner CM, Rodriguez R, Tyan D, Parham P. Allelic polymorphism synergizes with variable gene content to individualize human KIR genotype. *J Immunol.* 2002;168(5):2307-2315.
45. Witt CS, Dewing C, Sayer DC, Uhrberg M, Parham P, Christiansen FT. Population frequencies and putative haplotypes of the killer cell immunoglobulin-like receptor sequences and evidence for recombination. *Transplantation.* 1999;68(11):1784-1789.
46. Maxwell LD, Wallace A, Middleton D, Curran MD. A common KIR2DS4 deletion variant in the human that predicts a soluble KIR molecule analogous to the KIR1D molecule observed in the rhesus monkey. *Tissue Antigens.* 2002;60(3):254-258.

47. Hsu KC, Liu XR, Selvakumar A, Mickelson E, O'Reilly RJ, Dupont B. Killer Ig-like receptor haplotype analysis by gene content: evidence for genomic diversity with a minimum of six basic framework haplotypes, each with multiple subsets. *J Immunol.* 2002;169(9):5118-5129.
48. Uhrberg M, Parham P, Wernet P. Definition of gene content for nine common group B haplotypes of the Caucasoid population: KIR haplotypes contain between seven and eleven KIR genes. *Immunogenetics.* 2002;54(4):221-229.
49. Bishara A, Brautbar C, Eid A, Sherman L, Safadi R. Killer inhibitory receptor mismatching and liver transplantation outcome. *Transplant Proc.* 2001;33(6):2908.
50. Carrington M, Norman P. The KIR Gene Cluster. U.S. Natl. Library Med., National Center for Biotechnology Information, Bethesda, MD, 2003.
51. Khakoo SI, Carrington M. KIR and disease: a model system or system of models? *Immunological Reviews.* 2006;214: 186–201.
52. Vilches C, Rajalingam R, Uhrberg M, Gardiner CM, Young NT, Parham P. KIR2DL5, a novel killer-cell receptor with a D0-D2 configuration of Ig-like domains. *J Immunol.* 2000;164(11):5797-5804.
53. Gómez-Lozano N, Gardiner CM, Parham P, Vilches C. Some human KIR haplotypes contain two KIR2DL5 genes: KIR2DL5A and KIR2DL5B. *Immunogenetics.* 2002;54(5):314-319.
54. Vilches C, Gardiner CM, Parham P. Gene structure and promoter variation of expressed and nonexpressed variants of the KIR2DL5 gene. *J Immunol.* 2000;165(11):6416-6421.
55. Norman PJ, Carrington CV, Byng M, Maxwell LD, Curran MD, Stephens HA, Chandanayingyong D, Verity DH, Hameed K, Ramdath DD, Vaughan RW. Natural killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR) locus profiles in African and South Asian populations. *Genes Immun.* 2002;3(2):86-95.
56. Watzl C, Peterson M, Long EO. Homogenous expression of killer cell immunoglobulin-like receptors (KIR) on polyclonal natural killer cells detected by a monoclonal antibody to KIR2D. *Tissue Antigens.* 2000;56(3):240-247.
57. Moretta L, Moretta A. Killer immunoglobulin-like receptors *Current Opinion in Immunology.* 2004;16:626–633.

58. Santaourlidis S, Trompeter HI, Weinhold S, Eisermann B, Meyer KL, Wernet P, Uhrberg M: Crucial role of DNA methylation in determination of clonally distributed killer cell Ig-like receptor expression patterns in NK cells. *J Immunol.* 2002;169:4253-4261.
59. Zambello R, Della Chiesa M, Trentin L, Carollo D, Castriconi R, Cannas G, Carlomagno S, Falco M, Cabrelle A, Lamy T et al.: Expression and functional and function of KIR and natural cytotoxicity receptors in NK-type lymphoproliferative diseases of granular lymphocytes (LDGL). *Blood.* 2003;102:1797-1805.
60. Pando MJ, Gardiner CM, Gleimer M, McQueen KL, Parham P: The protein made from a common allele of KIR3DL1 (3DL1\*004) is poorly expressed at cell surfaces due to substitution at positions 86 in Ig domain 0 and 182 in Ig domain 1. *J Immunol.* 2003;171:6640-6649.
61. Gagne K, Brizard G, Gueglio B, Milpied N, Herry P, Bonneville F, Chéneau ML, Schleinitz N, Cesbron A, Folléa G, Harrousseau JL, Bignon JD. Relevance of KIR gene polymorphisms in bone marrow transplantation outcome. *Hum Immunol.* 2002;63(4):271-280.
62. Saleh A, Davies GE, Pascal V, Wright PW, Hodge DL, Cho EH, Lockett SJ, Abshari M, Anderson SK. Identification of probabilistic transcriptional switches in the Ly49 gene cluster: a eukaryotic mechanism for selective gene activation. *Immunity.* 2004;21(1):55-66.
63. Petersdorf E, Anasetti C, Martin PJ, Woolfrey A, Smith A, Mickelson E, Malkki M, Lin MT, Hansen JA. Genomics of unrelated-donor hematopoietic cell transplantation. *Curr Opin Immunol.* 2001;13(5):582-589.
64. Cook MA, Milligan DW, Fegan CD, Darbyshire PJ, Mahendra P, Craddock CF, Moss PA, Briggs DC. The impact of donor KIR and patient HLA-C genotypes on outcome following HLA-identical sibling hematopoietic stem cell transplantation for myeloid leukemia. *Blood.* 2004;103(4):1521-1526.
65. Velardi A, Ruggeri L, Alessandro , Moretta , Moretta L. NK cells: a lesson from mismatched hematopoietic transplantation. *Trends Immunol.* 2002;23(9):438-444.
66. Ruggeri L, Capanni M, Casucci M, Volpi I, Tosti A, Perruccio K, Urbani E, Negrin RS, Martelli MF, Velardi A. Role of natural killer cell alloreactivity in

- HLA-mismatched hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 1999;94(1):333-9.
67. Giebel S, Locatelli F, Lamparelli T, Velardi A, Davies S, Frumento G, Maccario R, Bonetti F, Wojnar J, Martinetti M, Frassoni F, Giorgiani G, Bacigalupo A, Holowiecki J. Survival advantage with KIR ligand incompatibility in hematopoietic stem cell transplantation from unrelated donors. *Blood*. 2003;102(3):814-9.
  68. Diler AS, Ayna TK, Tozkır H. KIR Genleri ve Hastalık Patogeneğinde Rolü. *Klinik gelişim*. 2006;19(2):37-44.
  69. Piccioli D, Sbrana S, Melandri E, Valiante NM. Contact-dependent stimulation and inhibition of dendritic cells by natural killer cells. *J Exp Med*. 2002;195(3):335-341.
  70. Nelson GW, Martin MP, Gladman D, Wade J, Trowsdale J, Carrington M. Cutting edge: heterozygote advantage in autoimmune disease: hierarchy of protection/susceptibility conferred by HLA and killer Ig-like receptor combinations in psoriatic arthritis. *J Immunol*. 2004;173(7):4273-4276.
  71. Yen JH, Moore BE, Nakajima T, Scholl D, Schaid DJ, Weyand CM, Goronzy JJ. Major histocompatibility complex class I-recognizing receptors are disease risk genes in rheumatoid arthritis. *J Exp Med*. 2001;193(10):1159-1167.
  72. Bukowski JF, Woda BA, Welsh RM. Pathogenesis of murine cytomegalovirus infection in natural killer cell-depleted mice. *J Virol*. 1984;52(1):119-128.
  73. French AR, Yokoyama WM. Natural killer cells and viral infections. *Curr Opin Immunol*. 2003;15(1):45-51.
  74. Orange JS. Human natural killer cell deficiencies and susceptibility to infection. *Microbes Infect*. 2002;4(15):1545-1558.
  75. Gumá M, Angulo A, Vilches C, Gómez-Lozano N, Malats N, López-Botet M. Imprint of human cytomegalovirus infection on the NK cell receptor repertoire. *Blood*. 2004;104(12):3664-3671.
  76. Martin MP, Gao X, Lee JH, Nelson GW, Detels R, Goedert JJ, Buchbinder S, Hoots K, Vlahov D, Trowsdale J, Wilson M, O'Brien SJ, Carrington M. Epistatic interaction between KIR3DS1 and HLA-B delays the progression to AIDS. *Nat Genet*. 2002;31(4):429-434.

77. Cohen GB, Gandhi RT, Davis DM, Mandelboim O, Chen BK, Strominger JL, Baltimore D. The selective downregulation of class I major histocompatibility complex proteins by HIV-1 protects HIV-infected cells from NK cells. *Immunity*. 1999;10(6):661-671.
78. Li Y, Zhang T, Ho C, Orange JS, Douglas SD, Ho WZ. Natural killer cells inhibit hepatitis C virus expression. *J Leukoc Biol*. 2004;76(6):1171-1179.
79. Salazar-Mather TP, Orange JS, Biron CA. Early murine cytomegalovirus (MCMV) infection induces liver natural killer (NK) cell inflammation and protection through macrophage inflammatory protein 1alpha (MIP-1alpha)-dependent pathways. *J Exp Med*. 1998;187(1):1-14.
80. Carr WH, Little AM, Mocarski E, Parham P. NK cell-mediated lysis of autologous HCMV-infected skin fibroblasts is highly variable among NK cell clones and polyclonal NK cell lines. *Clin Immunol*. 2002;105(2):126-140.
81. Gazit R, Garty BZ, Monselise Y, Hoffer V, Finkelstein Y, Markel G, Katz G, Hanna J, Achdout H, Gruda R, Gonen-Gross T, Mandelboim O. Expression of KIR2DL1 on the entire NK cell population: a possible novel immunodeficiency syndrome. *Blood*. 2004;103(5):1965-1966.
82. Lopez-Botet M, Angula A, Guma M. Natural killer cell receptors for major histocompatibility complex class I and related molecules in CMV infection *Tissue Antigens*. 2004; 63: 195-203.
83. Gumá M, Angulo A, Vilches C, Gómez-Lozano N, Malats N, López-Botet M. Imprint of human cytomegalovirus infection on the NK cell receptor repertoire. *Blood*. 2004;104(12):3664-3671.
84. Rajagopalan S, Long EO. Understanding how combinations of HLA and KIR genes influence disease. *J Exp Med*. 2005;201(7):1025-1029.
85. King A, Burrows TD, Hiby SE, Bowen JM, Joseph S, Verma S, Lim PB, Gardner L, Le Bouteiller P, Ziegler A, Uchanska-Ziegler B, Loke YW. Surface expression of HLA-C antigen by human extravillous trophoblast. *Placenta*. 2000;21(4):376-387.
86. Varla-Leftherioti M. Role of a KIR/HLA-C allorecognition system in pregnancy. *J Reprod Immunol*. 2004;62(1-2):19-27.

87. Hiby SE, Walker JJ, O'shaughnessy KM, Redman CW, Carrington M, Trowsdale J, Moffett A. Combinations of maternal KIR and fetal HLA-C genes influence the risk of preeclampsia and reproductive success. *J Exp Med*. 2004;200(8):957-965.
88. Van Der Slik AR, Koeleman BP, Verduijn W, Bruining GJ, Roep BO, Giphart MJ. KIR in type 1 diabetes: disparate distribution of activating and inhibitory natural killer cell receptors in patients versus HLA-matched control subjects. *Diabetes*. 2003;52(10):2639-2642.
89. Luszczek W, Mańczak M, Cisło M, Nockowski P, Wiśniewski A, Jasek M, Kuśnierczyk P. Gene for the activating natural killer cell receptor, KIR2DS1, is associated with susceptibility to psoriasis vulgaris. *Hum Immunol*. 2004;65(7):758-766.
90. Suzuki Y, Hamamoto Y, Ogasawara Y, Ishikawa K, Yoshikawa Y, Sasazuki T, Muto M. Genetic polymorphisms of killer cell immunoglobulin-like receptors are associated with susceptibility to psoriasis vulgaris. *J Invest Dermatol*. 2004;122(5):1133-1136.
91. Momot T, Koch S, Hunzelmann N, Krieg T, Ulbricht K, Schmidt RE, Witte T. Association of killer cell immunoglobulin-like receptors with scleroderma. *Arthritis Rheum*. 2004;50(5):1561-1565.
92. Middleton D, Meenagh A, Sleators C, Gourraud PA, Ayna T, Tozki H, Kose AA, Azizleri G, Diler AS. No association of KIR genes with Behcet's disease. *Tissue Antigens*. 2007;70:435-438.
93. Nowakowski GS, Morice WG, Phyllyk RL, Li CY, Tefferi A. Human leucocyte antigen class I and killer immunoglobulin-like receptor expression patterns in T-cell large granular lymphocyte leukaemia. *Br J Haematol*. 2005;128(4):490-492.
94. Zambello R, Falco M, Della Chiesa M, Trentin L, Carollo D, Castriconi R, Cannas G, Carlomagno S, Cabrelle A, Lamy T, Agostini C, Moretta A, Semenzato G, Vitale M. Expression and function of KIR and natural cytotoxicity receptors in NK-type lymphoproliferative diseases of granular lymphocytes. *Blood*. 2003;102(5):1797-1805.
95. Poszepczynska-Guigné E, Schiavon V, D'Incan M, Echchakir H, Musette P, Ortonne N, Boumsell L, Moretta A, Bensussan A, Bagot M. CD158k/KIR3DL2 is a new phenotypic marker of Sezary cells: relevance



- for the diagnosis and follow-up of Sezary syndrome. *J Invest Dermatol.* 2004;122(3):820-823.
- 96.** Wechsler J, Bagot M, Nikolova M, Parolini S, Martin-Garcia N, Bousmell L, Moretta A, Bensussan A. Killer cell immunoglobulin-like receptor expression delineates in situ Sézary syndrome lymphocytes. *J Pathol.* 2003;199(1):77-83.
- 97.** López-Vázquez A, Rodrigo L, Martínez-Borra J, Pérez R, Rodríguez M, Fdez-Morera JL, Fuentes D, Rodríguez-Rodero S, González S, López-Larrea C. Protective effect of the HLA-Bw4I80 epitope and the killer cell immunoglobulin-like receptor 3DS1 gene against the development of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C virus infection. *J Infect Dis.* 2005;192(1):162-165.
- 98.** Naumova E, Mihaylova A, Stoitchkov K, Ivanova M, Quin L, Toneva M. Genetic polymorphism of NK receptors and their ligands in melanoma patients: prevalence of inhibitory over activating signals. *Cancer Immunol Immunother.* 2005;54(2):172-178.
- 99.** Norris S, Doherty DG, Curry M, McEntee G, Traynor O, Hegarty JE, O'Farrelly C. Selective reduction of natural killer cells and T cells expressing inhibitory receptors for MHC class I in the livers of patients with hepatic malignancy. *Cancer Immunol Immunother.* 2003;52(1):53-58.
- 100.** Bakker AB, Phillips JH, Figdor CG, Lanier LL. Killer cell inhibitory receptors for MHC class I molecules regulate lysis of melanoma cells mediated by NK cells, gamma delta T cells, and antigen-specific CTL. *J Immunol.* 1998;160(11):5239-5245.
- 101.** Wu JD, Higgins LM, Steinle A, Cosman D, Haugk K, Plymate SR. Prevalent expression of the immunostimulatory MHC class I chain-related molecule is counteracted by shedding in prostate cancer. *J Clin Invest.* 2004;114(4):560-568.
- 102.** Klug WS, Cummings MR. Populasyon Genetiği. *Genetik Kavramlar.* Çev. Ed. Öner C. Palme yayıncılık, Ankara, 2003. (In: Klug WS, Cummings MR. *Concepts of Genetics*, Prentice Hall, 6th ed. 2000). Bölüm 25, sf: 683-711
- 103.** Rajalingam R, Du Z, Meenagh A, Luo L, Kavitha VJ, Pavithra-Arulvani R, Vidhyalakshmi A, Sharma SK, Balazs I, Reed EF, Pitchappan RM, Middleton D. Distinct diversity of KIR genes in three southern Indian

- populations: comparison with world populations revealed a link between KIR gene content and pre-historic human migrations. *Immunogenetics*. 2008;60:207–217.
104. Toneva M, Lepage V, Lafay G, Dulphy N, Busson M, Lester S, Vu-Trien A, Michaylova A, Naumova E, McCluskey J, Charron D. Genomic diversity of natural killer cell receptor genes in three populations. *Tissue Antigens*. 2001;57(4):358-362.
  105. Yawata M, Yawata N, McQueen KL, Cheng NW, Guethlein LA, Rajalingam R, Shilling HG, Parham P. Predominance of group A KIR haplotypes in Japanese associated with diverse NK cell repertoires of KIR expression. *Immunogenetics*. 2002;54(8):543-550.
  106. Rajalingam R, Krausa P, Shilling HG, Stein JB, Balamurugan A, McGinnis MD, Cheng NW, Mehra NK, Parham P. Distinctive KIR and HLA diversity in a panel of north Indian Hindus. *Immunogenetics*. 2002;53(12):1009-1019.
  107. Niokou D, Spyropoulou-Vlachou M, Darlamitsou A, Stavropoulos-Giokas C. Distribution of killer cell immunoglobulin-like receptors in the Greek population. *Hum Immunol*. 2003; 64: 1167–1176.
  108. Pavlova Y, Kolesar L, Striz I, Jabor A, Slavcev A. Distribution of KIR genes in the Czech population. *International Journal of Immunogenetics*. 2008; 35: 57–61.
  109. Middleton D, Meenagh A, Gourraud PA. KIR haplotype content at the allele level in 77 Northern Irish families. *Immunogenetics*. 2007;59(2):145-58.
  110. Jiang K, Zhu FM, Lv QF, Yan LX. Distribution of killer cell immunoglobulin-like receptor genes in the Chinese Han population. *Tissue Antigens*. 2005;65(6):556-563.
  111. Rayes R, Bazarbachi A, Khazen G, Sabbagh A, Zaatari G, Mahfouz R. Natural Killer Cell Immunoglobulin-like Receptors (KIR) Genotypes in two Arab Populations: Will KIR become a genetic landmark between nations? *Immunogenetics*. 2007;59:145–158.
  112. Gutiérrez-Rodríguez ME, Sandoval-Ramírez L, Díaz-Flores M, Marsh SG, Valladares-Salgado A, Madrigal JA, Mejía-Arangure JM, García CA, Huerta-Zepeda A, Ibarra-Cortés B, Ortega-Camarillo C, Cruz M. KIR gene

in ethnic and Mestizo populations from Mexico. *Hum Immunol.* 2006;67:85-93.

**113.** [http://www.mesbas.com.tr/mersin\\_idariyapi.htm](http://www.mesbas.com.tr/mersin_idariyapi.htm). erişim tarihi 10.06.2008.

**114.** Crum KA, Logue SE, Curran MD, Middleton D. Development of a PCR-SSOP approach capable of defining the natural killer cell inhibitory receptor (KIR) gene sequence repertoires. *Tissue Antigens.* 2000;56:313–326.

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>KIR</b>	Katil immünoglobulin-benzeri reseptörler
<b>PAMP</b>	Patojen ile ilişkili moleküler yapılar
<b>DNA</b>	Deoksiribonükleik asit
<b>TLR</b>	Toll-like reseptörler
<b>CD</b>	Farklılaşma kümesi
<b>IL</b>	İnterlökin
<b>NF-kB</b>	Nükleer faktör kappa-B
<b>IRF</b>	İnterferon düzenleyici transkripsiyon faktörü
<b>LPS</b>	Lipopolisakkarit
<b>CpG</b>	Sitozin fosfat-guanozin dinükleotid motifi
<b>RNA</b>	Ribonükleik asit
<b>IFN<math>\alpha</math></b>	İnterferon alfa
<b>IFN<math>\beta</math></b>	İnterferon beta
<b>NK</b>	Doğal öldürücü hücreler
<b>MHC</b>	Majör histokompatibilite kompleks
<b>TNF<math>\alpha</math></b>	Tümör nekrozis faktör alfa
<b>IgA</b>	İmmünglobulin A
<b>IgG</b>	İmmünglobulin G
<b>IgM</b>	İmmünglobulin M
<b>IgD</b>	İmmünglobulin D
<b>IgE</b>	İmmünglobulin E
<b>Th</b>	Yardımcı T lenfositler
<b>ASH</b>	Antijen sunan hücreler
<b>Ts</b>	Sitotoksik T lenfositler
<b>HLA</b>	İnsan Lökosit Antijeni
<b>C4A</b>	Kompleman 4A
<b>C4B</b>	Kompleman 4B
<b>HSP</b>	Isı şok proteini
<b>LT</b>	Lökotrien
<b>MICA</b>	MHC Sınıf I Zinciri-Bağlantılı Molekül A
<b>MICB</b>	MHC Sınıf I Zinciri-Bağlantılı Molekül A

<b>cM</b>	Santimorgan
<b>TAP1</b>	Antijen işlenmesi ile ilişkili taşıyıcı 1
<b>TAP2</b>	Antijen işlenmesi ile ilişkili taşıyıcı 2
<b>LMP1</b>	Düşük molekül ağırlıklı protein 1
<b>LMP2</b>	Düşük molekül ağırlıklı protein 2
<b>β2m</b>	Beta 2 mikroglobulin
<b>ADCC</b>	Antikor bağımlı hücrel sitotoksiste
<b>NKR</b>	Doğal öldürücü reseptörler
<b>ITIM</b>	İmmunoreseptör tirozine dayalı inhibitör motifler
<b>ITAM</b>	İmmunoreseptör tirozine dayalı aktivatör motifler
<b>KAR</b>	katil aktivatör reseptörler
<b>ILT</b>	Immunglobulin benzeri transkriptler
<b>KIR 2DL1</b>	2 domainli uzun sitoplazmik kuyruklu 1. KIR molekülü
<b>KIR 2DL2</b>	2 domainli uzun sitoplazmik kuyruklu 2. KIR molekülü
<b>KIR 2DL3</b>	2 domainli uzun sitoplazmik kuyruklu 3. KIR molekülü
<b>KIR 2DL4</b>	2 domainli uzun sitoplazmik kuyruklu 4. KIR molekülü
<b>KIR 2DL5</b>	2 domainli uzun sitoplazmik kuyruklu 5. KIR molekülü
<b>KIR 3DL1</b>	3 domainli uzun sitoplazmik kuyruklu 1. KIR molekülü
<b>KIR 3DL2</b>	3 domainli uzun sitoplazmik kuyruklu 2. KIR molekülü
<b>KIR 2DS1</b>	2 domainli kısa sitoplazmik kuyruklu 1. KIR molekülü
<b>KIR 2DS2</b>	2 domainli kısa sitoplazmik kuyruklu 2. KIR molekülü
<b>KIR 2DS3</b>	2 domainli kısa sitoplazmik kuyruklu 3. KIR molekülü
<b>KIR 2DS4</b>	2 domainli kısa sitoplazmik kuyruklu 4. KIR molekülü
<b>KIR 2DS5</b>	2 domainli kısa sitoplazmik kuyruklu 5. KIR molekülü
<b>KIR 3DS1</b>	3 domainli kısa sitoplazmik kuyruklu 1. KIR molekülü
<b>KIR 2DP1</b>	2 domainli psödogen
<b>KIR 3DP1</b>	3 domainli psödogen
<b>HUGO</b>	Human Genome Organization
<b>LRC</b>	Lökosit Reseptör Kompleksi
<b>SIGLEC</b>	Siyalik asid bağlayan immunoglobulin-benzeri lektinler
<b>LILR</b>	Lökosit Ig-benzeri reseptör ailesi
<b>LAIR</b>	Lökosit-ilişkili inhibitör reseptör
<b>NCR1</b>	Doğal sitotoksiste-tetikleyici reseptör 1

<b>EMBL</b>	Avrupa Moleküler Biyoloji Laboratuvarı
<b>EBI</b>	Avrupa Biyoinformatik Enstitüsü
<b>cDNA</b>	Komplementer DNA
<b>GvHH</b>	Graft Versus Host Hastalığı
<b>HKHN</b>	Hematopietik kök hücre nakli
<b>HIV</b>	İnsan İmmün yetmezlik Virüsü
<b>HCV</b>	Hepatit C Virüsü
<b>CMV</b>	Sitomegalovirüs
<b>KARAP</b>	Sitotoksik hücre aktivasyon reseptörü bağlantılı protein
<b>LGL</b>	Büyük granüler lenfositik lösemiler
<b>AML</b>	Akut Myeloid Lösemi
<b>EDTA</b>	Etilendiaminotetraenoik asit
<b>SA-PE</b>	R-Pycoerythrin Conjugated Streptavidin
<b>PCR</b>	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>dNTP</b>	Deoksi nükleotit trifosfat
<b>SSO</b>	Sekans-spesifik oligonükleotit
<b>MX</b>	Master Mix

## ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

<u>Şekiller</u>	<u>Sayfa No</u>
<b>Şekil 1</b>	(Fagositik hücrelerin Toll-like reseptörler aracılığı ile Aktivasyonu)..... 12
<b>Şekil 2</b>	(Farklı immünglobulinlerin sabit ve değişken yapılarının şematik görünümü).....15
<b>Şekil 3</b>	(HLA gen bölgesinin 6. kromozom üzerindeki yerleşimi ve Sınıf I, II, III Bölgeleri)..... 18
<b>Şekil 4</b>	(Sınıf I HLA molekülünün şematik görünümü)..... 20
<b>Şekil 5</b>	(CD56 <sup>bright</sup> ve CD56 <sup>dim</sup> doğal öldürücü hücrelerin akımsitometri ile analizi)..... 22
<b>Şekil 6</b>	(Viruslerle enfekte hücrelerin, NK hücreleri ile ekstrasellüler olarak öldürülmesi)..... 23
<b>Şekil 7</b>	(Aktive edici NK Hücre Reseptörleri)..... 25
<b>Şekil 8</b>	(İnhibe edici NK hücre reseptörleri).....26
<b>Şekil 9</b>	(NK hücre aktivasyonu)..... 27
<b>Şekil 10</b>	(KIR'ların yapısı) ..... 28
<b>Şekil 11</b>	(KIR allel adlandırılması) ..... 29
<b>Şekil 12</b>	(Lökosit reseptör kompleksi (19q13.4) ve bir KIR haplotipi). 31
<b>Şekil 13</b>	(KIR Haplotiplerinin gen dizisi)..... 34
<b>Şekil 14</b>	(Populasyonlarda bulunan farklı KIR haplotiplerinin şematik görünümü)..... 35
<b>Şekil 15</b>	(KIR genlerinin farklı hastalıklarla ilişkisini gösteren şematik Resim).....41
<b>Şekil 16</b>	(KIR genlerinin içeriği ile tarih öncesi göçlerin ilişkisini gösteren mitokondrial populasyon genetiğine göre hazırlanmış harita)..... 51
<b>Şekil 17</b>	(Mersin ilinin konumu ve ilçeleri).....57
<b>Şekil 18</b>	(Reaktif kartuşları).....59
<b>Şekil 19</b>	(Manyetik partikül teknolojisi ile DNA izolasyonu yöntemi)... 60

**Sekiller****Sayfa No**

<b>Şekil 20</b>	(a. Probların ve işaretili primerlerin bağılı olduğu Mikrokürecikler b. Mikroküreciklerin kırmızı ve yeşil lazerden geçerek ayrılması).....	62
<b>Şekil 21</b>	(Gözlenen ve Beklenen KIR gen frekanslarının Karşılaştırılması).....	68
<b>Şekil 22</b>	(AA, AB ve BB genotip frekanslarının şematik görüntüsü)..	71



## TABLULAR DİZİNİ

<u>Tablolar</u>	<u>Sayfa No</u>
<b>Tablo 1</b> (Patojen ile ilişkili moleküler yapıların Toll-Like reseptörler ile tanınması ve transkripsiyon faktörlerinin indüklenmesiyle fagositozun başlatılması).....	11
<b>Tablo 2</b> (KIR'ın Ligandları).....	30
<b>Tablo 3</b> (EMBL KIR bilgi bankasına 15.05.2008 tarihine kadar girilmiş olan allel tipleri ve sayıları).....	32
<b>Tablo 4</b> (Farklı populasyonlarda yapılmış populasyon taramalarının KIR gen frekansları).....	53
<b>Tablo 5</b> (Türk toplumundan bilgi bankasına girmiş olan çalışmada belirlenmiş olan KIR genotiplerinin oranları).....	54
<b>Tablo 6</b> (Türk toplumunda görülen KIR genlerinin frekansları)..	55
<b>Tablo 7</b> (EZ1 DNA kiti içeriği).....	59
<b>Tablo 8</b> (Amplifikasyon İçin Gerekli Reaksiyon İçerikleri).....	63
<b>Tablo 9</b> (Amplifikasyonda Kullanılan Thermal Cycler Programı).....	64
<b>Tablo 10</b> (Hibridizasyonda Kullanılan Thermal Cycler Programı).....	64
<b>Tablo 11</b> (KIR amplifikasyon primerleri).....	65
<b>Tablo 12</b> (KIR reseptörleri için diziyeye özgü oligonükleotid problemleri).....	65
<b>Tablo 13</b> (Çalışmaya alınan bireylerin tanımlayıcı bilgileri).....	67
<b>Tablo 14</b> (Mersin populasyonunda gözlenen ve beklenen KIR gen frekansları).....	68
<b>Tablo 15</b> (Saptanan tüm genotip profilleri).....	69
<b>Tablo 16</b> (Daha önce bilgi bankasında bulunmayan bu çalışma sonucu yeni tanımlanan on genotip profili).....	70
<b>Tablo 17</b> (Belirlenen farklı AA, AB ve BB genotiplerinin sayısı, bu genotipleri taşıyan kişi sayısı ve oranları).....	71

<b><u>Tablolar</u></b>	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>Tablo 18</b> (AA genotipli bireylerde KIR2DS4'ün allelik formlarının frekansları).....	71
<b>Tablo 19</b> (A ve B haplotiplerinin sayıları, yüzdeleri ve birbirlerine oranları).....	72
<b>Tablo 20</b> (Mersin Merkez ile civar yerleşimlerinin KIR gen frekansı açısından karşılaştırılması).....	72
<b>Tablo 21</b> (Merkez ve civar yerleşimlerde en sık görülen altı genotip ve oranlarının karşılaştırılması).....	73
<b>Tablo 22</b> (Göçten etkilenmeyen bölgeler ile göç alan bölgelerin KIR gen frekansı açısından karşılaştırılması).....	74
<b>Tablo 23</b> (Mersin ile İstanbul populasyonlarının KIR gen frekansları açısından karşılaştırılması).....	75
<b>Tablo 24</b> (Mersin ve İstanbul populasyonunda en sık görülen altı KIR genotipinin karşılaştırılması).....	75
<b>Tablo 25</b> (Mersin populasyonunun KIR gen frekanslarının diğer dünya populasyonlarıyla karşılaştırılması).....	78
<b>Tablo 26</b> (Mersin populasyonundaki kadınlardan spontan abortus öyküsü olanlarla olmayanların karşılaştırılması).....	79
<b>Tablo 27</b> (Mersin populasyonunda kanser öyküsü olanlarla olmayanların KIR gen frekansları açısından karşılaştırılması).....	80

## EKLER

### EK 1: Aydınlatılmış Onam Formu

#### AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU

Sayın katılımcı, bu araştırma ile, Mersin yöresinde yaşayan gönüllü 200 kişi üzerinde, KIR gen frekansları araştırılacaktır. KIR olarak adlandırılan ve doğal bağışıklıkta görev alan moleküllerin, genetik profilinin çıkarılması özellikle, bu genlerle ilgili olan hastalıkların risklerinin ortaya konulması için gereklidir

Araştırma grubu yaklaşık olarak 200 bireyden oluşturulacaktır. Çalışmamız sırasında kişilere, araştırmamızla ilgili olarak herhangi bir ilaç verilmeyecek, herhangi bir tıbbi müdahalede bulunulmayacak, sadece alınan kanda çalışma yapılacaktır.

Araştırmaya sadece gönüllü olanlar katılacaktır. Gönüllüler araştırmanın herhangi bir aşamasında araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahiptir.

#### **Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler:**

- 1-) İğne batmasına bağlı olarak az bir acı duyabilirsiniz.
- 2-) Az bir ihtimal de olsa iğne batması sonrasında kanamanın uzaması veya enfeksiyon riski vardır.

Yukarıda sayılanlar böylesi bir analizde yaşanabilecek potansiyel risklerdir. Ancak bunlardan en az oranda zarar görmeyi sağlamak için elimizden geleni yapacağız. Çalışmanın devamı sırasında ortaya çıkabilecek sorun ve riskler katılımcının/hastanın kendisine ya da ebeveyni/sorumlusuna iletilecektir.

#### **Yapılacak genetik testin getireceği olası yararlar:**

Bu çalışmanın sonunda KIR genleri açısından bölgemizin genetik profilini çıkarılmış olacaktır. Böylelikle bu bölgedeki insanların yatkın olabilecekleri hastalıkların ortaya konulması ve henüz bulunmamış kalıtsal hastalıkların bu genlerle ilişkisinin tanımlanması açısından yararlı olacaktır.

Œu anda bu çalışmanın hemen size bir fayda olarak dönüp dönmeyeceğini bilmiyoruz. Ancak ilgili hastalığın temelinde yatan nedenlerin öğrenilmesi ileride ilgili hastalıktan etkilenmiş bireylere fayda sağlayacaktır.

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahiptir. Ayrıca kendi rızanıza bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma harici bırakılabilirsiniz.

Yukarıdaki gönüllü araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum..

**Gönüllünün:**

Adı Soyadı:

İmzası:

Adresi(varsın telefon no, faks no):

**Açıklamaları yapan araştırmacının:**

Adı Soyadı:

İmzası:

## Ek 2: Hasta Anket Formu

“Mersin Yöresinde KIR Genleri Frekanslarının Belirlenmesi” İsimli Projenin  
Hasta Anket Formu

Ad-soyad:

Telefon no:

Dosya No:

Adres:

Tarih:

Cinsiyet:	
Yaş:	
Doğum yeri:	
Kaç nesildir Mersin’de yaşadığı:	
Hastalıklar:	
Enfeksiyonlara yatkınlık:	
Hepatit:	
Diğer Viral Hastalıklar:	
Otoimmün Hastalıklar (FMF, romatoid artrit, ankilozan spondilit, SLE):	
Kanser Öyküsü:	
Kadınlar için, gebelik hikayesi:	
Ailede hastalık öyküsü:	