

**GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HEMATOLOJİK KANSERLERDE  
TAP1 VE TAP2 GEN  
POLİMORFİZMLERİNİN  
İNCELENMESİ**

**BİYOLOJİ BÖLÜMÜ  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**SEVGİ GEZİCİ  
TEMMUZ 2011**

**Hematolojik Kanserlerde TAP1 ve TAP2 Gen  
Polimorfizmlerinin İncelenmesi**

**Gaziantep Üniversitesi  
Biyoloji Bölümü  
Yüksek Lisans Tezi**

**Danışman  
Doç. Dr. Filiz ÖZBAŞ GERÇEKER**

**SEVGİ GEZİCİ  
TEMMUZ 2011**

**T.C.**  
**GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ**  
**BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

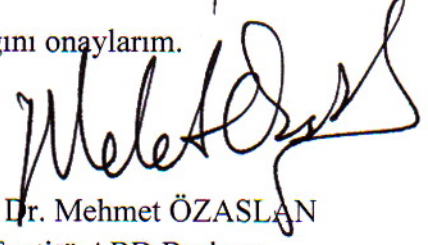
**Tezin Adı:** Hematolojik kanserlerde TAP-1 ve TAP-2 Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi

**Öğrencinin, Adı Soyadı** : SEVGİ GEZİCİ  
**Tez Savunma Tarihi** : 29 Temmuz 2011


Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

  
Prof. Dr. Ramazan KOÇ  
FBE Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

  
Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN  
Enstitü ABD Başkanı

Bu tez tarafımca (tarafımızca) okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

  
Doç. Dr. Filiz ÖZBAŞ GERÇEKER  
Tez Danışmanı

Bu tez tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

**Jüri Üyeleri:**

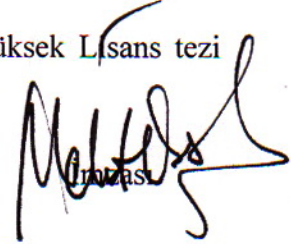
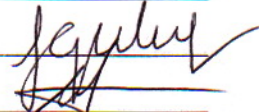
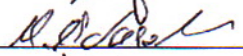


Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN (Jüri Başkanı)

Doç. Dr. Filiz ÖZBAŞ GERÇEKER

Doç. Dr. Nazım ŞEKEROĞLU

Yrd. Doç. Dr. M. İsmail VAROL

Yrd. Doç. Dr. İbrahim H. KILIÇ

## ÖZET

### HEMATOLOJİK KANSERLERDE TAP1 VE TAP2 GEN POLİMORFİZMLERİNİN İNCELENMESİ

GEZİCİ, Sevgi

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Bölümü

Tez Yöneticisi: Doç. Dr. Filiz ÖZBAŞ GERÇEKER

Temmuz 2011, 64 sayfa

Bu çalışmada; TAP1 ve TAP2 gen polimorfizmleri ile bazı hematolojik kanserler (KLL, KML, MM) arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır. MHC sınıf II bölgesinde yer alan TAP1 ve TAP2 genleri, MHC sınıf I moleküllerine bağlı endojen antijen sunumunda görev alan bir heterodimeri kodlamaktadır. Bu proteinler, proteinlerin proteozomda parçalanması sonucu oluşan antijenik peptitlerin ER lümenine taşınmasından sorumludur. Bu proteinler antijen sunumunda önemli role sahip oldukları için, bu genlerdeki polimorfizmler veya mutasyonlar immün cevabı değiştirerek hastalıkların gelişimine etki edebilir. Bu çalışmada, toplam altı polimorfik bölge (TAP1-333, TAP1-637, TAP2-379, TAP2-565, TAP2-651 ve TAP2-665) hastalarda ve kontrol grubunda PCR-RFLP metodu ile genotiplendirilmiştir. Allel ve genotip frekansları direk sayım ile belirlenmiş ve sonuçlar  $\chi^2$  analizi ile karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak, KML gelişiminde TAP1 gen polimorfizmlerinin hiçbirinin etkili olmadığı fakat TAP2-651 ve TAP2-665'in etkili olabileceği düşünülmektedir. TAP1-333, TAP2-379, TAP2-565 ve TAP2-665 gen polimorfizmleri ile KLL gelişimi arasında bir ilişki tespit edilmiştir. Ayrıca, MM gelişiminde TAP1-333, TAP2-379 ve TAP2-665 gen polimorfizmlerinin etkili olabileceği söylenebilir. TAP2-665 ve TAP2-379 polimorfizmlerinin genotip dağılımları kontrol ve hasta gruplarında farklılık gösterdiği için bu polimorfizmlerin KML, KLL ve MM hastalık gelişimi ile ilişkili olduğu düşünülebilir.

**Anahtar Kelimeler:** TAP1, TAP2, polimorfizm, hematolojik kanser

## ABSTRACT

### ANALYSIS OF THE TAP1 AND TAP2 GENE POLYMORPHISMS IN HEMATOLOGICAL CANCERS

GEZİCİ, Sevgi

M.Sc. in Biology Department

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Filiz ÖZBAŞ GERÇEKER

July 2011, 64 pages

In this study, it was aimed to analyse the association of TAP1 and TAP2 gene polymorphisms with certain hematological cancers (CLL, CML, MM). TAP1 and TAP2 genes, localized in MHC class II region, encode a heterodimer playing a role in MHC class I linked endogenous antigen presentation. These proteins are responsible for the transport of antigenic peptides formed by the proteasomal degradation of proteins to the ER lumen. Since these proteins have an important role in antigen presentation, the polymorphisms/mutations in these genes may contribute to the disease development by changing the immune response. In this study, a total of six polymorphic regions (TAP1-333, TAP1-637, TAP2-379, TAP2-565, TAP2-651 and TAP2-665) were genotyped by PCR-RFLP method in patients and control group. Allele and genotype frequencies were determined by direct counting and results were compared by  $\chi^2$  analysis. As a result, it is thought that all TAP1 gene polymorphisms have no effect but TAP2-651 and TAP2-665 might have an effect on the development of CML. An association was found between TAP1-333, TAP2-379, TAP2-565, TAP2-665 gene polymorphisms and CLL. Furthermore, it can be stated that TAP1-333, TAP2-379 and TAP2-665 gene polymorphisms might have an effect on MM development. Since, the genotype distribution for TAP2-665 and TAP2-379 polymorphisms differed in control and patient groups, it can be thought that these polymorphisms might be associated with CML, CLL and MM.

**Keywords:** TAP1, TAP2, polymorphism, hematological cancer

## TEŞEKKÜR

İş hayatı ve disipliniyle bana örnek olan, çalışmalarıyla ufkumu açan, varlığı ile çalışma azmimi artıran, bilgi ve tecrübeleri ile her zaman yol gösteren değerli Danışmanım Sayın **Doç. Dr. Filiz ÖZBAŞ GERÇEKER**'e,

Lisans ve yüksek lisans eğitimim süresince cesareti ile beni yüreklendiren ve biyoloji bölümünün olanaklarından yararlanmamı sağlayan değerli Bölüm Başkanı Sayın **Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN**'a,

Lisans ve yüksek lisans eğitimimde emeği geçen **Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyelerine**,

Çalışmaya sağladıkları değerli katkılarından dolayı **GAÜN Şahinbey Araştırma ve Uygulama Hastanesi Hematoloji Bilim Dalı Öğretim Üyelerine**,

Yüksek Lisans eğitimimde bana destek olan **Kilis 7 Aralık Üniversitesi Biyoloji Bölüm Başkanı Sayın Doç. Dr. Nazım ŞEKEROĞLU**'na,

Tez çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan arkadaşlarım **Bio. Nazlı BOZMAN** ve **Mol. Bio. Deniz MIHÇIOĞLU**'na,

Tüm eğitim hayatım boyunca destek ve emeklerini esirgemeyen, tez çalışmalarım sırasında da manevi olarak her zaman yanımda olan **sevgili aileme**,

Projeye destek veren **GAÜN BAPYB**'ye,

Yurtiçi Yüksek Lisans Burs desteği ile Ekim 2009-Ağustos 2011 Ayları arasında çalışmalarına destek olan **TÜBİTAK Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı**'na,

En içten teşekkürlerimi sunuyorum.

**SEVGİ GEZİCİ**

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
<b>ÖZET</b>	i
<b>ABSTRACT</b>	ii
<b>TEŞEKKÜR</b>	iii
<b>İÇİNDEKİLER</b>	iv
<b>ŞEKİLLER LİSTESİ</b>	v
<b>TABLolar LİSTESİ</b>	vi
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ</b>	vii
<b>BÖLÜM 1: GİRİŞ</b>	1
1.1. Hematolojik Kanserler	1
1.2. TAP1 ve TAP2 Genleri	5
<b>BÖLÜM 2: LİTERATÜR ÖZETLERİ</b>	12
<b>BÖLÜM 3: MATERYAL ve YÖNTEM</b>	26
3.1. Örnekleme	26
3.2. DNA İzolasyonu	27
3.3. TAP1 ve TAP2 Genlerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) İle Amplifikasyonu	29
3.4. Agaroz Jel Elektroforezi	32
3.5. TAP1 ve TAP2 Gen Polimorfizmlerinin RFLP (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi) Tekniği ile Analizi	34
3.6. Genotip Tayini	36
3.7. İstatiksel Analiz	38
<b>BÖLÜM 4: BULGULAR VE TARTIŞMA</b>	39
4.1. Örnekleme ve DNA İzolasyonu	39
4.2. TAP1 ve TAP2 Genlerindeki Polimorfik Bölgelerin PZR ile Çoğaltılması	39
4.3. TAP1 ve TAP2 Gen Polimorfizmlerinin RFLP Tekniği ile Analizi	42
4.4. TAP1 ve TAP2 Gen Polimorfizmlerinin Hastalıklarla İlişkisi	45
4.4.1. KML Hastalığı ve Polimorfizmler Arasındaki İlişki	45
4.4.2. KLL Hastalığı ve Polimorfizmler Arasındaki İlişki	48
4.4.3. MM Hastalığı ve Polimorfizmler Arasındaki İlişki	50
<b>BÖLÜM 5: SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	55
<b>KAYNAKLAR</b>	56

## ŞEKİLLER LİSTESİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Şekil 1.1.</b> MHC gen bölgesinin kromozomal yerleşimi	7
<b>Şekil 1.2.</b> MHC sınıf II bölgesi	8
<b>Şekil 3.1.</b> Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	30
<b>Şekil 4.1.</b> TAP1-333 polimorfik bölgesinin PZR ile çoğaltılması sonrasında agaroz jel elektroforezi ile kontrol edilmesi	39
<b>Şekil 4.2.</b> TAP1-637 polimorfik bölgesinin PZR ile çoğaltılması sonrasında agaroz jel elektroforezi ile kontrol edilmesi	40
<b>Şekil 4.3.</b> TAP2-379 polimorfik bölgesinin PZR ile çoğaltılması sonrasında agaroz jel elektroforezi ile kontrol edilmesi	40
<b>Şekil 4.4.</b> TAP2-565 polimorfik bölgesinin PZR ile çoğaltılması sonrasında agaroz jel elektroforezi ile kontrol edilmesi	41
<b>Şekil 4.5.</b> TAP2-651 polimorfik bölgesinin PZR ile çoğaltılması sonrasında agaroz jel elektroforezi ile kontrol edilmesi	41
<b>Şekil 4.6.</b> TAP2-665 polimorfik bölgesinin PZR ile çoğaltılması sonrasında agaroz jel elektroforezi ile kontrol edilmesi	42
<b>Şekil 4.7.</b> TAP1-333 gen polimorfizminin Sau3A1 enzim kesimi ile analizi	42
<b>Şekil 4.8.</b> TAP1-637 gen polimorfizminin Acc1 enzim kesimi ile analizi	43
<b>Şekil 4.9.</b> TAP2-379 gen polimorfizminin BstU1 enzim kesimi ile analizi	43
<b>Şekil 4.10.</b> TAP2-565 gen polimorfizminin Sca1 enzim kesimi ile analizi	44
<b>Şekil 4.11.</b> TAP2-661 gen polimorfizminin Sma1 enzim kesimi ile analizi	44
<b>Şekil 4.12.</b> TAP2-665 gen polimorfizminin Msp1 enzim kesimi ile analizi	45



## TABLULAR LİSTESİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 3.1.</b> Çalışmaya dahil edilen gruplar ile bireylerin yaş ve cinsiyet dağılımları	26
<b>Tablo 3.2.</b> TAP genleri PCR amplifikasyonu için kullanılan primer dizileri	31
<b>Tablo 3.3.</b> PCR Reaksiyonundaki Isı Döngüleri	32
<b>Tablo 3.4.</b> Çalışmada kullanılan restriksiyon enzimleri, kesim koşulları ve oluşan kesim ürünleri	35
<b>Tablo 3.5.</b> Kesim sonuçlarına göre TAP1 polimorfizmlerinin genotiplendirilmesi	36
<b>Tablo 3.6.</b> Kesim sonuçlarına göre TAP2 polimorfizmlerinin genotiplendirilmesi	38
<b>Tablo 4.1.</b> TAP1 ve TAP2 genotiplerinin kontrol grubunda ve KML hastalarında dağılımı	46
<b>Tablo 4.2.</b> TAP1 ve TAP2 genotiplerinin kontrol grubunda ve KLL hastalarında dağılımı	49
<b>Tablo 4.3.</b> TAP1 ve TAP2 genotiplerinin kontrol grubunda ve MM hastalarında dağılımı	51
<b>Tablo 4.4.</b> Çalışılan hastalıklarda TAP1 ve TAP2 gen polimorfizmi ilişkisi	53

## SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

A	Adenin
A	Alanin (Ala)
aa	Amino asit
ABC	ATP-Binding Cassette Transporter
ABL	Abelson protoonkogeni
AC	Adenokarsinoma
ALL	Akut Lenfoblastik Lösemi
AML	Akut Miyeloblastik Lösemi
APM	Antijen İşleme Mekanizması
APOE4	Apolipoprotein E geni ε4
AS	Ankylosing Spondilit
BCR	Breakpoint cluster region
bç	baz çifti
C	Sitozin
C	Sistein (Cys)
CD	Cluster of differentiation
CE	Kistik ekinokokkozis
CTLs	Sitotoksik T Lenfositleri
D	Aspartat (Asp)
dk	dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksiribonükleozid trifosfat
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
ER	Endoplazmik Retikulum
G	Guanin
G	Glisin (Gly)
GP	Geri Primer
HBV	Hepatit B Virüs
HCV	Hepatit C Virüs
HLA	Human Leukocyte Antigens (İnsan Lokosit Antijenleri)
HG	Hodgin Lenfoma
HPV	İnsan Papilloma Virüs
I	İzolösin (Ile)
İP	İleri Primer
JME	Jüvenil Miyoklonik Epilepsi
KLL	Kronik Lenfositler Lösemi

KML	Kronik Miyelositer Lösemi
LMP	Low Molecular Weight Polypeptide (Düşük Moleküler Ağırlıklı Polipeptit)
lt	Litre
Mb	megabaz
mg	miligram
MgCl <sub>2</sub>	Magnezyum Klorür
MHC	Major Histocompatibility Complex (Ana Doku Uyuşum Bileşeni)
ml	mililitre
mM	milimolar
MM	Multiple Myelomma
Na <sub>2</sub> EDTA	Sodyum EDTA
p	Anlamlılık değeri
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PLC	Peptit Loading Complex
R	Arjinin (Arg)
RFLP	Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
rpm	Dakikadaki devir sayısı
SCC	Servikal Hücre Karsinoması
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
SLE	Sistemik eritamatöz deri veremi
SNP	Tek Nükleotit Polimorfizmi
T	Timin
T	Threonin (Thr)
TAP	Transporter Associated With Antigen Processing
Taq	Thermus aquaticus
TBE	Tris Borik Asit EDTA
TCR	T hücre reseptörleri
TE	Tris-EDTA
TM	Transmembran Segment
Tm	Melting temperature
u	Unit (birim)
V	Valin (Val)
V	Volt
WM	Waldenström makroglobulinema
µl	mikro litre
µM	mikro molar
µg	mikro gram
χ <sup>2</sup>	Ki kare

## BÖLÜM 1

### GİRİŞ

#### 1.1. HEMATOLOJİK KANSERLER

Hematolojik maligniteler; kemik iliğinden türeyen hücrelerde meydana gelen bir grup neoplazmadır. Hematolojik tümörlerin büyük bir çoğunluğu yapısal veya sayısal kromozom anomalileri ile ilişkilidir. Bu anomaliler gen ekspresyonunun bozulmasına ya da yeni bir füzyon proteininin oluşmasına neden olmaktadır. Hematolojik kanserlerin farklı tiplerinde, farklı kromozomlara ait translokasyon, delesyon ve/veya inversiyonlar hastalığın tanı ve prognozunda önemli rol almaktadırlar (Pala, 2005).

Kromozom translokasyonu sonucu bir neoplazmanın gelişmesindeki faktör; bir protoonkogenin onkogen haline dönüşmesi veya aşırı ekspresyon yapması olabileceği gibi, bir tümör baskılayıcı genin fonksiyonunu kaybederek onkogenleri baskılayamaması da olabilmektedir (Pala, 2005).

Hematolojik maligniteler, myeloid ve lenfoid olmak üzere iki farklı kan hücre hattından kaynaklanabilmektedirler. Myeloid hücre hattı normal süreçte granülosit, eritrosit, trombosit, makrofaj ve mast hücrelerini oluştururken; lenfoid hücre hattı B, T ve doğal öldürücü hücreler ile plazma hücrelerini oluşturmaktadır. Lenfomalar, lenfositik lösemiler ve myeloma lenfoid hücre hattından köken alan malignitelerdir. Öte yandan akut ve kronik myeloid lösemiler, miyodisplastik sendromlar myeloid hücre hattından kaynaklanmaktadır.

Akut Miyeloblastik Lösemi (AML), Akut Lenfoblastik Lösemi (ALL) akut lösemilerin iki ana grubudur. Kronik Miyelositer Lösemi (KML) ve Kronik Lenfositer Lösemi (KLL) ise kronik lösemiler sınıfına girmektedir.

Akut Lösemiler morfolojik olarak Akut Miyeloblastik Lösemi (AML) ve Akut Lenfositler Lösemi (ALL) olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadır. Akut lösemi, erken hematopoetik öncü hücrelerin klonal, neoplastik proliferasyonu sonucu ortaya çıkan olay ve olayların sonucudur. Normal olarak çoğalıp farklılaşmak yerine, hücre kontrolsüz biçimde çoğalan ama farklılaşmayan bir hücre dizisi oluşturur. Bunun sonucu olarak blast denen olgunlaşmamış myeloid hücreler (Akut myeloid lösemi-AML) veya lenfoid hücreler (Akut lenfoblastik lösemi-ALL) hızlı bir şekilde birikir, giderek kemik iliğinin yerini alır ve sonucunda normal eritrosit, lökosit, trombosit sayısı azalır. Akut lösemiler tüm kanserlerin yaklaşık %3'ünü oluşturmaktadır olup, sıklıkla gözlemlendiği yaş grupları değişkenlik göstermektedir. ALL; 15 yaşın altındaki çocuklarda en sık görülen kanser çeşidi ve ikinci ölüm sebebi iken, AML insidansı erken dönemde sivrilmeye yapmadan yaşla birlikte görülme sıklığı artmaktadır. Akut lösemilere neden olan mekanizma kesin olarak bilinmemekle birlikte tek bir hücreden başladığı ve de novo veya sekonder olarak oluştuğu düşünülmektedir. AML patogenezinde kromozomlardaki translokasyonlar [t(8,22),t(15,17)] ve inversiyon gibi yapısal bozukluklar sonucu oluşan füzyon genleri etkili olmaktadır. ALL patogenezinde ise; AML patogenezinde olduğu gibi translokasyon sonucu oluşan füzyon genler ve nokta mutasyonları önemli rol oynamaktadır. Akut lösemili hastaların çoğunda kromozom sayısı ve yapılarında anormallikler bulunur. Bu anormallikler klonaldır, edinseldir ve hastanın normal hücrelerinde bulunmaz. Hastalığın farklı morfolojik ve klinik alt tipleri ile ilişkilidir (Çankaya, 2009).

KML tüm lösemi çeşitlerinin %15'ini oluşturmaktadır ve primitif pluripotent kök hücrenin miyeloid progenitör hücrelerde artmış proliferasyonu ve azalmış prognoz ile karakterize klonal bir erişkin hastalığıdır. Myeloid, monosit, eritrosit, megakaryosit, B-lenfosit ve genellikle T-lenfosit ile ilişkilidir (Koca ve Haznedaroğlu, 2007).

KML sıklığı ve mortalitesi yaş ile artış göstermekte olup, 20 yaşın altındaki vakalar tüm hastaların % 10'dan azını oluşturmaktadır. Erkek cinsiyette kadınlara oranla 1,5 kat daha fazla gözlenmesine rağmen, hastalığın seyri her iki cins için farklı değildir (Erken, 2008). Yıllık görülme sıklığı yaklaşık 1:100000' dir. KML'ye neden olan

kromozomal anomalilik Philadelphia kromozomu olarak adlandırılan 9. Kromozom üzerinde yer alan *abl* (abelson) protoonkogeni ile 22. kromozom üzerinde bulunan *bcr* (breakpoint cluster region) onkogeni arasındaki dengeli resiprokal translokasyon t(9;22)(q34;q11)'dur. Translokasyon sonucunda onkogenik BCR/ABL füzyon proteini oluşmaktadır. Tirozin kinaz aktivitesine sahip olan bu füzyon protein KML'ye neden olmaktadır. Ayrıca iyonizan radyasyon ve benzer de hastalığa neden olduğu ileri sürülen faktörler arasında yer almaktadır (Baran ve Gündüz, 2007).

KML, klinik olarak üç farklı fazda seyir göstermektedir. Kronik fazda myeloid hücreler genel olarak normal işlevlerini görürken tam anlamı ile olgunlaşamazlar. Bu evrede kan ve kemik iliğinde blast hücre sayısı %5'ten azdır. 3-4,5 yıl sürebilen kronik evrede herhangi bir belirti gözlenmeyebilirken, hafif belirtiler de görülebilmektedir. Hastalığın ikinci fazı olarak bilinen akselere fazda farklı sekonder genetik bozukluklar oluşmaktadır bunun yanı sıra miyeloid hücrelerde farklılaşma azalmaktadır. Kronik fazda % 5'ten az olan blast hücre sayısı % 15'e yükselmekle birlikte bu evrede ateş, kemik ağrısı ve dalak büyümesi de meydana gelmektedir. KML'nin ileri fazı blast krizinde ise, aşırı sayıda farklılaşmamış lösemi hücreleri hastayı enfeksiyonlara karşı hassas hale getirmektedir. Blast hücre sayısı % 30'a ulaşmıştır (Baran ve Gündüz, 2007).

Bulguların ortaya çıkışı ile tanı arasındaki süre ortalama bir yıldır. Hastalığın en belirgin bulguları arasında dalak büyümesi, akyuvar sayısında artış, halsizlik ve sindirim sistemi bozuklukları yer almaktadır. Hastalığın erken döneminde mutlak bazofil sayısında artış, hatta lökosit sayısı yükselmeden önce, görülebilir. Anemi erken bir bulgu değildir, ancak trombositoz sıklıkla gözlenir. Lökosit alkalen fosfataz düzeyi (LAP) düşüktür (normal değeri ~20 ile 100). Ancak KML'ye eşlik eden enfeksiyon, KML tedavisi veya akselere ve/veya blastik faza geçişle birlikte LAP skoru artar (Erken, 2008).

KML tanısı periferik kan yayması veya kemik iliği incelemesi ile birlikte karyotip analizinde Ph varlığının veya Floresan In-Situ Hibridizasyon (FISH) ya da Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yöntemi ile Bcr-Abl saptanması ile konur (Koca ve Haznedaroğlu, 2007).

KLL tüm lösemilerin %30'unu oluşturmakta olup; kan, kemik iliği, lenf nodu ve dalakta proliferizasyon özelliği olmayan olgun lenfositlerin artışı ile ortaya çıkan bir hastalıktır. KML olgularının %5'i T hücre kökenli olup geri kalanı ise B hücre kaynaklı olarak gelişme göstermektedir. Uluslararası Sitogenetik Çalışma Grubu'nun yapmış olduğu çalışmalar; hastalığın oluşumunda etkili olan en sık yapısal kromozom anomalisinin t(11;14) (q13;q32) delesyonunun olduğunu göstermiştir. KLL, delesyon sonucu ortaya çıkması ve uzun süre belirti göstermeden çok yavaş ilerlemesi yönüyle öteki bütün kan kanserleri tiplerinden farklılık arz etmektedir. En belirgin belirtisi lenf düğümlerinde görülen ağrısız büyümelerdir. KML kadar belirgin olmasa da dalak büyümesi de görülebilmektedir. Hastalığın görülme sıklığı yaş ilerledikçe artış göstermekte olup, gençlerde ve çocuklarda neredeyse hiç görülmemektedir (Avcu ve Ural, 2007).

Kimyasal, radyasyon, diyet, virüs enfeksiyonu ve otoimmün hastalıkların KLL gelişmesinde önemli bir risk olduğu bugüne kadar kesin olarak gösterilememiştir. Ancak KLL' ye yakalanan kişilerin birinci ve ikinci derecedeki akrabalarında bu lösemi tipinin gelişme ihtimalinin yüksek olduğu bilinmektedir. KLL için yüksek oranda risk taşıyan ailelerde diğer lenfoma türlerinin görülme riski de artış göstermektedir (Gedik vd., 2005).

KLL tanısı için lenfosit sayısının  $5 \times 10^9/\text{lt}$  üzerinde olması gerekmektedir. Fakat immuno fenotiplendirmede KLL'ye özgü markırlar görülürse daha düşük lenfosit sayısı ( $3 \times 10^9/\text{lt}$ ) ile de KLL tanısı konulabilmektedir (Erken, 2008).

MM; kemik iliğinde plazma hücre artışı ile bu hücrelerin salgıladığı M serum proteinlerin serum ve/veya idrarda bulunmaları ve litik kemik lezyonları ile karakterize bir hastalıktır (Altuntaş vd., 2004).

B lenfositlerinden köken alan immunglobulin sentezleyen plazma hücrelerinin proliferizasyonu ve birikimi sonucu gelişen tümörler MM'ye neden olmaktadır. MM erişkinlerde görülen malignitelerin %1'ini, hematolojik malignitelerin ise %10'unu oluşturmakta olup, ortalama olarak 60-70 yaşlarındaki bireylerde diğer yaş gruplarına oranla daha sık gözlenmektedir. Hastalıktan bayanların erkeklere oranla daha fazla etkilendiği, görülme sıklığının zenci ırkta beyaz ırka göre yaklaşık iki katı

daha fazla olduğu bildirilmiştir. MM hastalarında kemik ağrıları, böbrek yetmezliği, anemi, solunum ve nörolojik semptomlar gözlenmektedir (Gedik vd., 2005). Multiple myelom patogenizinde cyclin-D ekspresyonunda artma, P16 ve P15 hipermutasyonu, Ras-onkogen mutasyonu, P53 kaybı, C-myc over ekspresyonu gibi hücre siklus regülasyon değişiklikleri yanında kemik iliği mikro çevre ilişkileri de önemli rol oynamaktadır (Altuntaş vd., 2004).

## **1.2. TAP1 VE TAP2 GENLERİ**

Bağışıklık sisteminin başlıca görevi, patojenlere karşı çeşitli efektör mekanizmalarla cevap vererek organizmayı yabancı moleküllere ve mikroorganizmalara karşı korumaktır. İmmün tanımda yabancı antijenleri kendine ait olandan ayırt etme görevi başlıca doku uygunluk antijenleri ile gerçekteşir. Hücrelerin birbirlerini tanımasında rol alan ve hücre yüzey antijenleri olarak adlandırılan İnsan Lökosit Antijenleri (HLA); ilk kez lökositlerde gösterilmiştir. Ancak daha sonra yapılan gözlemler karşı antikor geliştirilen antijenlerin sadece lökositlerde değil doku hücrelerinde de bulunduğunu göstermiştir. Bu antijenler “Doku Uygunluk Antijenleri” veya “Transplantasyon Antijenleri” olarak isimlendirilmişlerdir. (Akçam, 2005). MHC molekülleri üzerinde polimorfik ve polimorfik olmayan bölgeler yer almaktadır. Polimorfizmler genelde MHC moleküllerinin peptitlere bağlandığı bölgelerde yoğunlaşmıştır. MHC moleküllerini kodlayan genler, bireyler arasında en yüksek oranda polimorfizm gösteren genler oldukları için MHC antijenleri aynı zamanda transplantasyon antijenleri olarak da adlandırılmaktadır. Populasyonda MHC genlerinin çok farklı aileleri vardır ve bu aileler proteinlerin farklı antijenik belirleyicileri ile birleşme ve onları ortaya koyma yeteneği bakımından farklılık gösterirler (Yakut, 2004).

HLA antijenlerinin oluşması MHC gen bölgesi tarafından kontrol edilmektedir. HLA genleri kodominant olup Mendel kalıtımı gösterir; hem anne hem de baba iki haplotip taşır ve allellerin biri anneden diğer babadan blok halinde ebeveynlerden çocuğa geçtiği için bireyler anne ve babalarıyla %50 uyumlu olarak doğarlar (Akçam, 2005). HLA lokusları hem kendi aralarında hem de diğer lokuslarla bağlantı dengesizliği (linkage disequilibrium) göstermektedir (Akçam, 2005).



MHC molekülleri kodlanan proteinlerin özelliklerine göre çeşitli sınıflara ayrılmaktadır:

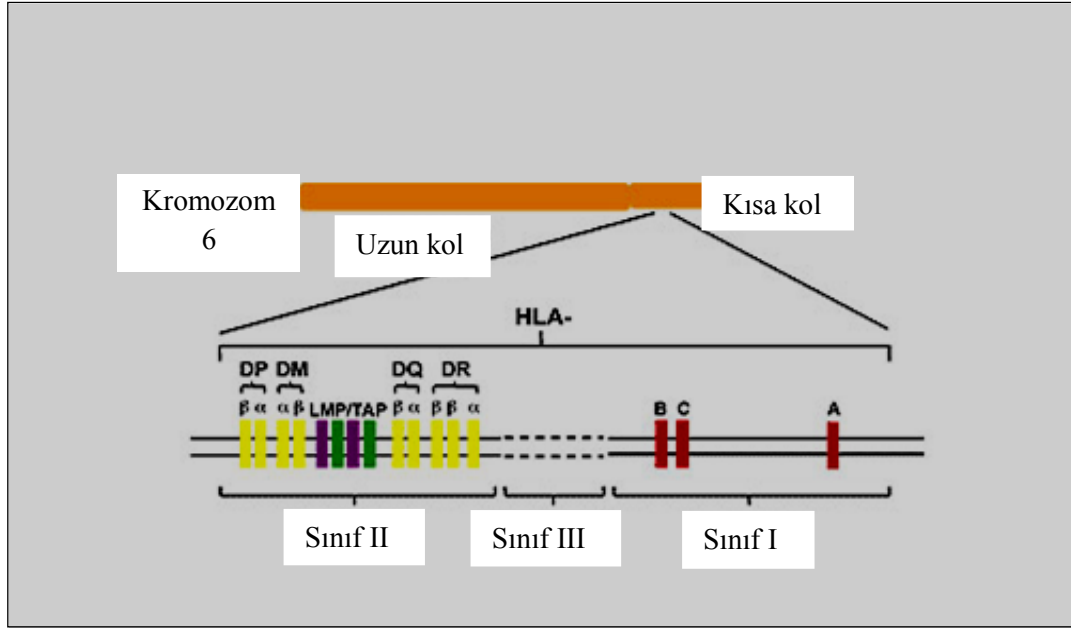
HLA sınıf I ve II molekülleri; hücre yüzey glikoproteinleridir ve amino asit benzerliği gösterdikleri için immünglobulin süper ailesinin üyesidirler. Sınıf III molekülleri ise; çözünebilir değildirler ve T hücrelerine antijen tanıtmadıkları gibi transplantasyonda da rol almamaktadırlar (Yakut, 2004).

**MHC sınıf I gen bölgesi;** MHC I gen bölgesi 1.8 Mb'lık bir alanda yer almakta olup toplam 128 bölge içermektedir (Shiina vd., 2004).

MHC sınıf I molekülleri hücre yüzey glikoproteinleridir. Bu moleküller peptitlere intraselüler olarak bağlanırlar ve onları hücre yüzeyindeki sitotoksik T lenfositlerine (CTLs) sunarlar.

Vücutta tüm çekirdekli hücrelerin zarında bulunan MHC sınıf I antijenleri;  $\alpha$  ve  $\beta_2$  mikroglobulin olmak üzere iki polipeptit zincirinden oluşmuştur. Alfa zinciri HLA kompleksinden meydana gelen polimorfik bir glikoprotein iken;  $\beta_2$  mikroglobulin polimorfik değildir ve  $\alpha$  zincirine non-kovalent bağlarla bağlanmıştır. HLA sınıf I molekülü  $\alpha$  zincirinden ayrılırsa fonksiyonunu kaybeder (Yakut, 2004).

Yabancı antijeni hücre yüzeyinde CD8(+)T hücrelerine sunmakla görevli olan Sınıf I molekülleri HLA-A, -B, -C, -E, -F, -G olarak gruplandırılırlar. Bu antijenlerden HLA-A, -B, -C klasik sınıf I antijenleri iken HLA-E, -F, -G klasik olmayan sınıf I antijenleridir ve daha az sayıda dokuda ifade edilirler. HLA-G'nin ise; sadece plasental dokuda ifade edildiği ve fonksiyonunun fetüsün canlılığı ile ilgili olduğu sanılmaktadır (Akçam, 2005).



**Şekil 1.1.** MHC gen bölgesinin kromozomal yerleşimi

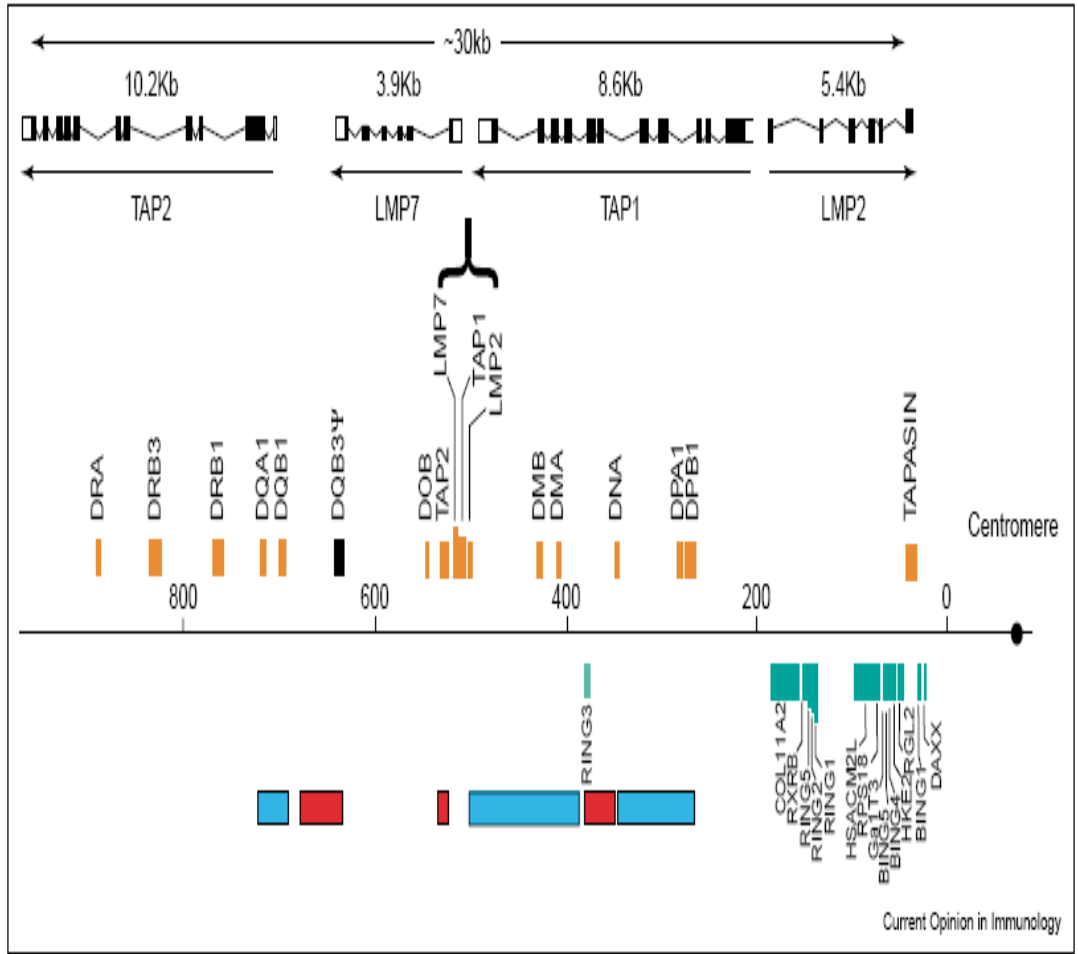
**Genişletilmiş Sınıf I bölgesi;** BABBR1, SUMO2P, MOG ve ZNP57 olmak üzere toplam 4 gen içerir. Ancak, koku almaçları, histon, tRNA ve çinko parmak protein gibi proteinleri kodlayan dublike genler genişletilmiş Sınıf I bölgesinin telomerik kısmında yer alırlar (Shiina vd., 2009).

**MHC sınıf II gen bölgesi;** MHC sınıf II gen bölgesi 6. Kromozomun sentromere yakın bölgesinde 0.7 Mb büyüklüğünde bir alanda yer almakta olup, bu gen bölgesindeki antijenler; B lenfositleri, makrofaj, dendritik hücre, endotel hücre ve bazı aktif T hücreleri gibi hücrelerin yüzeylerinde yer almaktadır. MHC sınıf II antijenleri glikoprotein yapıda olan heterodimerdirler. Birbirine non-kovalent bağlı  $\alpha$  ve  $\beta$  zincirlerinden oluşmuşlardır. Yabancı antijenleri CD4(+)T hücrelerine tanıtmakla görevli olan MHC sınıf II molekülleri HLA-DR, -DP, -DQ, -DO, -DN' dir. Bunlardan HLA-DR, -DP, -DQ klasik sınıf II antijenleridir (Akçam, 2005). Çeşitli pseudogenler ile LMP2 (Low Molecular Weight Polypeptide 2), LMP7 (Low Molecular Weight Polypeptide 7), TAP1 (Transporter Associated with Antigen Processing 1) ve TAP2 (Transporter Associated with Antigen Processing 2) gibi antijen işlenmesinde rol alan genler de MHC sınıf II gen bölgesinden kodlanmaktadır. LMP2 ve LMP7 proteozom komponentleri iken, TAP1 ve TAP2 ise antijenik peptitlerin endoplazmik retikulumun lümenine pompalamasından

sorumludur (Çarin, 2004). Bu genler 6. kromozomda (6p21.3) sınıf II bölgesinde HLA-DP ile HLA-DQ arasında yer almaktadırlar (McCluskey vd., 2004).

**Genişletilmiş sınıf II bölgesi;** 0,2 Mb'lık bir alanı kaplar ve toplam 19 gen bölgesi (15'i protein kodlayan gen, 2'si yalancı gen) içerir (Shiina vd., 2009).

**MHC sınıf III gen bölgesi (HLA olmayan proteinler)** Sınıf I ve Sınıf II gen bölgeleri arasındaki 0.9 Mb'lık bölgede bulunmaktadır. Bu gen bölgesi diğer gen bölgelerinden farklı olarak HLA dışındaki bazı proteinleri kodlayan genleri içermektedir. Bunlar kompleman komponentleri (C2, C4 ve faktör B) sitokinler (interferon, tümör nekrozis faktör), enzimler (21 hidroksilaz koenzim) ve bazı ısı şok proteinleridir (Dalva, 2004). MHC sınıf III moleküllerinin humoral ve hücrel bağışıklıkta önemli oldukları bilinmesine rağmen transplantasyon için önemleri gösterilememiştir (Dilsiz, 2004).



Şekil 1.2. MHC sınıf II bölgesi (McCluskey vd., 2004)

Antijen işlenmesinde rol alan MHC sınıf I ve sınıf II molekülleri farklı yapılara sahip oldukları için bağlayacakları peptidin özelliği ve bağlanma gücü de farklılık göstermektedir. Bu nedenle antijen işlenmesi için kullandıkları mekanizmalar birbirinden farklılık göstermektedir. Ekzojenik peptitlerin işlenmesinde MHC sınıf II molekülleri, endojenik peptitlerin işlenmesinde ise MHC sınıf I molekülleri kritik öneme sahiptir (Beksaç, 2004).

CD4 ve CD8 molekülleri; T hücreleri üzerinde bulunan ve hücre-hücre bağlanmasına eşlik eden moleküllerdendir. CD4 molekülünü taşıyan hücrelere CD4 T lenfositleri, CD8 molekülünü taşıyan hücrelere CD8 T lenfositleri adı verilir. T hücre reseptörleri (TCR); tek başına antijeni tanıyamaz, antijeni tanıyıp bağlanabilmesi için MHC moleküllerine gereksinim duyarlar. T hücrelerine antijen sunumu sırasında CD8 molekülü MHC I, CD4 molekülü ise MHC II'ye bağlanmaktadır (Beksaç, 2004).

Ekzojenik proteinler (ör: bakteri kökenli) lizozomlar ile antijenik peptitlere parçalanmaktadır. Oluşan bu peptitler, endojenler ile kaynaşmakta ve MHC sınıf II molekülüne bağlanmaktadır. Endojenlerle kaynaşan peptitler hücre yüzeyine salınarak CD(+4)T hücrelerine sunulmaktadır (Kim vd., 2007).

MHC sınıf I moleküllerine bağlananlarda ise, TAP genlerinin ürünlerine gereksinim vardır. Bu genler sınıf II MHC bölgesinde yer almakta olup, sınıf I MHC molekülleri ile ilişkili peptitlerin sunumu için endojen antijenlerin işlenmesinde görev almaktadırlar. Virüsler veya tümör antijenleri gibi endojenik peptitler, proteozomlar ile parçalanıp TAP molekülleri aracılığıyla endoplazmik retikulumun bir ucundan diğer ucuna ATP enerjisi harcanarak transfer edilmektedirler. TAP molekülleri transfer edilen bu peptitleri moleküler bir şaperon olan Tapasin proteini aracılığıyla MHC sınıf I moleküllerine sunmaktadır. Tapasin; 240 (Arg-Thr) pozisyonundaki tek amino asitin farklılığından dolayı iki ana yapısal polimorfizm gösteren allellere sahiptir. Bu nedenle tapasin polimorfik bir yapıya sahiptir. Peptitler MHC sınıf I'in ağır zincirine ve B<sub>2</sub>-mikroglobuline bağlanmaktadır ve oluşan kompleks hücre yüzeyinde CD(+8) T hücrelerine sunulmaktadır (Purcell, 2004).

Bağımsız ER proteini olan Tapasin, TAP genlerinin ifadesini kararlaştırmak ve ER'deki MHC sınıf I moleküllerinin peptit yüklemesini optimize etmekle görevli üçüncü

bir alt ünite olarak görülmektedir. Tapasin proteini MHC bölgesinde yer alan HLA-DP' nin yakınından kodlanmaktadır. Bu durum sitoplazmada LMP2 ve LMP7 tarafından antijenik peptitlerin oluşturulup ER'ye taşınmasında ve daha sonra T hücrelerine sunulmasında rol alan genlerin birlikte evrimleştiğini göstermektedir. Bu genlerin birlikte aktarılıp, bağlantı göstermesi; kromatinin açılmasında veya TAP1 ve LMP2'nin arasındaki intergenik bölgeler gibi promoter elementlerin paylaşımında etkili olan sitokinler tarafından kontrol edilmektedir (McCluskey vd., 2004).

ABC (ATP-Binding Cassette) transporter süper ailesinin bir üyesi olan integral TAP proteinleri; TAP1 ve TAP2 genlerinden kodlanmaktadır. TAP1 ve TAP2 genleri yaklaşık 71-77 kilo Dalton moleküler ağırlığa sahip 8-12 kilobaz uzunlukta olan heterodimerlerdir. TAP1 ve TAP2 moleküllerinin her bir alt ünitesi çok sayıda transmembran segment (TM) ve bir tane sitoplazmik bölgede kalan nükleotit bağlama özelliğine sahip alt birim içermektedir. Peptitler 4-6 numaralı transmembran bölgelerin sitoplazmik halkalarına bağlanmaktadır. TAP proteininin N terminal ucu ER membranında birkaç alt birimden oluşmakta iken; C terminal ucu sitoplazmada ATP ile etkileşim içindedir (McCluskey vd., 2004).

Malignant tümör hücreleri, MHC sınıf I'in downregülasyon ekspresyonu tarafından öldürücü CD(+)8 sitotoksik T hücrelerinden kaçabilirler. Stabil bir MHC sınıf I yüzey ekspresyonu için; ağır ve hafif zincirin antijenik peptit dimer oluşturması gerekmektedir. Bu antijenik peptitler endoplazmik retikulumdaki MHC sınıf I moleküllerine TAP (TAP1 ve TAP2) tarafından teslim edilmektedir (Cromme vd., 1994). Tümör hücrelerinde MHC I'in regülasyonu posttranskripsiyonel mekanizma ile kontrol edilmektedir (Einstein vd., 2009).

Servikal kanserlerin yarısından fazlasında TAP gen defektleri yaygın olarak gözlenmektedir. Bunun yanı sıra melanomalarda da TAP ve tapasin kayıpları görülmektedir. Buna karşılık renal karsinoma lezyonlarında TAP gen defektleri yaygın değildir, ancak bu lezyonların yarısından fazlasında TAP ve tapasinin aşağı regülatör bölgesinin ekspresyonları gözlenmiştir (McCluskey vd., 2004).

Retinoblastom, kolorektal kanserler ve metastatik fibrosarkomun fare modellerinin PLC (peptit loading complex) bileşenlerinin kaybı ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (McCluskey vd., 2004).

Antijen sunumundaki başarısızlık hücre yüzeyindeki MHC I molekülünün düşük ekspresyonuna veya eksprese olamamasına neden olmaktadır. Bu durum immün tanımayı ve sitotoksik T lenfositlerinin (CTL's) gözlenmesini etkilemektedir (Feng vd., 2008).

İnsanlarda 6 tane TAP1, 4 tane TAP2 alleli tanımlanmıştır. Protein yapısına katılan sadece bir veya iki amino asitteki farklılık TAP gen polimorfizmlerine neden olmaktadır. TAP gen varyant polimorfizmleri; sunulan ve birbiri ile ilişkili olan antijen peptitlerini sınırlayabilir (McCluskey vd., 2004).

TAP genlerinin polimorfizm çalışmaları; antropolojik olaylarda genetik bilgi sağlamanın yanı sıra hastalık-assosyasyon ilişkilerinin aydınlatılmasında da kritik öneme sahiptir. Farklı populasyonlarda insan genlerinin dağılımını belirlemek ve genetik hastalıklarda gen bağlantı analizleri için genetik marker olarak kullanılmaktadır (Faucz vd., 2000).

Endojen antijen işlenmesindeki rollerinden dolayı TAP genlerini kodlayan bölgede meydana gelen polimorfizmler/mutasyonlar hastalıkla ilişkili olabilecek aday genlerin belirlenmesi için önemlidir. Bu tez çalışmasının amacı, birbiri ile akrabalık ilişkisi olmayan sağlıklı bireyler ile KML, KLL ve MM tipi hematolojik kanser hastalarında TAP1 ve TAP2 gen polimorfizmlerini analiz ederek allel/genotip frekanslarını belirlemek ve polimorfizm-hastalık ilişkisini incelemektir.

## BÖLÜM 2

### LİTERATÜR ÖZETLERİ

HLA, MHC, LMP ve TAP gen polimorfizmlerinin hastalıklara direnç ve yatkınlıktaki rollerinin belirlenmesi amacıyla bu güne kadar çeşitli çalışmalar yapılmıştır:

- Restifo vd., (1993), küçük akciğer kanser hücre hattında yapmış oldukları çalışmanın sonucunda; TAP1 ve TAP2 genlerinin ekspresyonlarının olmaması ile birlikte MHC sınıf I ekspresyonunun da kaybedildiğini bildirmişlerdir. Diğer bir deyişle, TAP1 ile MHC sınıf I moleküllerinin düşük ekspresyonu arasında bir korelasyon olduğu sonucuna varılmıştır.
- Davis vd., (1994), yapmış oldukları çalışmada Kafkaslarda SLE gelişimi ile TAP2 genleri arasında bir ilişki olup olmadığını belirlemeyi amaçlamışlar ve TAP2 geni ile bu hastalık arasında bir ilişki olmadığı sonucuna ulaşmışlardır.
- Saeki vd., (1994), tarafından Japon atopik dermatit hastalarında yapılan çalışmada ise; hem HLA sınıf I hem de HLA sınıf II antijenlerinin atopik dermatitin patogenezi etkilediği özellikle de HLA-DR13/-DQ6 haplotip dağılımının hastalarda anlamlı bir artış gösterdiği ve TAP allelleri ile hastalık arasında pozitif bir ilişkinin varlığı tespit edilmiştir.
- Cromme vd., (1994), farklı kanserlerde gözlenen MHC sınıf I ekspresyon kaybının TAP fonksiyonunun engellenmesi sonucunda meydana gelip gelmediğinin belirlenmesi amacıyla 76 servikal kanser hastasında immünohistokimyasal çalışma yapmışlar ve servikal kanser hastalarından 37 tanesinin neoplastik hücrelerinde TAP1 ekspresyonunun azaldığını gözlemişlerdir.

- Savage vd., (1995) Çin popülasyonundan SLE hastalarında yaptıkları çalışma sonucunda bu hastalık ile TAP1 ve TAP2 allelleri arasında hiçbir ilişki olmadığı sonucuna varmışlardır.
- Kuwata vd., (1995), tarafından yapılan çalışmada ise; Japon ve Kore popülasyonunda TAP ve HLA-DRB1\*1501 alelli ile SLE hastalığı arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.
- Kuwata vd., (1995), atopik dermatit ile TAP gen polimorfizmleri arasında bir ilişki olup olmadığının belirlenmesi amacıyla yaptıkları diğer bir çalışmada; TAP1 ve TAP2 genlerinin allel ve genotip dağılımları bakımından hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark gözlememişlerdir. Bunun yanısıra etnik olarak farklılıklar içeren Japon ve Kafkas popülasyonlarında TAP allellerinin dağılımlarının benzerlik gösterdiği ancak HLA allellerinin dağılımında farklılıklar olduğu tespit edilmiştir.
- Gonzalez-Escribano vd., (1995), orijini bilinmeyen multifaktöryel bir hastalık olan Behçet hastalığının İspanyol popülasyonunda HLA-DRB1, HLA-DQB1 allelleri ve TAP1 ve TAP2 genleri ile ilişkisinin belirlenmesini amaçlayan çalışmalarında HLA-B51 allelinin Behçet hastalarında çok yüksek bir dağılıma sahip olduğunu ancak TAP1 polimorfizmlerinin hastalığın gelişimi ile ilişkili olmadığını göstermişlerdir.
- Takeuchi vd., (1996), tarafından Japon hastalarda TAP1 ve TAP2 gen polimorfizmlerinin heterojen otoimmün bir hastalık olan sistemik lupus eritamatöz (SLE)'nin patogenezi ile ilişkisinin belirlenmesi ve TAP ile HLA-DRB1\*1501 arasındaki ilişkinin tanımlanması amacıyla yapılan çalışmada TAP1 (333 ve 637) ve TAP2 (379, 565, 665 ve 687) gen polimorfizmleri incelenmiş, ancak Japonlarda SLE hastalığı ile TAP1 ve TAP2 allelleri arasında hiçbir ilişki olmadığı saptanmıştır.
- Hillarby vd., (1996), yaptıkları çalışmada TAP2 gen polimorfizmleri ile romatoid artrit ve Felty's sendromunun patogenezi arasında bir ilişki olup olmadığını belirlemeyi amaçlamışlardır. Çalışmaya 89 romatoid artrit hastası, 24 Felty's sendromlu birey ile 64 sağlıklı birey dahil edilmiştir. Çalışılan 379, 565 ve 665 TAP2 gen polimorfizmlerinden sadece TAP2-379



polimorfizminin her iki hastalık ile anlamlı bir şekilde ilişkili olduğu sonucuna ulaşılrken, diğerlerinin romatoit artrit ve Felty's sendromunun gelişimi ile herhangi bir ilişkisi gözlenememiştir. Ayrıca TAP2D allel dağılımının her iki hastalık grubu ile ilişkili olduğu da bu çalışma sonucunda elde edilmiştir.

- Kaslow vd., (1996), HLA-A3 ile kombine TAP1-333 polimorfizminin insanlarda HIV hastalığının ilerlemesiyle ilişkili olduğunu bulmuşlardır.
- Kumagai vd., (1997), TAP1 ve TAP2 gen polimorfizmlerinin Sjörger's sendromu ile ilişkisini belirlemeyi amaçladıkları çalışmada TAP1 gen polimorfizmlerinin hastalık ile ilişkili olmadığını, yeni tanımlanan bir TAP2-577 Bky-2 (Val-577) allelinin ise Sjörger's sendromunun gelişimi ile ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir.
- Rau vd., (1997), Grave's hastalığının TAP1 ve TAP2 gen polimorfizmleri ile ilişkili olup olmadığını belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada 235 Grave's hastası birey ile 218 sağlıklı bireyden elde edilen DNA örneklerinde TAP1 ve TAP2 dizi varyantları analiz edilmiştir. Bu çalışmada, TAP1\*0301 ile TAP2\*0101 allellerinin Grave's hastalığı ile ilişkili olduğu ancak TAP1\*0401 allelinin hastalığa karşı koruyucu etkiye sahip olabileceği sonucuna ulaşılmıştır.
- Ismail vd., (1997), Tunus popülasyonunda TAP1 gen polimorfizmleri ile atopi arasında bir ilişki olup olmadığını belirlemeyi amaçlamışlardır. TAP1-333 ve 637 polimorfizmlerinin dağılımının allejik astım, alerjik rinit ve alerjik dermatit ile kontrol grubu arasında kıyaslanması sonucunda; TAP1B (Val-333/Gly-637), TAP1D (Ile-333/Gly-637) allelleri ile Gly-637 kodonunun her üç hastalık ile de ilişkili olduğu; TAP1A allelinin ise bu hastalıklara karşı koruyucu olabileceği sonucuna varılmıştır.
- Vinasco vd., (1997), tarafından TNF lokusundaki polimorfizmlerin romatoit artrit hastalığı ile ilişkisinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada, HLA-DR1, -DR4, -DR10 allellerinin hastalık ile ilişkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

- Çeşitli kanser hücre hatlarında ve dokularda TAP ve LMP genlerinin ekspresyonlarının azaldığı bildirilmiştir (Seliger vd., 2007).
- Vinasco ve ark. (1998); TAP ve LMP gen polimorfizmlerinin romatoid artrit hastalığı ile ilişkili olup olmadığını incelemeleri sonucunda TAP ve LMP genleri ile romatoid artrit hastalığının patogenezi arasında önemli bir ilişki tespit edememişlerdir.
- Eiermann vd., (1998), yaptıkları çalışma sonucunda alveolar ekinokokusun MHC lokusları ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca, alveolar ekinokokusun bazı formlarının HLA-DR3, HLA-DQ2 allelleri ile de ilişkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir. HLA-DRB11 allelinin, E. multilocularis larvaları ile enfekte olmuş bireylerde enfeksiyondan sonra alveolar ekinokokus geliştirme riskini azaltabileceğini belirlerken, HLA-DP 0401 allelinin bu riski artırabileceğini bildirmişlerdir.
- Kuzushita vd., (1999), Japon popülasyonunda TAP2 gen polimorfizmleri (TAP2-565, -651 ve -687) ile Hepatit C virüs (HCV) enfeksiyonu arasında bir ilişki olup olmadığını belirlemek amacıyla bir çalışma yapmışlardır. Yapılan analizler sonucunda; TAP2\*0103 allelinin dağılımı normal alanın transaminaz aktivitesine sahip olan hastalarda kronik karaciğer hastası olan hastalardan daha fazla bulunurken, TAP2\*0102 allelinin her iki grup HCV hastalarında sağlıklı bireylerden daha fazla bir dağılıma sahip olduğu gözlenmiştir.
- Foley vd., (1999), etnik olarak birbirinden bağımsız UK Kafkas ve Polonya Slavları olmak üzere iki Avrupa popülasyonunda Sarkoidosis hastalarında ARMS-PCR metodu ile TAP gen polimorfizmlerini analiz etmişlerdir. UK Kafkas popülasyonu ile yapılan çalışmada; TAP1 genindeki polimorfizmlerin hastalık ile ilişkili olmadığı ancak TAP2-565 kodonundaki Ala/Ala genotipi ile TAP2-665'deki Thr/Thr genotipinin sarkoidosis hastalarında sağlıklı bireylere göre daha fazla bir dağılıma sahip olduğu gözlenmiştir. TAP gen polimorfizmlerinin dağılımı iki popülasyon arasında kıyaslandığında ise, her iki popülasyondaki kontrol ve hasta grupları arasında ve sadece hastalar

arasında TAP2’de anlamlı bir farklılık gözlenirken, her iki popülasyondaki kontrol grupları arasında da TAP1’de anlamlı bir farklılık gözlenmiştir.

- Faucz vd., (2000), tarafından Kaingang, Guarani Amerindian, ve Paraná Kafkas popülasyonu olmak üzere üç farklı Brezilya popülasyonunda TAP1, TAP2, LMP2 ve LMP7 gen polimorfizmlerinin allel ve haplotip frekanslarının dağılımı incelenmiş ve dağılımlarının Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığı test edilmiştir. Çalışmanın sonucunda Guarani ve Kaingang popülasyonlarının LMP ve TAP genlerindeki allel ve genotip dağılımları açısından farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Kafkas (Beyaz ırk) popülasyonu ise Avrupa’daki ve diğer popülasyonlardaki Kafkas (Beyaz ırk) popülasyonları ile benzerlik göstermektedir. Bunun yanı sıra Kızılderililerin ayırt edici polimorfizmlere sahip olduğu da gözlenmiştir. Çalışmanın sonucunda elde edilen veriler, TAP-LMP bölgesindeki genlerin birlikte evrimleştiği hipotezini desteklemektedir.
- Fraile vd., (2000), Kafkas popülasyonunda TAP gen polimorfizmleri ile Ankylosing spondilit arasında bir ilişki olup olmadığının belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmanın sonucunda, TAP polimorfizmlerinin AS ile ilişkili olmadığı sonucuna varmışlardır.
- Lee vd., (2001), Kore popülasyonunda atopik dermatit hastalığının TAP, LMP ve HLA sınıf I genleri ile ilişkili olup olmadığını araştırmışlardır. Tiplendirilen 11 tane HLA-A ve 27 tane HLA-B allelinden sadece HLA-A24 alleli hastalık ile ilişkili bulunmuştur. TAP1, LMP2 ve LMP7 genleri hastalıkla ilişkili bulunamazken; TAP2 geninde TAP2C allelinin hastalık ile anlamlı bir şekilde ilişkili olduğu belirlenmiştir.
- Zhang vd., (2002a), Doğu Fransa popülasyonunda TAP1 ve TAP2 genlerindeki polimorfizmlerin romatoid artrit hastalığı ile ilişkisinin belirlenmesini amaçlamışlardır. Hasta ve kontrol bireylerde TAP1 ve TAP2 polimorfizmleri ile HLA-DRB1 genotiplendirilmiş ve tüm hasta ve kontrol bireylerin HLA-DRB1 genotipine sahip olduğu ancak TAP2-565 ve TAP2-651 kodonlarındaki genotip dağılımlarının hasta ile sağlıklı grup arasında farklılık gösterdiği gözlenmiştir. TAP2-565 kodonundaki Thr varyantı ile

TAP2-651'deki Cys varyantının romatoid artrit hastalığının patogeneğinde etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Bununla beraber TAP2-565'deki Thr varyantının peptit seçimini ve MHC sınıf I molekülleri ile etkileşimi etkilediği belirlenmiştir.

- Gerçeker vd., (2002), tarafından Türkiye populasyonunda TAP1 ve TAP2 gen varyantlarının dağılımının analiz edilmesi ve kistik fibrozis hastalığının fenotipinde bu varyantların olası modifiye etkilerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada TAP1 geninde TAP1-333 ve 637 olmak üzere iki polimorfizm, TAP2 geninde TAP2-379, 565 ve 665 olmak üzere üç polimorfizm analiz edilmiştir. Analiz edilen beş polimorfizmden TAP2-379 ve TAP2-565 ile hastalık arasında anlamlı bir ilişki bulunamazken, TAP1-333 TAP1-637 ve TAP2-665 polimorfizmlerinin dağılımı hastalarda kontrol grubuna göre farklılık göstermiştir. Ayrıca,  $\Delta F508$  homozigot hastalarda bu mutasyonun sadece TAP2-665 ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır.
- Penformis vd., (2002), Finlandiya populasyonunda HLA genleri ile ilişkili olduğu bilinen bir hastalık olan Tip I Diabet gelişiminde TAP2 geninin rolünü belirlemeyi amaçlamışlardır. Çalışmaya dahil edilen 146 Finlandiyalı hasta ile 90 kontrol bireyde 379, 565, 665, 651 ve 687 olmak üzere beş kodon bölgesindeki varyasyonlar analiz edilmiş ve TAP2-651 DRB1\*04,-DQ8 ile TAP2F allellerinin hastalık ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır.
- Gerçeker ve Özgüç (2003), Anadolu populasyonunda TAP1 ve TAP2 gen varyasyonlarının dağılımını incelemişler ve elde ettikleri verileri Fransa, Japonya, Almanya, Sardinya, ABD (Beyaz ırk), Guarani, Kaingang populasyonları ile karşılaştırmışlardır. Yapılan analizler sonucunda; Anadolu populasyonunun genetik olarak Avrupa populasyonlarına yakın olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonucu, ana populasyonun Orta Doğu'dan Avrupa'ya Anadolu aracılığıyla yayılmış olduğunu yani Anadolu'nun Avrupa ile Orta Doğu arasında genetik bir köprü olduğunu destekler niteliktedir.
- Zhang vd., (2002b), insanlardaki alveolar ekinokokusta TAP gen polimorfizmlerinin rolünü inceledikleri çalışmanın sonucunda TAP1 333 ve 637 varyantlarının dağılımının hasta ile kontrol grubu arasında önemli bir

farklılık göstermediğini belirlemişlerdir. Ayrıca, TAP2 665 bölgesinde Thr/Thr genotipinin hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek bir dağılıma sahip olduğu gözlenmiş ve Thr/Thr genotipi ile alveolar ekinokokusun birkaç formu arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur. Aynı zamanda HLA-DRB1 alleli ile alveolar ekinokokus hastalığı arasında da pozitif bir ilişki olduğu belirlenmiştir.

- Lajoie vd., (2003a), homojen atasal bir grup olan yerli Zimbabvelilerde (Shona etnik grup) TAP1 gen polimorfizmlerini analiz etmişler ve TAP1 genini kodlayan bölgenin tamamında 11 tane nükleotit dizi varyasyonunun varlığını tanımlamışlardır. Çalışmanın sonucunda, kodon 333 ve TAP1\*0201 ile TAP1\*0401 allellerinin dağılımında Afrikalı ve Afrikalı olmayan populasyonlar arasında önemli bir fark gözlenmemiştir.
- Lajoie vd.,(2003b), yerli Zimbabvelilerde (Shona etnik grup) TAP2 gen polimorfizmlerini de analiz etmişler ve TAP2 genini kodlayan bölgenin tamamında 17 tane nükleotit dizi varyasyonunun varlığını tanımlamışlardır. Bunlardan 373-Thr, 565-Thr ve 651-Cys varyantlarının dağılımlarında Afrikalı ve Afrikalı olmayan populasyonlar arasında anlamlı farklılıklar gözlenmiştir.
- Pyo vd., (2003), sedef hastalığının patogenezi ile TAP ve HLA-DM genleri arasındaki ilişkinin belirlenmesini amaçladıkları bir çalışmada TAP1 (333 ve 637), TAP2 (379, 565 ve 665), LMP2, LMP7, DMA ve DMB gen polimorfizmlerini incelemişlerdir. Farklı polimorfizmlerin dağılımları Koreli sedef hastaları ile kontrol grubu arasında karşılaştırıldığında; TAP1-637 ve TAP2-665 polimorfizmleri sedef hastalığı ile ilişkili bulunurken, diğer TAP1 ve TAP2 polimorfizmleri ile LMP2 ve LMP7 polimorfizmlerinin dağılımlarında hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Ayrıca, hastalar Tip I ve Tip II olmak üzere iki gruba ayrılarak TAP ve HLA-DM allellerinin dağılımları incelenmiştir. Sonuç olarak, TAP2\*B/B ve DMA\*0102 allel frekanslarının sedef hastalarında kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu ve HLA-DM allellerinin tip I sedef hastalığı ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir.

- Casp vd., (2003), Kafkas populasyonunda TAP ve LMP gen polimorfizmlerini analiz ederek, bu genlerin vitiligo hastalığı gelişimindeki rolünü incelemişlerdir. Çalışmanın sonucunda; TAP ve LMP gen bölgesinin vitiligo hastalığı ile ilişkili olabileceği sonucuna varılmıştır. Öte yandan, MHC sınıf II bölgesine bağlı olmayan fakat üçüncü bir immünproteozom alt birimi olarak kodlanan MECL1 geni ile hastalık arasında bir ilişki bulunamamıştır.
- Alaminos vd., (2004), çeşitli kanserlerde TAP moleküllerinin ekspresyonlarının olmadığı durumlarda MHC sınıf I antijenlerinin de azaldığını belirlemişlerdir.
- Cao vd., (2005), Kuzey Çin’de LMP ve TAP gen polimorfizmleri ile insan papilloma virüs (HPV) enfeksiyonuna bağlı olarak görülme sıklığı artan özofagal karsinoma arasındaki ilişkiyi araştırmışlar ve bu kapsamda TAP ve LMP genlerinde yedi polimorfik bölgeyi analiz etmişlerdir. Sonuç olarak, LMP7-145 ile TAP2-379 polimorfizmleri özofagal kanser ile anlamlı bir şekilde ilişkili bulunmuştur. Hasta ve kontrol grubundaki genotip dağılımları incelendiğinde LMP7-145’de Gln/Lys ve Lys/Lys, TAP2-379’da ise Val/Ile ve Ile/Ile genotiplerinin hastalarda daha yüksek bir dağılıma sahip olduğu gözlenmiştir. Haplotip analizi sonucunda ise haplotip C (LMP7-145-Gln/TAP2-379-Ile)’nin özofagal kanser riskini arttırdığı sonucuna varılmıştır.
- Tao vd., (2007), insan papilloma virüsünün (HPV) neden olduğu Kondiloma akuminatum hastalığında TAP1 ve MHC-I moleküllerinin lokal ekspresyon seviyelerini ve ekspresyon seviyelerindeki farklılığın hastalık ile ilişkisinin belirlenmesini amaçlamışlardır. TAP1 ve MHC-I moleküllerinin ekspresyon seviyeleri hasta ve sağlıklı bireylerden alınan doku biyopsilerinde kıyaslandığı zaman; hasta bireylerin biyopsi örneklerinde bu moleküllerin ekspresyon seviyelerinin azaldığı bunun yanı sıra TAP1-mRNA’sının ekspresyon seviyesinin de önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir. Kondiloma akuminatum hastalığına neden olan HPV’nin, TAP1 ekspresyon seviyesinin azalması nedeniyle immün sistemce tanınmasının engellendiği düşünülmektedir.

- Soundravally ve Hoti (2007), TAP1-333 ve -637, HPA1-1a ve 1b ile HPA-2a ve 2b polimorfizmlerinin her birinin kanamalı ateşli enfeksiyona ve şok sendromlu enfeksiyona duyarlılıktaki rollerini çalışmışlardır. Kanamalı ateşli enfeksiyon ile TAP1-333 ve HPA1 (1a/1a) arasında pozitif bir korelasyon bulunurken, HPA1b ile şok sendromlu enfeksiyon arasında ilişki olduğu bildirilmiştir.
- Kim vd., (2007), Kore popülasyonunda alerjik burun nezlesinin patogeneğinde TAP1 ve TAP2 gen polimorfizmlerinin rolünü belirlemeyi amaçladıkları çalışmalarında, 110 hasta ve 107 sağlıklı bireyde TAP1 geninde 333 ve 637 polimorfizmleri ve TAP2 geninde 379, 565, 651 ve 665 polimorfizmlerini analiz etmişlerdir. Çalışmanın sonucunda TAP2 polimorfizmleri ile alerjik burun nezlesi arasında anlamlı bir ilişki bulunamazken, TAP1 gen polimorfizmlerinden TAP1-333 Ile/Val ile TAP1-637 Asp/Gly genotiplerinin alerjik burun nezlesine karşı genetik duyarlılığın gelişimine katkı sağlayan önemli bir faktör olduğu bildirilmiştir. Ayrıca TAP1 gen polimorfizmleri ile alerjik rijinit gelişimi arasında anlamlı bir ilişki olduğu sonucuna ulaşmışlardır.
- Doğru vd., (2007), tarafından Anadolu popülasyonunda TAP gen polimorfizmleri ile idiyopatik bronşitizi arasındaki ilişki incelenmiştir. Çalışmada, TAP1 geninde iki (kodon 333 ve 637), TAP2 geninde üç (kodon 379, 565 ve 665) polimorfik bölge analiz edilmiştir. TAP1 ve TAP2 genlerinin allel ve genotip dağılımları çalışmaya dahil edilen hasta ve kontrol grubunda karşılaştırıldığında; TAP2-565 dışındaki polimorfizmlerin idiyopatik bronşitizi ile ilişkili olabileceği sonucuna varılmıştır. İlişkili bulunan kodonlardan TAP1-333'de Ile/Val, TAP1-637'de Asp/Gly, TAP2-379'da Ile/Val ve TAP2-665'de Thr/Ala ile Ala/Ala genotiplerinin hastalığın gelişiminde etken olabileceği ileri sürülmüştür.
- Bullido vd., (2007); sporadik Alzheimer hastalığı için temel bir genetik risk faktörü olan APOE4 (apolipoprotein E geninin ε4) alleli taşıyan Alzheimer hastalarında TAP gen polimorfizmlerini analiz etmek ve hastalığın patogeneğinde etkili olan TAP gen kombinasyonlarını belirlemek amacıyla bir çalışma yapmışlardır. Çalışmanın sonucunda, TAP1 genindeki

polimorfizmlerin ve TAP2-379 polimorfizminin Alzheimer hastalığı ile ilişkili olmadığı, ancak TAP2-687'deki rs241448 SNP'sinin APOE4 alleli taşıyan Alzheimer hastalarında hastalık ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, APOE4 ve TAP2-687 C allel kombinasyonu ile hastalığın gelişimi arasında pozitif bir ilişkinin varlığı da belirlenmiştir.

- Xu vd., (2007), Çin popülasyonunda MHC sınıf II bölgesinden kodlanan TAP ve LMP genlerindeki polimorfizmlerin hepatit B virüs (HBV) enfeksiyonu ile ilişkisini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda LMP7-145 (Gln/Lys, Lys/Lys), TAP1-637 (Asp/Gly, Gly/Gly) ve TAP2-651 (Arg/Cys) genotiplerinin HBV enfeksiyonu ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca, haplotip analizi sonucunda haplotip D (Lys-Gly-Arg) ve E (Gln-Gly-Cys)'nin HBV enfeksiyonu açısından risk teşkil ettiği belirlenmiştir.
- Vermeulen vd., (2007), servikal karsinomada TAP ekspresyon defektlerinin TAP1 geninde hiçbir mutasyon olmaksızın TAP bölgesindeki heterozigotluk kaybı (LOH) ile sıklıkla ilişkili olabileceğini göstermişlerdir.
- Mehta vd., (2007), antijen işleme mekanizması (APM) bileşenlerindeki SNP genotiplerinin ve haplotiplerinin servikal kanser gelişimine etkisini araştırmışlardır. Hasta ve kontrol gruplarında TAP1, TAP2, LMP2, LMP7 ve ERAP1 genlerindeki 13 SNP, RT-PCR ile analiz edilmiştir. Servikal kanser hastaları ile sağlıklı bireyler arasında allel dağılımları kıyaslandığı zaman; LMP7-145, TAP2-651, ERAP1-127 ve ERAP1-730 lokusları ile servikal kanser riski arasında anlamlı bir ilişki olduğu sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte, TAP2-651, LMP7-145 lokuslarındaki majör allel ile ERAP1-127, ERAP1-730 lokuslarındaki minör allelin varlığının servikal kanser riskini artırdığı belirlenmiştir.
- Soundravally ve Hoti (2008), tarafından yapılan bir çalışmada enfeksiyon hastalıklarının patogenezinde rol alan antijen peptitlerinin seçimini etkileyen TAP gen polimorfizmlerinin, çeşitli viral enfeksiyonlarla ilişkisinin belirlenmesi amaçlanmış ve kanamalı ateşli enfeksiyon, ateşli enfeksiyon ve şok sendromlu enfeksiyon hastalarında TAP1 geninde 2, TAP2 geninde 3 polimorfizm analiz edilmiştir. Çalışmanın sonucunda ise; TAP1-333 ve



TAP2-665 ile TAP2-379 lokuslarındaki heterozigot genotiplerin ateşli kanamalı enfeksiyon için risk faktörü olduğu ancak TAP1 ve TAP2 homozigotluğunun enfeksiyon riskine karşı koruyucu olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

- Feng vd., (2008), Çin Han populasyonunda TAP1 ve TAP2 polimorfizmlerini analiz ederek allel dağılımlarını diğer populasyonlarla karşılaştırmışlardır. Çin Han populasyonunda nadir olarak görülen TAP1\*0401 allelinin çeşitli Afrika populasyonlarında yaygın olduğu gözlenmiştir. TAP1'in Çin Han populasyonundaki dağılımı Japon populasyonu, Amerika ve Avrupa'dan gelen Kafkas populasyonu ile benzerlik gösterirken; Kaingang, Anadolu ve Guarani populasyonları ile farklılık göstermektedir. Çin Han populasyonunda TAP2 polimorfizminin dağılımı ise diğer populasyonlardan farklılık göstermektedir.
- Aquino-Galvez vd., (2008), Meksika Mestizo populasyonunda TAP1 geninde 333, 458, 637, 661 pozisyonlarındaki polimorfizmlerin incelenmesini ve bu genlerin hipersensitif pnömonit (HP)'e karşı hassasiyetteki rollerinin belirlenmesini amaçlamışlardır. Yapılan çalışmada; Gly-637 (GGC) alleli, Asp-637/Gly-637 genotipi ve Pro-661/Pro-661 genotipinin hasta bireylerde sağlıklı bireylere göre daha fazla gözlendiği ve dolayısıyla HP hastalığı ile ilişkili oldukları sonucuna varılmıştır. Bunun yanı sıra Meksika populasyonunda TAP1-637 pozisyonundaki polimorfizmin HP hastalığına karşı duyarlılığı etkilediği de ileri sürülmüştür. Filogenetik analizler; TAP\*0101 allelindeki polimorfizmin en yeni polimorfizm olduğunu, TAP\*02012 ve 02011 allellerinin insanlardaki atasal alleller olduğunu göstermektedir. Aquino-Galvez ve arkadaşları daha önce yapmış oldukları çalışmada; Meksikalılarda MHC sınıf II haplotipleri (HLA-DRB\*1305-DQB1\*0301 ile HP'ye duyarlılık arasında anlamlı bir ilişkinin varlığını tanımlamışlardır.
- Liang vd., (2009), Lenfoid malignansi riski taşıyan ailelerde genetik varyasyonların incelenmesini amaçlamışlar ve kronik lenfoid lösemi (KLL), Waldenström makroglobulinema (WM) ve Hodgkin Lenfoma (HG) için yüksek risk taşıyan ailelerden 165 hasta ve aynı ailelerden 107 kontrol bireyi

analiz etmişlerdir. Çalışmada, apoptoz, DNA tamiri, hücre döngüsü, immün düzenleme ve oksidatif stres genleri olmak üzere lenfoma patogenezinde önemli olan 152 gende 1536 SNP analiz edilmiş ve sonuç olarak Bcl2'nin her üç hastalıkla, IL10 ve TNF SF10 polimorfizmlerinin kronik lenfoid lösemi ve waldenström makroglobulinema ile, IL6 genindeki polimorfizmin ise; hodgin lenfoma ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır.

- Einstein vd., (2009), TAP genlerindeki genetik çeşitliliğin servikal intraepiteliyal neoplasia gelişime etkisini incelemişlerdir. Çalışmada, TAP1 geninde iki (TAP1-I333V ve TAP1-D637G), TAP2 geninde üç (TAP2-I379V, -A665T ve -Q687stop) SNP analiz edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda; TAP1-I333V ile TAP1-D637G dağılımının hasta ve sağlıklı grup arasında farklılık gösterdiği gözlenmiş ve bu polimorfizmlerin servikal neoplasia gelişimine karşı yüksek derecede koruyucu bir etkiye sahip olduğu sonucuna varılmıştır.
- Feng vd., (2009), genetik olarak heterojen bir yapıya sahip olan Çin populasyonunda Ankylosing Spondilit (AS) hastalığı ile TAP1 ve TAP2 gen polimorfizmleri arasındaki ilişkinin belirlenmesini amaçlamışlar ve TAP1'de altı SNP, TAP2'de üç SNP analiz etmişlerdir. B-27 negatif ve pozitif kontrolde TAP1 ve TAP2 SNP'lerinin allel ve genotip dağılımına bakıldığında; TAP1 1910 AG genotipinin ve G allelinin, TAP2 1693 AA genotipinin AS için potansiyel bir risk faktörü olduğu gözlenmiştir. HLA-B60, MICA, HLA-DRB1, TNF- $\alpha$ , IL-1Ra, LMP gibi birçok gen AS ile ilişkili bulunurken, genetik olarak en çok ilişkili bulunan HLA-B27 genidir. Genel olarak çalışılan TAP SNP'lerinden beş tanesi AS ile ilişkili bulunmuştur.
- Fellerhoff ve Wank (2009), TAP ve Tapasin genleri gibi klasik olmayan HLA genlerinin şizofreni patogenezindeki rolünü araştırmışlardır. TAP1 geninde 333 ve 637, TAP2 geninde 386 ve 687 polimorfizmleri ile Tapasin geni analiz edilmiş ve TAP1 ve Tapasin allellerinin şizofreni patogenezinde etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

- Kiper vd., (2010), Türkiye popülasyonunda kistik ekinokokkozis (CE) hastası çocuklarda TAP1 ve TAP2 gen polimorfizmlerinin hastalık ile ilişkisini araştırmışlardır. Yapılan analizler sonucunda TAP1-333, TAP2-565 ve 665 polimorfizmleri ile hastalık arasında bir ilişki bulunamazken; TAP1-637 ve TAP2-379 polimorfizmleri hastalık ile anlamlı bir şekilde ilişkili bulunmuştur. Ayrıca TAP1-637 Asp/Gly ile TAP2-379 Ile/Val genotipinin hastalığa karşı duyarlılığa neden olabileceği bildirilmiştir. Multifaktöriyel bir hastalık olan kistik ekinokokkozisin gelişiminde TAP genlerinin az da olsa rol oynayabileceği düşünülmektedir.
- Tamandani vd., (2010), Kuzey Hint popülasyonunda TAP1 ve TAP2 gen polimorfizmlerinin servikal hücre karsinoması (SCC) ve adenokarsinomaya (AC) yakalanma riski üzerine etkisini araştırmışlardır. TAP1 ve TAP2 genotip dağılımlarının hasta ve kontrol grubu arasında kıyaslanması sonucunda; bu genlerin çalışılan servikal kanser türleri ile ilişkili olmadığı sonucuna varılmıştır.
- Layouni vd., (2010a), tarafından yapılan bir çalışmada epilepsi türlerinin %5-10'unu oluşturan ve birkaç genin birbirleriyle etkileşimi sonucu ortaya çıkan Jüvenil Miyoklonik Epilepsi (JME) ile BRD2 ve TAP1 genlerinin ilişkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada BRD2 geninde 3 SNP ile TAP1 geninde iki polimorfizm analiz edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda; BRD2 genindeki SNP'lerin hastalık ile ilişkili olmadığı ancak TAP1 geninde 333 Ile/637 Gly ve 333 Val/637 Asp haplotiplerinin hastalıktan sorumlu olabileceği sonucuna varılmıştır.
- Layauni vd., (2010b), bir diğer çalışmada TAP1 genindeki polimorfizmlerin, Kafkas popülasyonunda jüvenil miyoklonik epilepsi ile Tunus popülasyonunda ise genel idiyopatik epilepsi ile ilişkisini araştırmışlardır. Çalışmada, TAP1 geninde TAP1-333 ve TAP1-637 olmak üzere iki polimorfizm analiz edilmiştir. Tunus popülasyonunda çok yaygın olarak görülen genel idiyopatik epilepsi ile TAP1 genindeki I333V ve D637G polimorfizmleri arasında ilişki olduğu belirlenmiştir ancak Kafkas popülasyonunda jüvenil miyoklonik epilepsi ile TAP1 geni arasında herhangi

bir ilişki bulunamamıştır. TAP1-A/A haplotipinin ise, bazı epilepsinin çeşitlerine karşı koruyucu bir marker olduğu sonucuna varılmıştır.

- Shi vd., (2010)'nın Çin popülasyonunda TAP ve LMP gen varyasyonlarının hepatit B virüs (HBV) enfeksiyonunun gelişimi ile ilişkisini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada; 356 HBV enfeksiyonlu hasta ile 278 sağlıklı bireyden elde edilen DNA örneklerinde 8 polimorfizmin analizi yapılmıştır. Analiz edilen polimorfizmlerden sadece TAP1-637 ve LMP7-145, HBV enfeksiyonu ile ilişkili bulunmuştur. [TAP1-637]-[LMP7-145] haplotip D (Gly-Lys) taşıyan bireylerin inatçı HBV enfeksiyonuna yakalanma riskinin arttığı belirlenmiştir. Yapılan çalışmanın sonucunda; TAP ve LMP genlerinin HBV enfeksiyon gelişimi için önemli bir faktör olabileceği bildirilmiştir.
- Bravo vd., (2010)'nın Güney İspanya popülasyonunda brusellozis patogenezi ile TAP ve LMP genlerindeki genetik polimorfizmler arasındaki ilişkinin belirlenmesi amacıyla yapmış oldukları çalışmada TAP1'de 333 ve 637, TAP2'de 379, 565, 665 ve 687, LMP'de LMP2 ve LMP7 pozisyonlarındaki gen polimorfizmlerini PCR-RFLP metodu ile çalışmışlardır. Hasta ile kontrol grubu arasında TAP1 ve TAP2 allel dağılımına bakıldığı zaman; TAP1A, TAP2A ve TAP2B allellerinin her iki grupta da en yaygın dağılıma sahip olduğu görülmüştür. Çalışmanın sonucunda TAP ve LMP genlerinin genotiplerinin dağılımı ile brusellozis arasında anlamlı bir ilişki bulunamadığı gibi TAP ile HLA sınıf I bölgeleri arasında da bir ilişki bulunamamıştır.

## BÖLÜM 3

### MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Örnekleme

Hematolojik kanserlerde TAP1 ve TAP2 gen polimorfizmlerinin incelenmesini amaçlayan bu çalışmada, Kronik Miyelositer Lösemi (KML), Kronik Lenfositik Lösemi (KLL) ve Multipl Miyelom (MM) olmak üzere üç farklı hasta grubuna ait bireylerden kan örnekleri alınmıştır. Çalışmaya dahil edilen hasta grupları ve kontrol grubuna ait birey sayılarının cinsiyete ve yaşa göre dağılımı Tablo 3.1’de verilmiştir.

**Tablo 3.1.** Çalışmaya dahil edilen gruplar ile bireylerin yaş ve cinsiyet dağılımları

<b>Gruplar</b>	<b>Cinsiyet dağılımı</b>	<b>Toplam birey</b>	<b>Minumum yaş</b>	<b>Maksimum yaş</b>
<b>KML</b>	E: 15 K: 33	48	19	78
<b>KLL</b>	E: 18 K: 8	26	40	80
<b>MM</b>	E: 15 K: 10	25	36	74
<b>Kontrol</b>	E: 45 K: 55	100	17	58

Çalışmaya toplamda 99 hasta birey ve birbiriyle akrabalık ilişkisi olmayan 100 sağlıklı birey dahil edilmiştir. Çalışmada yer almayı kabul eden bireylerden alınan 10 ml periferik kan örnekleri steril EDTA'lı tüpler içerisine konulmuştur. Örnek alımı sırasında kişilere çalışmanın amacı, izlenecek yöntem, risk ve faydalar hakkında bilgi verilerek sözlü ve yazılı onamları alınmıştır.

Bu çalışma, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Etik Kurulu'nun onayı alınarak gerçekleştirilmiştir (30.06.2008, Karar no: 06-2008/118).

### **3.2. DNA İzolasyonu**

Örnekleme sırasında bireylerden alınan 10 cc periferik kandan yüksek tuz konsantrasyonu DNA'nın çöktürülmesi metodu kullanılarak DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem, yüksek miktarda DNA eldesine olanak sağlamakta ve kolay uygulanabilmekte olup ekonomik ve biyogüvenlik açısından da avantajlı bir yöntemdir.

**DNA izolasyonu sırasında kullanılan solüsyonların içerikleri aşağıda verilmiştir:**

#### **▪ Çekirdek Lizis Tamponu (pH: 8.2)**

10 mM Tris-HCL	1,576 g
400 mM NaCl	23,4 g
2 mM Na <sub>2</sub> EDTA	0,7 g

Distile su ile çözülerek 1 lt'ye tamamlanmıştır. pH 8.2'ye ayarlanıp otoklavda steril edildikten sonra buzdolabında +4°C'de saklanmıştır.

#### **▪ SDS %10**

SDS	10 g
-----	------

Distile su ile çözülerek 100 ml'ye tamamlanmıştır. Membran filtre ile steril edilerek oda sıcaklığında saklanmıştır.

▪ **Amonyum Asetat**

Amonyum Asetat 148 g

Distile su ile çözümlenerek 200 ml'ye tamamlanmıştır.

▪ **TE tampon çözeltisi (pH: 7.5)**

1 mM Tris-HCL 0,394 g

1mM Na<sub>2</sub>EDTA 0,093 g

Distile su ile çözümlenerek 250 ml'ye tamamlanmıştır. Solüsyon otoklavlanarak buzdolabında +4°C'de muhafaza edilmiştir.

▪ **Proteinaz K**

200 mg proteinaz K, 10 ml'ye steril distile su ile tamamlanmıştır ve -20°C'de muhafaza edilmiştir.

**Solüsyonlar hazırlandıktan sonra periferik kandan DNA izolasyonu için aşağıdaki işlemler sırasıyla gerçekleştirilmiştir:**

- 10 cc kan 50 ml'lik EDTA' lı tüplere alınarak üzerine 40 ml soğuk steril distile su eklendi ve eritrositleri patlatmak amacıyla tüpler 1-2 dk aşağı yukarı çalkalandı.
- Tüpler 2000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi (P Selecta Centronic –BL II Santrifüj).
- Süpernatant atıldı ve pelletin üzerine hacim 25 ml'ye tamamlanacak şekilde soğuk steril distile su eklendi, pellet çözümlene kadar tüpler çalkalandı.
- Örnekler, 2000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi.
- Süpernatant atıldı ve pelletin üzerine 3 ml Çekirdek Lizis tamponu, 200 µl Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) ve 150 µl Proteinaz K eklendi ve karışım vorteks ile homojenize edildi.
- Tüpler 37 °C'de 16 saat inkübasyona bırakıldı.

- Tüplerin içerisine 2 ml amonyum asetat eklendikten sonra 1 dk sallandı ve oda sıcaklığında 10 dk bekletildi.
- Örnekler 3500 rpm'de 15 dk santrifüj edildi.
- Süpernatant toplanarak başka bir tüpe aktarıldı ve üzerine toplam örnek hacminin 2 katı kadar etanol eklendi.
- Tüpler yavaşça döndürülerek DNA'nın toparlanması sağlandı.
- DNA 500 µl TE (Tris-EDTA) tamponunda çözündürüldükten sonra kullanılacağı zamana kadar -80 °C'de saklandı.

İzole edilen DNA örneklerinin konsantrasyon ve saflık tayini Nanodrop cihazı kullanılarak yapıldı.

### **3.3. TAP1 ve TAP2 Genlerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile Amplifikasyonu**

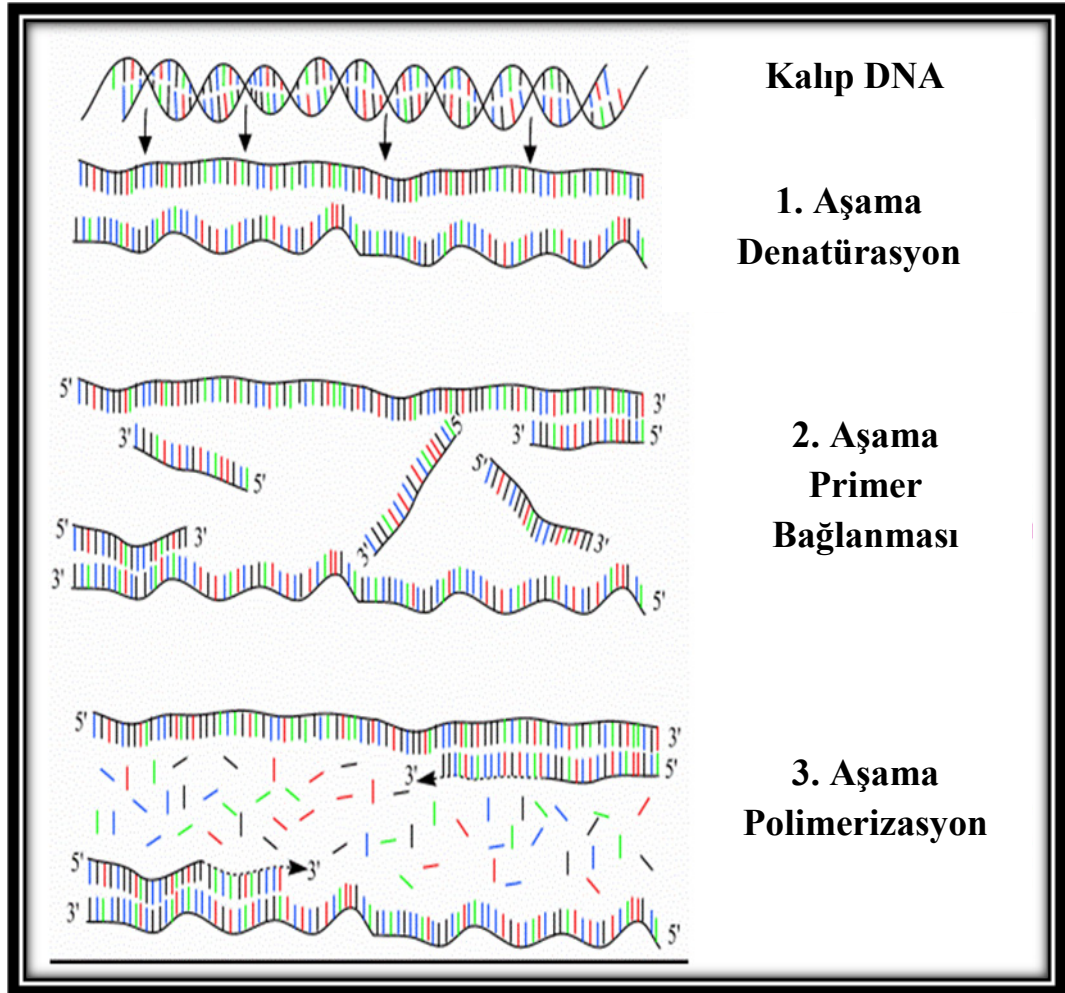
Kary Mullis tarafından 1985 yılında keşfedilen Polimeraz Zincir Reaksiyonu; tek iplikli DNA'yı kalıp alan ve belli bir DNA dizisini özgün olarak in vitro ortamda çoğaltmak için kullanılan ve genetik alanında devrim niteliği taşıyan bir tekniktir. DNA polimeraz enzimi; oligonükleotitleri (primer) substrat olarak kullanarak 5'→3' yönünde yeni DNA ipliğini sentezleyerek belli bölgenin kopyasının oluşturulmasını sağlar. Bir PCR reaksiyonu genellikle 30-35 döngüden oluşur. Her döngünün sonunda DNA miktarı iki katına çıkar. Böylece bir DNA molekülünün milyonlarca hatta milyarlarca kopyası kısa zamanda yapılabilmektedir (Yıldırım vd., 2007).

- **Denatürasyon:** Çift iplikli DNA'nın 94-95°C gibi yüksek sıcaklıklarda denatüre edilerek tek iplikli hale getirilmesidir. Denatürasyon basamağı için kullanılan sıcaklık derecesi hedef DNA'nın baz içeriğine göre değişkenlik göstermektedir. Eğer hedef DNA yüksek GC içeriğine sahipse, denatüre etmek için gerekli olan sıcaklık derecesi daha fazladır (Klug, 2003).
- **Primer Bağlanması:** Çoğaltılmak istenen diziye özgün olarak tasarlanmış oligonükleotitler ile denatüre edilmiş DNA'nın birleşme reaksiyonudur. Denatüre edilmiş tek iplikli DNA'ya primerlerin özgül olarak bağlanabilmesi ve



dolayısıyla hedef bölgenin çoğaltılabilmesi için sıcaklığın primerin erime ısısına (T<sub>m</sub>) düşürülmesi gerekmektedir. Her primerin erime ısısı baz sayısına ve baz içeriğine göre farklılık göstermektedir (Klug, 2003).

- **Polimerizasyon (Zincir Uzaması):** Primerlerin Taq DNA polimeraz enzimi sayesinde hedef DNA sarmalını tamamlamaları işlemidir. Taq DNA polimeraz enziminin optimum aktivite gösterdiği 72-75°C sıcaklıkta oligonükleotitler (primer) substrat olarak kullanılarak 5'→3' yönünde yeni DNA ipliği sentezlenerek belli bölgenin kopyasının oluşturulması sağlanmış olur (Klug, 2003).



**Şekil 3.1.** Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) (<http://genotyping.wordpress.com>).

TAP1 ve TAP2 genlerinde incelenecek polimorfizmleri kapsayan bölgelerin amplifikasyonu için tasarlanan özgül primer dizileri Tablo 3.2'de verilmiştir.

**Tablo 3.2.** TAP genleri PCR amplifikasyonu için kullanılan primer dizileri

GEN	PRİMER DİZİLERİ	PCR ÜRÜNÜ	PRİMER BAĞLANMA SICAKLIĞI
TAP1-333	İP 5'- CACCCTGAGTGATTCTCT- 3' GP 5'- ACTGACTCTGCCAAGTCT- 3'	235 bç	55°C
TAP1-637	İP 5'- CCCTATCCAGCTACAACC- 3' GP 5'- AACGCCACTGCCTGTCGCT- 3'	183 bç	55°C
TAP2-379	İP 5'-GAACGCGCCTTGTACCTGCTC-3' GP 5'- ACCCCCAAGTGCAGCAC- 3'	212 bç	57°C
TAP2-565	İP 5'-GGAGCAAGCTTACAATTTGTAGAAGATACC-3' GP 5'- CTGTTCTCCGGTTCTGTGAGGAACAACAGT-3'	162 bç	55°C
TAP2-651	İP 5'-GGTGTGAGGGCAGCCCCAGTTCCT- 3' GP 5'-ATCACCAGCACTGTGCGATCCCCC- 3'	261 bç	60°C
TAP2-665	İP 5'-GGTGATTGCTCACAGGCTGCCG- 3' GP 5'-CACAGCTCTAGGGAAACTC- 3'	227 bç	56°C

TAP1 ve TAP2 genlerinin PCR ile amplifikasyonu için 1µg genomik DNA örneği, 1 µmol/l ileri primer (İP) ve geri primer (GP), 200 µM her bir dNTP, 1X Taq DNA polimeraz çözeltisi, 1,5 mmol/l MgCl<sub>2</sub> ve 0,5 ünite Taq polimeraz içeren toplam 25 µl karışım hazırlanmıştır.

TAP1 ve TAP2 gen bölgeleri Takara PCR Thermal Cycler (Gradient PCR) kullanılarak çoğaltılmıştır.

PCR reaksiyonundaki ısı döngüleri Tablo 3.3'de verilmiştir.

**Tablo 3.3.** PCR Reaksiyonundaki Isı Döngüleri

	İŞLEM	SICAKLIK	SÜRE	DÖNGÜ SAYISI
Basamak 1	Ön denatürasyon	95 °C	5 dk	1
Basamak 2	Denatürasyon	95 °C	30 sn	35
	Primer Bağlanma	T <sub>m</sub> *	30 sn	
	Zincir Uzama (Sentez)	72 °C	30 sn	
Basamak 3	Final Sentez	72 °C	5 dk	1

\*Primerin bağlanma sıcaklığı (T<sub>m</sub>) kullanılan primere göre değişkenlik göstermektedir.

### 3.4. Agaroz Jel Elektroforezi

Yüklü moleküllerin bir elektrik alanda yürütülerek elektron yüklerine, molekül ağırlıklarına ve yapılarına göre ayrıştırılması işlemine elektroforez denilmektedir. Elektroforez jelinde; moleküller kendi yüklerine zıt kutba doğru hareket ederler. Bunun yanı sıra küçük molekül ağırlığına sahip DNA bantları ağır olandan daha hızlı hareket ederek jelde farklılaşırlar (Dilsiz, 2004).

Çalışmada, PCR reaksiyonu sonucunda elde edilen ürünler %2'lik agaroz jelde elektroforez işlemi ile ayrıştırılmıştır ve etidyum bromür kullanılarak DNA bantlarının görüntülenmesi sağlanmıştır.

Agaroz jel elektroforezi işleminde kullanılan solüsyonlar ve içerikleri aşağıdaki gibidir:

#### ➤ Etidyum Bromür

Steril distile su ile 5 mg/ml olacak şekilde 10 ml'lik stok hazırlanmıştır.

➤ **Agaroz jel Yükleme Tamponu**

6x, 10x Brom Fenol mavisi yükleme tamponu (Fermentas)

Orange G yükleme tamponu

10mM Tris-HCl, % 0,15 Orange G boyası, %0,3 ksilen siyanol, %60 gliserol ve 60mM EDTA

➤ **TBE Tampon Çözeltisi (pH: 8,3)**

Tris 121,1 g

Borik Asit 61,8 g

EDTA 7,44 g

Distile su ile çözülerek 100 ml'ye tamamlanmıştır.

**% 2'lik Agaroz Jelin Hazırlanması**

- 2 g agaroz hassas terazide tartılıp bir erlene konuldu.
- Üzerine 100 ml 1XTBE tamponu ilave edildi ve mikrodalga fırın kullanılarak kaynatıldı.
- Erlen 50-55 °C'ye soğutulduktan sonra, içerisine 10 µl etidyum bromür (5mg/ml) eklendi.
- Karışım hava kabarcığı olmayacak şekilde jel tabağına döküldü ve oda sıcaklığında yaklaşık 40 dk jelin polimerize olması için bekletildi.
- Jel tabağı, jel tamamen tamponun içerisinde olacak şekilde tankın içerisine yerleştirildi.
- En az bir kuyucuğa DNA belirleyici olmak üzere, çalışılan bireylere ait PCR ürünleri yükleme tamponu ile karıştırılarak yüklendi.
- Örnekler 120 V'da yaklaşık 35 dakika yürütüldü (Cleaver MP- 250 V elektroforez).

- Ardından jel görüntüleme sistemi kullanılarak UV ışığında bantların görüntülenmesi sağlandı ( Vilber Lourmat görüntüleme cihazı).

### **3.5. TAP1 ve TAP2 Gen Polimorfizmlerinin RFLP (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi) Tekniği ile Analizi**

Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi tekniğinde kullanılan restriksiyon endonükleazlar, restriksiyon bölgeleri olarak bilinen çift zincirli DNA'nın sadece spesifik baz dizilerini tanıyarak diziyi bu bölgelerden kesmektedir (Yıldırım, 2007).

Bakterilerden elde edilen restriksiyon endonükleaz enzimleri, bakterinin kendi DNA'sına zarar vermezken, kendi DNA'sı dışındaki yapıları özgül baz dizilerinden tanıyarak kesip yok ederler (Klug, 2003).

TAP1 ve TAP2 gen polimorfizmleri için PCR ile çoğaltılan gen bölgeleri özgül restriksiyon enzimleri ile üretici firmanın önerdiği koşullarda kesime tabi tutulmuş ve kesim sonucu oluşan DNA parçaları agaroz jel elektroforezi ile büyüklüklerine göre ayrıştırılmıştır.

TAP1 ve TAP2 genlerinin PCR ürünleri (5µl) toplam 10µl hacim içerisinde 5-10 U enzim kullanılarak kesilmiştir. PCR ürünlerinin uygun restriksiyon enzimleri ile kesilmesi sonucunda elde edilen ürünler agaroz jel elektroforezi ile ayrıştırılmış ve etidyum bromür ile boyanarak UV ışık altında görüntülenmiştir. Oluşan bantların büyüklükleri standart DNA belirleyicileri (marker) ile karşılaştırılarak polimorfizmler analiz edilmiştir.

Poliimorfizmlerin incelenmesi için kullanılan restriksiyon enzimleri, bu enzimlerin kesim koşulları ve kesim sonucu oluşan DNA bant büyüklükleri Tablo 3.4'de verilmiştir.

**Tablo 3.4.** Çalışmada kullanılan restriksiyon enzimleri, kesim koşulları ve oluşan kesim ürünleri

<b>Gen</b>	<b>Restriksiyon Enzimi</b>	<b>Kesim Süresi/Sıcaklığı</b>	<b>Kesim Ürünleri</b>
<b>TAP1-333</b>	Sau3 A1	4 sa/37°C	Val -146, 74, 15 bç Ile - 118, 74, 28, 15 bç
<b>TAP1-637</b>	Acc1	4 sa/37°C	Gly - 183 bç Asp - 132 bç, 51 bç
<b>TAP2-379</b>	BstU1	16 sa/60°C	Ile - 212 bç Val - 192 bç, 20 bç
<b>TAP2-565</b>	Sca1	4 sa/37°C	Ala -162 bç Thr - 132 bç, 30 bç
<b>TAP2-651</b>	Sma1	4 sa/37°C	Cys - 261 bç Arg -235 bç
<b>TAP2-665</b>	Msp1	4 sa/37°C	Ala - 227 bç Thr - 207 bç, 20 bç

Kesim ürünlerinin analizi için %3'lük agaroz jel hazırlandı. DNA belirleyici ve kesilmemiş PCR ürünü ile birlikte kesilmiş PCR ürünleri sırasıyla yükleme tamponu ile karıştırılarak yüklendi. Örnekler 90V elektrik akımı verilerek yaklaşık 1 saat yürütüldü.

### 3.6. Genotip Tayini

TAP1-333 gen bölgesine ait PCR ürünü 235 bç uzunluğundadır. PCR ürünü kesildikten sonra 15, 28, 74 ve 118 bç'lik bantlar gözleendiği zaman genotip I/I, 15, 74 ve 146 bç büyüklüğünde üç bant gözleendiği zaman genotip V/V şeklinde iken 74, 118 ve 146 bç'lik üç bant gözleendiğinde genotip I/V heterozigot olarak değerlendirilmiştir.

TAP1-637 gen bölgesine ait PCR ürün büyüklüğü 183 bç uzunluğundadır. Kesim işlemi sonucunda 183 bç'lik tek bant gözleendiğinde (her iki allel kesilmemiş ise) genotip (G/G); 51, 132 ve 183 bç'lik üç bant gözleendiğinde (allelardan sadece biri kesilmiş ise) genotip (D/G); 51 ve 132 bç'lik iki bant gözleendiğinde ise (her iki allel kesilmiş ise) genotip (D/D) olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen TAP1 gen bölgesinden TAP1-333 ve TAP1-637 polimorfizmleri için elde edilen PCR ürün büyüklükleri ile kesim sonucu elde edilen bant büyüklüklerine göre belirlenen genotipler Tablo 3.5 'de verilmiştir.

**Tablo 3.5.** Kesim sonuçlarına göre TAP1 polimorfizmlerinin genotiplendirilmesi

POLİMORFİZM	PCR ÜRÜN BÜYÜKLÜĞÜ	GENOTİP	KESİM ÜRÜNLERİ
TAP1-333	235 bç	I/I	15 bç, 28 bç, 74 bç, 118 bç
		I/V	74bç, 118 bç, 146 bç
		V/V	15 bç, 74 bç, 146 bç
TAP1-637	183 bç	D/D	51 bç, 132 bç
		D/G	51 bç, 132 bç, 183 bç
		G/G	183 bç

TAP2-379 gen bölgesine ait PCR ürün büyüklüğü 212 bp uzunluğundadır. Kesim işlemi sonucunda, 212 bp'lik tek bant gözleendiğinde (her iki allel kesilmemiş) genotip (I/I), 20, 192 ve 212 bp'lik üç bant gözleendiğinde (allelardan sadece biri kesilmiş) genotip (V/I), 192 bp ve 20 bp'lik bantlar gözleendiğinde ise (her iki allel kesilmiş) genotip (V/V) olarak değerlendirilmiştir.

TAP2-565 gen bölgesine ait PCR ürün büyüklüğü 162 bp uzunluğundadır. Kesim işlemi sonucunda, 162 bp'lik tek bant gözleendiğinde (her iki allel kesilmemiş) genotip (A/A), 30, 132 ve 162 bp'lik üç bant gözleendiğinde (allelardan sadece biri kesilmiş) genotip (T/A), 30 ve 132 bp'lik iki bant gözleendiğinde ise (her iki allel kesilmiş ise) genotip (T/T) olarak değerlendirilmiştir.

TAP2-651 gen bölgesine ait PCR ürün büyüklüğü 261 bp uzunluğundadır. Kesim işlemi sonucunda, 261 bp'lik tek bant gözleendiğinde (her iki allel kesilmemiş) genotip (C/C), 26, 235 ve 261 bp'lik üç bant gözleendiğinde (allelardan sadece biri kesilmiş) genotip (R/C), 26 ve 235'bp'lik iki bant gözleendiğinde ise (her iki allel kesilmiş ise) genotip (R/R) olarak değerlendirilmiştir.

TAP2-665 gen bölgesine ait PCR ürün büyüklüğü 227 bp uzunluğundadır. Kesim işlemi sonucunda 227 bp'lik tek bant gözleendiğinde (her iki allel kesilmemiş ise) genotip (A/A), 20, 207 ve 227 bp'lik üç bant gözleendiğinde (allelardan sadece biri kesilmiş) genotip (T/A), 20 ve 207 bp'lik iki bant gözleendiğinde ise (her iki allel kesilmiş ise) genotip (T/T) olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen TAP2 gen bölgesinden TAP2-379, TAP2-565, TAP2-651 ve TAP2-665 polimorfizmleri için elde edilen PCR ürün büyüklükleri ile kesim sonucu elde edilen bant büyüklüklerine göre belirlenen genotipler Tablo 3.6 ' da verilmiştir.



**Tablo 3.6.** Kesim sonuçlarına göre TAP2 polimorfizmlerinin genotiplendirilmesi

<b>POLİMORFİZM</b>	<b>PCR ÜRÜN BÜYÜKLÜĞÜ</b>	<b>GENOTİP</b>	<b>KESİM ÜRÜNLERİ</b>
<b>TAP2-379</b>	212 bç	V/V	20 bç, 192 bç
		V/I	20 bç, 192 bç, 212 bç
		I/I	212 bç
<b>TAP1-565</b>	162 bç	T/T	30 bç, 132 bç
		T/A	30 bç, 132 bç, 162 bç
		A/A	162 bç
<b>TAP2-651</b>	261 bç	R/R	26 bç, 235 bç
		R/C	26 bç, 235 bç, 261 bç
		C/C	261 bç
<b>TAP1-665</b>	227 bç	T/T	20 bç, 207 bç
		T/A	20 bç, 207 bç, 227 bç
		A/A	227 bç

### 3.7. İstatistiksel Analizler

Gen polimorfizmlerinin PCR-RFLP ile analizi sonucunda allel ve genotip frekansları direk sayım yöntemi ile belirlenmiştir. Elde edilen veriler “SPSS 13,0 for Windows” programı ile analiz edilerek populasyonun Hardy-Weinberg dengesine uyumu incelenmiştir. Ayrıca, polimorfizmlerin allel ve genotip dağılımları kontrol ve hasta gruplarında ki-kare ( $\chi^2$ ) analizi ile karşılaştırılarak hastalık-polimorfizm ilişkisi incelenmiştir.

## BÖLÜM 4

### BULGULAR VE TARTIŞMA

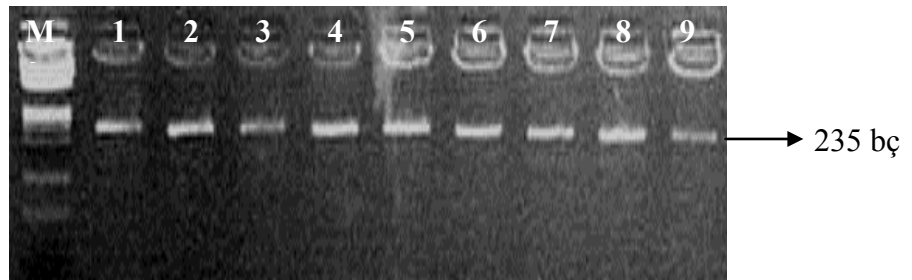
#### 4.1. Örnekleme ve DNA İzolasyonu

Çalışmada, birbiriyle akrabalık ilişkisi olmayan sağlıklı bireyler ile Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Hematoloji bölümünde tanı konmuş KML, KLL ve MM hastalarından elde edilen kan örnekleri kullanılmıştır. Tüm bireylerden alınan kan örneklerinden DNA izole edilebilmiştir. DNA örneklerinin konsantrasyonları ölçülmüş ve ortalama 150-200 µg/ml olduğu tespit edilmiştir. Ancak, DNA örneklerinin miktarları yetersiz kaldığı için polimorfik bölgelerin analiz edilebildiği hasta sayısı değişkenlik göstermiştir.

#### 4.2. TAP1 ve TAP2 Genlerindeki Polimorfik Bölgelerin PZR ile Çoğaltılması

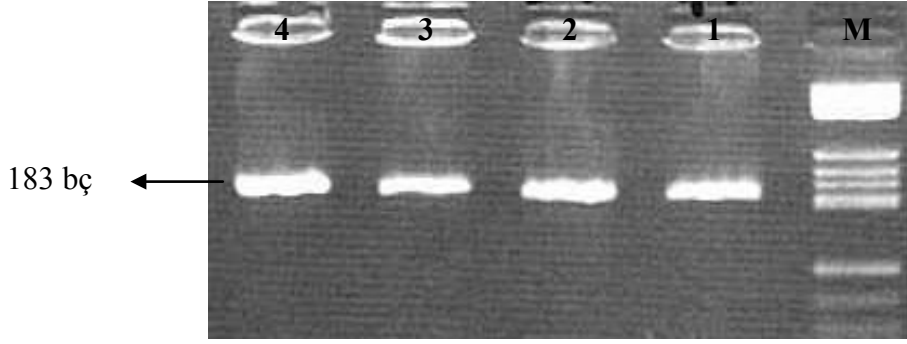
TAP1 ve TAP2 genlerindeki polimorfik bölgeler PZR ile çoğaltıldıktan sonra elde edilen ürünler agaroz jel elektroforezi ile kontrol edilmiştir.

TAP1 genindeki iki polimorfik bölge (TAP1-333 ve TAP1-637) PZR ile çoğaltılmış ve PZR sonucu agaroz jel elektroforezi ile kontrol edilmiştir. Örnek jel görüntüsü Şekil 4.1 ve Şekil 4.2’de verilmiştir.



**Şekil 4.1.** TAP1-333 polimorfik bölgesinin PZR ile çoğaltılması sonrasında agaroz jel elektroforezi ile kontrol edilmesi

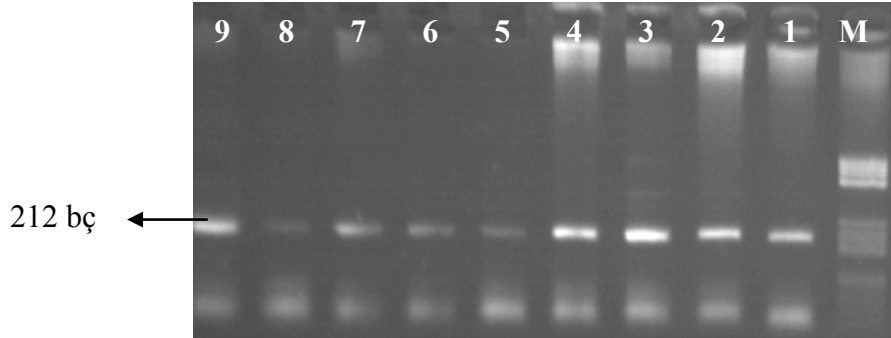
M : DNA belirleyici (pBR322 HaeIII kesim)  
1-9 : Örneklere ait PZR ürünleri (235 bp)



**Şekil 4.2.** TAP1-637 polimorfik bölgesinin PZR ile çoğaltılması sonrasında agaroz jel elektroforezi ile kontrol edilmesi

M : DNA belirleyici (pBR322 HaeIII kesim)  
1-4 : Örneklere ait PZR ürünleri (183 bç)

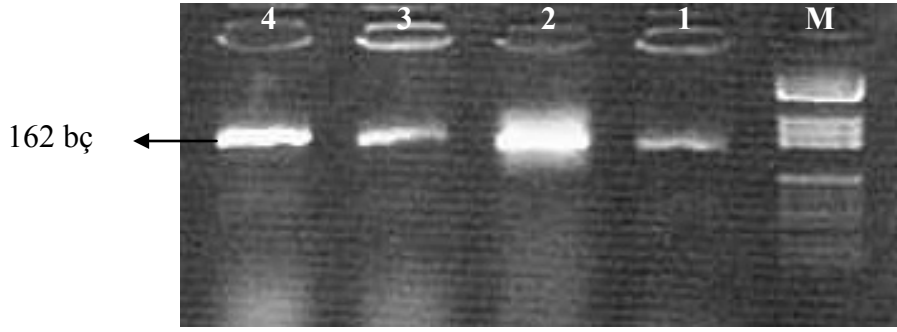
TAP2 geninde toplam 4 polimorfik bölge (TAP2-379, TAP2-565, TAP2-651 ve TAP2-665) PZR ile çoğaltılmış, PZR ürünleri agaroz jel elektroforezi ile ayrıştırılmış ve görüntülenmiştir. Şekil 4.3’de TAP2-379 polimorfik bölgesinin PZR ile çoğaltılması sonucunda elde edilen ürünler görülmektedir.



**Şekil 4.3.** TAP2-379 polimorfik bölgesinin PZR ile çoğaltılması sonrasında agaroz jel elektroforezi ile kontrol edilmesi

M : DNA belirleyici (pBR322 HaeIII kesim)  
1-9 : örneklere ait PZR ürünleri (212 bç)

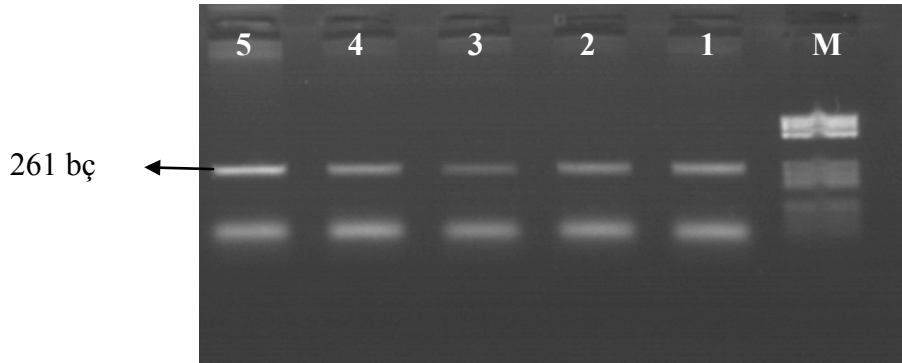
TAP2-565 polimorfik bölgesinin PZR ile çoğaltılması ile elde edilen ürünlerin agaroz jel elektroforezi sonrası görüntüsü Şekil 4.4’de verilmiştir.



**Şekil 4.4.** TAP2-565 polimorfik bölgesinin PZR ile çoğaltılması sonrasında agaroz jel elektroforezi ile kontrol edilmesi

M : DNA belirleyici (pBR322 HaeIII kesim)  
1-4 : Örneklere ait PZR ürünleri (162 bç)

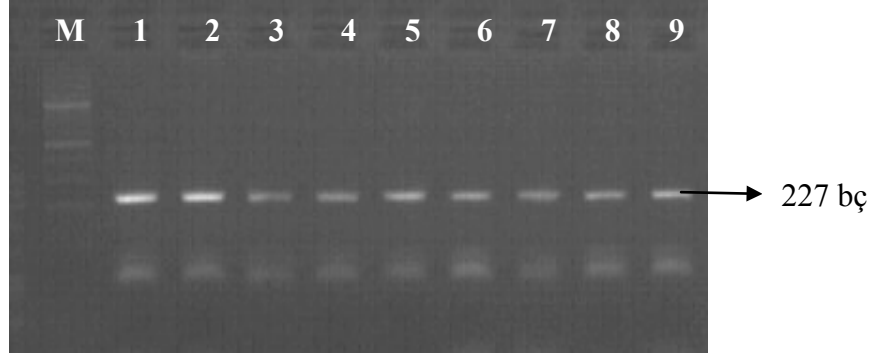
Şekil 4.5’de TAP2-651 polimorfik bölgesinin PZR ile çoğaltılması ile elde edilen ürünlerin agaroz jel elektroforezi sonrası görüntüsü verilmiştir.



**Şekil 4.5.** TAP2-651 polimorfik bölgesinin PZR ile çoğaltılması sonrasında agaroz jel elektroforezi ile kontrol edilmesi

M : DNA belirleyici (pBR322 HaeIII kesim)  
1-5 : Örneklere ait PZR ürünleri (261 bç)

TAP2-665 polimorfik bölgesinin PZR ile çoğaltılması ile elde edilen ürünlerin agaroz jel elektroforezi sonrası görüntüsü Şekil 4.6’da verilmiştir.

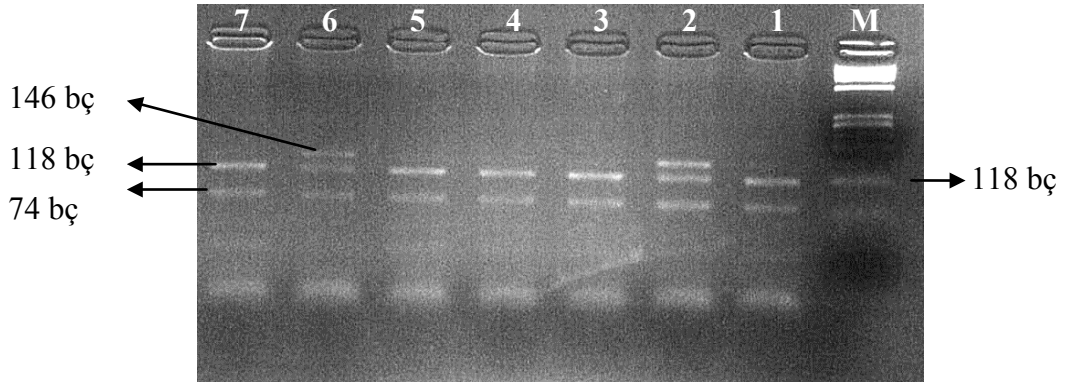


**Şekil 4.6.** TAP2-665 polimorfik bölgesinin PZR ile çoğaltılması sonrasında agaroz jel elektroforezi ile kontrol edilmesi

M : DNA belirleyici (100 bç'lik)  
1-9 : Örneklere ait PZR ürünleri (227 bç)

#### 4.3. TAP1 ve TAP2 Gen Polimorfizmlerinin RFLP Tekniği ile Analizi

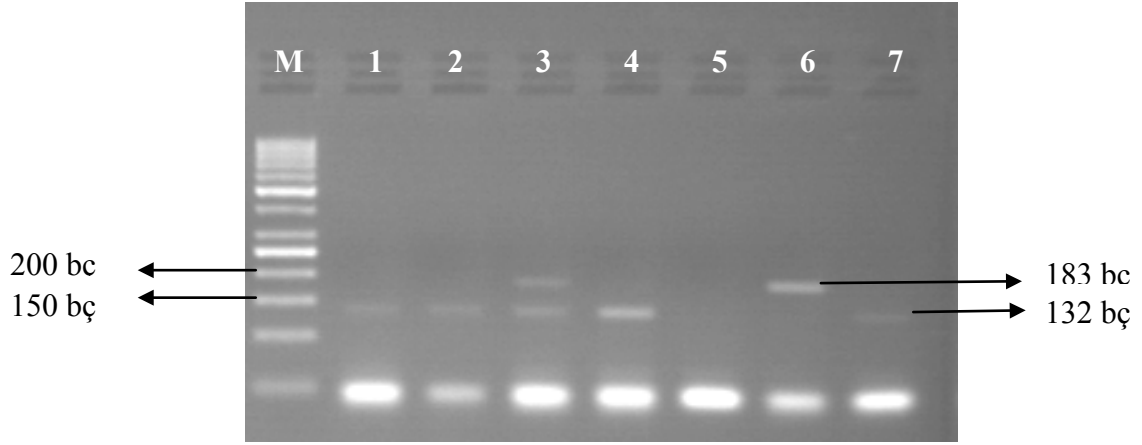
TAP1-333 polimorfizmi PZR ürünlerinin Sau3 A1 enzimi ile kesimi ile analiz edilebilmiştir (Şekil 4.7).



**Şekil 4.7.** TAP1-333 gen polimorfizminin Sau3 A1 enzim kesimi ile analizi

M : DNA belirleyici ( $\phi$ X174 HaeIII kesim)  
1,3,4,5,7 : Ile/Ile (118 bç, 74 bç, 28 bç, 15bç)  
2,6 : Ile/Val (146 bç, 118 bç, 74 bç, 28 bç, 15 bç)

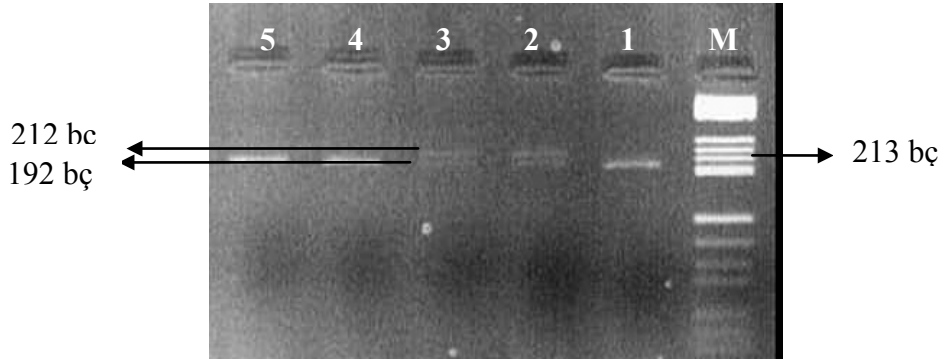
Şekil 4.8'de TAP1-637 polimorfik bölgesinin PZR sonrası AccI enzimi ile kesim sonucu verilmiştir.



**Şekil 4.8.** TAP1-637 gen polimorfizminin AccI enzim kesimi ile analizi

M : 50 bç'lik DNA belirleyici  
 1,2,4,7 : Asp/Asp (132 bç /132 bç)  
 3 : Asp/Gly (132 bç / 183 bç)  
 6 : Gly/Gly (183 bç /183 bç)

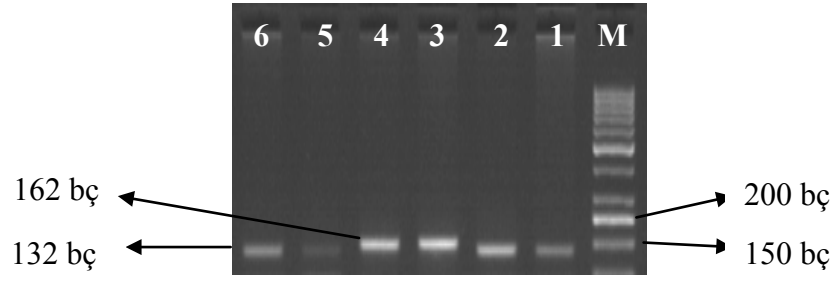
TAP2-379 polimorfizmi ise PZR ürünlerinin BstU1 enzimi ile kesimi sonucunda analiz edilebilmiştir (Şekil 4.9).



**Şekil 4.9.** TAP2-379 gen polimorfizminin BstU1 enzim kesimi ile analizi

M : DNA belirleyici (pBR322 HaeIII kesim)  
 1, 4, 5 : Val/Val (192 bç / 192 bç)  
 2, 3 : Ile/Val (212 bç / 192 bç)

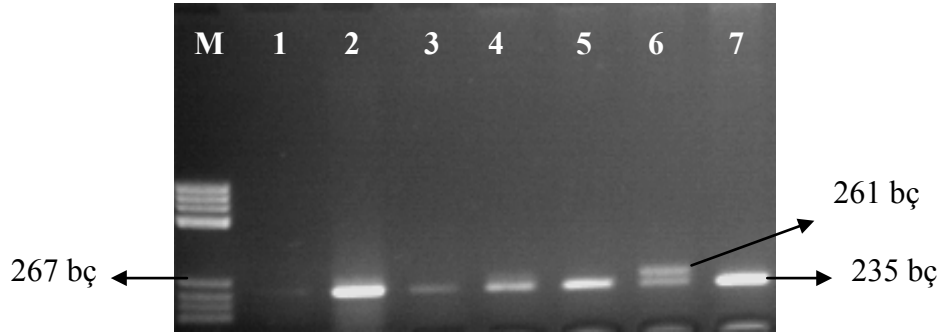
TAP2-565 gen polimorfizmi Sca1 enzim kesimi ile analiz edilebilmiştir (Şekil 4.10).



**Şekil 4.10.** TAP2-565 gen polimorfizminin Sca1 enzim kesimi ile analizi

M : 50 bç'lik DNA belirleyici  
1, 2, 5, 6 : Ala/Thr (162 bç / 132 bç)  
3, 4 : Ala/Ala (162 bç / 162 bç)

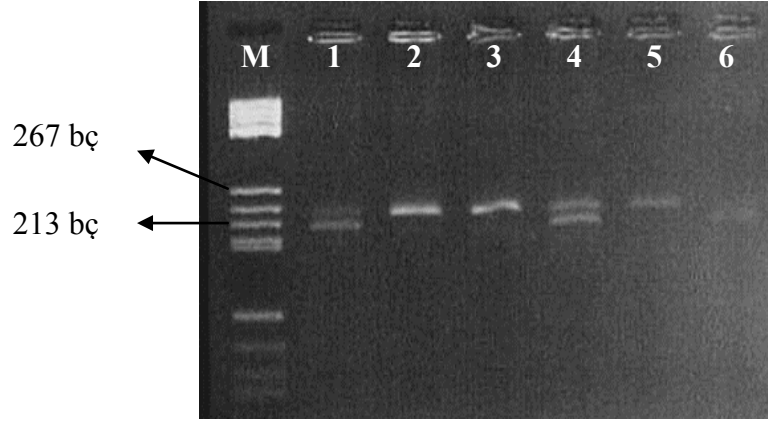
TAP2-651 gen polimorfizmi Sma1 enzim kesimi ile analiz edilebilmiştir (Şekil 4.11).



**Şekil 4.11.** TAP2-661 gen polimorfizminin Sma1 enzim kesimi ile analizi

M : DNA belirleyici (pBR322 HaeIII kesim)  
1,2,3,4,5,7 : Arg/Arg (235 bç / 235 bç)  
6 : Arg/Cys (235 bç / 261 bç)

İlgili polimorfik bölgenin PZR ile çoğaltılması sonrasında Msp1 enzimi ile kesimi sonucunda TAP2-665 polimorfizmi analiz edilmiştir (Şekil 4.12).



**Şekil 4.12.** TAP2-665 gen polimorfizminin Msp1 enzim kesimi ile analizi

M : DNA belirleyici (pBR322 HaeIII kesim)  
 1, 4 : Ala/Thr (227 bç/ 207 bç)  
 2, 3, 5 : Ala/Ala (227 bç/ 227 bç)  
 6 : Thr/Thr (207 bç/ 207 bç)

#### 4.4. TAP1 ve TAP2 Gen Polimorfizmlerinin Hastalıklarla İlişkisi

##### 4.4.1. KML hastalığı ve Polimorfizmler Arasındaki İlişki

Toplam 48 KML hastası çalışmaya dahil edilmiş, ancak KML hasta DNA'larının yetersizliği nedeni ile bazı polimorfizmlerde analiz edilebilen hasta sayısı daha az olabilmektedir. TAP2-379 polimorfizmi bu hasta grubunda hiç analiz edilememiştir. Tablo 4.1'de KML hastalarında ve kontrol grubunda TAP1 ve TAP2 polimorfizmlerinin genotip dağılımları verilmiştir.

TAP1-333 bölgesi için Ile allel frekansı kontrol grubunda 0.83 iken KML grubunda bu değer artış göstererek 0.88 olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte, Val allel frekansının KML hasta grubunda kontrol grubuna göre azaldığı gözlenmiştir. Ancak her iki grup arasında genotipler karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p > 0.05$ ). Analizler sonucunda elde edilen veriler göz önüne alındığında, KML ile TAP1-333 polimorfizmi arasında bir ilişkinin varlığından bahsetmek söz konusu değildir (Tablo 4.1).



**Tablo 4.1.** TAP1 ve TAP2 genotiplerinin kontrol grubunda ve KML hastalarında dağılımı

Genotip	Kontrol % (n=100)	KML % (n=48)	$\chi^2$	P
TAP1-333	(n=100)	(n=48)		
ILE/ILE	70	79	2.30	A.D.
ILE/VAL	26	19		
VAL/VAL	4	2		
ILE	0.83	0.88		
VAL	0.17	0.12		
TAP1-637	(n=100)	(n=38)		
ASP/ASP	64	58	2.58	A.D.
ASP/GLY	33	34		
GLY/GLY	3	8		
ASP	0.80	0.75		
GLY	0.20	0.25		
TAP2-565	(n=100)	(n=47)		
ALA/ALA	96	100	4.08	A.D.
ALA/THR	4	0		
THR/THR	0	0		
ALA	0.98	1.00		
THR	0.02	0.00		
TAP2-651	(n=100)	(n=20)		
ARG/ARG	84	65	<b>11.4</b>	0.003
ARG/CYS	15	35		
CYS/CYS	1	0		
ARG	0.91	0.82		
CYS	0.09	0.18		
TAP2-665	(n=100)	(n=30)		
ALA/ALA	68	27	<b>38.6</b>	0.000
THR/THR	31	57		
THR/ALA	1	16		
ALA	0.83	0.55		
THR	0.17	0.45		

A.D. :  $p > 0.05$  olduğu için istatistiksel olarak anlamlı değil

TAP1-637 polimorfizmi Acc1 enziminin verimsiz çalışması ve yetersizliği nedeniyle sadece KML hasta grubunda çalışılmış ve sonuçlar kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Kontrol grubu ile KML hasta grubu arasında genotip dağılımları ve allel frekanslarının karşılaştırılması sonucunda elde edilen  $\chi^2$  değeri 2.58 iken p değeri 0.275 olarak saptanmıştır. Kontrol grubunda Asp allel frekansı 0.80 iken KML grubunda bu değer 0.75 olarak bulunmuştur. Her iki grup arasında genotip dağılımları karşılaştırıldığında; Asp/Asp genotip dağılımının KML hastalarında kontrol grubuna göre daha az olduğu, Gly/Gly genotipinin frekansının artış gösterdiği belirlenmekle birlikte istatistiksel veriler göz önüne alındığında KML ile

TAP1-637 polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişkinin varlığı söz konusu değildir ( $p>0.05$ ).

TAP2-565 gen polimorfizmi için Ala allel frekansı kontrol grubunda 0.98 iken, KML grubunda 1.00 olarak hesaplanmıştır, zira KML hastalarının tamamında genotip Ala/Ala olarak tespit edilmiştir. Thr/Thr genotipi ise ne kontrol grubunda ne de hasta grubunda gözlenmemiştir. İstatistiksel analizler sonucunda elde edilen veriler KML ile TAP2-565 polimorfizmi arasında herhangi bir ilişkinin bulunmadığını göstermektedir ( $\chi^2=4.08$ ,  $p>0.05$ ).

TAP2-651 gen polimorfizminde kontrol grubu ile KML hasta grubu arasında allel dağılımlarına bakıldığında, kontrol grubunda Arg allelinin frekansı 0.91 iken, KML hastalarında bu allelin frekansı 0.82, Cys allel dağılımı ise kontrol grubunda 0.09 iken KML hastalarında artış göstererek 0.18 olarak bulunmuştur. Her iki grup arasındaki genotip dağılımlarına bakıldığında ise, kontrol grubunda % 84 olan Arg/Arg genotip frekansının KML hasta grubunda azalış göstererek % 65 oranına düştüğü gözlenmektedir. Fakat buna karşılık Arg/Cys genotipinin KML hastaları arasında sağlıklı bireylere göre daha fazla dağılıma sahip olduğu belirlenmiştir. Cys/Cys genotipi kontrol grubunda en az gözlenen genotip olmakla birlikte KML hasta grubunda bu genotipe hiç rastlanmamıştır. Yapılan analizler sonucunda elde edilen veriler KML hastalığı ile TAP2-651 polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki olabileceği söylenebilir ( $\chi^2=11.4$ ,  $p=0.003$ ). Ancak TAP2-651 polimorfizmi için çalışılan hasta sayısı az olduğundan ilişki olup olmadığı konusunda net ve güvenilir bir sonuç elde edilebilmesi için hasta sayısının artırılıp çalışılması daha doğru olacaktır.

TAP2-665 gen polimorfizmi için kontrol grubunda Ala allelinin frekansı 0.83 ve Thr allelinin frekansı 0.17 iken, KML hastalarında Ala allelin frekansı 0.55, Thr allel dağılımı ise 0.45 olarak bulunmuştur. Her iki gruptaki genotip dağılımları incelendiğinde, Arg/Arg genotip frekansının kontrol grubunda % 68 oranında yüksek bir dağılıma sahip olmasına rağmen KML hasta grubunda bu oranın azalış göstererek % 27'ye düştüğü gözlenmektedir. Fakat buna karşılık Ala/Thr genotipinin KML hastaları arasında sağlıklı bireylere göre daha fazla dağılıma sahip olduğu belirlenmiştir. Thr/Thr genotipi ise kontrol grubunda %1 oranında gözlemlenirken

hastalarda %16 oranında gözlenmektedir. Sonuç olarak, KML hastalığı ile TAP2-665 Ala/Thr ve Thr/Thr genotipleri arasında anlamlı bir ilişki olduğu düşünülebilir ( $\chi^2=38.6$ ,  $p=0.000$ ).

#### **4.4.2. KLL hastalığı ve Polimorfizmler Arasındaki İlişki**

Çalışmaya toplam 26 KLL hastası dahil edilmiş, ancak bazı polimorfizmler için analiz edilen örnek sayısı daha az olabilmektedir. Tablo 4.2' de kontrol grubunda ve KLL hastalarında TAP1 ve TAP2 polimorfizmlerinin genotip dağılımları verilmiştir.

KLL hastalığının gelişiminde TAP1 gen polimorfizmlerinin rolünün belirlenmesi amacıyla yalnızca TAP1-333 çalışılabilmektedir, TAP1-637 gen polimorfizmi ise gerekli restriksiyon enziminin yetersizliği ve verimsizliği nedeniyle çalışılamamıştır. TAP1-333 bölgesi için Ile allel frekansı kontrol grubunda 0.83 iken KLL grubunda bu değer 0.95 olarak bulunmuştur. Her iki grup arasında allel frekansları karşılaştırıldığında, Ile allel frekansının KLL hasta grubunda kontrol grubuna ve KML hasta grubuna göre daha yüksek (0.95) olduğu gözlenmiştir. Genotip dağılımlarına bakıldığında ise Ile/Ile genotipinin kontrol grubuna göre KLL hasta grubunda daha fazla gözlendiği ancak Val/Val genotipinin KLL grubunda hiç gözlenmediği belirlenmiştir. Sonuçlar göz önüne alındığı zaman KLL ile TAP1-333 polimorfizmi arasında bir ilişki olabileceği düşünülebilir ( $\chi^2 =13.6$ ,  $p=0.001$ ).

TAP2-379 gen polimorfizminde Val alleli KLL hastalarında kontrol grubuna göre daha fazla gözlenmiş, buna karşılık kontrol grubunda 0.45 olan Ile allel frekansının ise KLL grubunda 0.30 olduğu saptanmıştır. Genotip dağılımlarına bakıldığında ise, üç genotipten sadece Val/Val genotipinin dağılımının KLL hastalarında sağlıklı bireylere göre artış gösterdiği fakat diğerlerinin dağılımının azaldığı dikkati çekmektedir. İstatistiksel analizler sonucunda TAP2-379 polimorfizminin KLL gelişiminde etkili olabileceği sonucuna ulaşılabilir ( $\chi^2=17.2$ ,  $p=0.000$ ).

TAP2-565 polimorfik bölgesinde Ala allelinin frekansı kontrol grubunda 0.98 iken, KLL hastalarında bu allel daha az gözlenmiştir (0.92). Genotip dağılımlarına bakıldığında, Ala/Ala genotipinin kontrol ve KML hasta grubuna göre KLL hastalarında azalmış olduğu görülmektedir. Ancak Ala/Thr genotipinin KLL hastalarında KML hastalarına ve kontrol grubuna göre daha fazla bir dağılıma sahip

olduğu gözlenmektedir. KLL hastalarında heterozigotlar artarken homozigotların ise azaldığı gözlenmiştir. Elde edilen veriler TAP2-565 polimorfizminin KLL gelişimi ile ilişkili olabileceği sonucunu doğurmaktadır ( $\chi^2=8.99$ ,  $p<0.05$ ).

**Tablo 4.2.** TAP1 ve TAP2 genotiplerinin kontrol grubunda ve KLL hastalarında dağılımı

Genotip	Kontrol %	KLL %	$\chi^2$	P
TAP1-333	(n=100)	(n=21)	<b>13.6</b>	0.001
ILE/ILE	70	90		
ILE/VAL	26	10		
VAL/VAL	4	0		
ILE	0.83	0.95		
VAL	0.17	0.05		
TAP2-379	(n=100)	(n=23)	<b>17.2</b>	0.000
ILE/ILE	17	44		
ILE/VAL	77	52		
VAL/VAL	6	4		
ILE	0.55	0.70		
VAL	0.45	0.30		
TAP2-565	(n=100)	(n=24)	8.99	A.D.
ALA/ALA	96	83		
ALA/THR	4	17		
THR/THR	0	0		
ALA	0.98	0.92		
THR	0.02	0.08		
TAP2-651	(n=100)	(n=23)	1.13	A.D.
ARG/ARG	84	83		
ARG/CYS	15	17		
CYS/CYS	1	0		
ARG	0.91	0.91		
CYS	0.09	0.09		
TAP2-665	(n=100)	(n=26)	<b>18.17</b>	0.000
ALA/ALA	68	58		
THR/THR	31	23		
THR/ALA	1	19		
ALA	0.83	0.69		
THR	0.17	0.31		

A.D. :  $p>0.05$  olduğu için istatistiksel olarak anlamlı değil

TAP2-651 gen polimorfik bölgesi için allel frekansları hesaplandığında kontrol grubu ile KLL hasta grubunda aynı olduğu gözlenmiştir. Benzer şekilde, genotip dağılımlarının da KLL hastaları ve kontrol grubunun bireyleri arasında farklılık göstermediği belirlenmiştir. Genotip frekansları hesaplanıp iki grup arasında kıyaslandığı zaman istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ( $\chi^2 = 1.13$ ,  $p = 0.568$ ). Sonuç olarak KLL hastalığı ile TAP2-651 polimorfizmi arasında bir ilişki

saptanamamıştır. Ayrıca KLL hastaları ile KML hastaları arasında genotip dağılımları karşılaştırıldığında Arg/Arg genotipinin KLL hastalarında KML hastalarına göre daha fazla bir dağılıma sahip olduğu ancak buna karşılık KLL hastalarında ise Arg/Cys genotipinin daha az bir dağılım gösterdiği belirlenmiştir.

TAP2-665 gen polimorfizminde Ala allelinin frekansı kontrol grubunda 0.83 iken KLL hastalarında 0.69'dur. Genotip dağılımlarının her iki grup arasında kıyaslanması sonucunda ise, KLL hastalarında Ala/Ala ve Ala/Thr genotipindeki azalmaya karşın, Thr/Thr genotipindeki artış göze çarpmaktadır. Thr/Thr genotipinin KLL hastalarında artış gösteriyor olması bu genotipin hastalık gelişimi ile ilişkili olabileceğini göstermektedir ( $\chi^2=18.17$ ,  $p=0.000$ ).

#### **4.4.3. MM Hastalığı ve Polimorfizmler Arasındaki İlişki**

TAP1 gen polimorfizmlerinden sadece TAP1-333 gen polimorfizmi MM hastalığında çalışılabilmiştir. KML ve KLL hasta gruplarında kontrol grubuna göre daha yüksek olan Ile allel frekansının MM hasta grubunda azaldığı belirlenmiştir (0.60). Genotip dağılımlarının kontrol ile MM arasında kıyaslanması durumunda ise Ile/Ile genotipinin kontrol grubunda en yaygın genotip olmasına rağmen MM grubunda Ile/Val genotipi en yaygın genotip olarak gözlenmiştir. Yapılan analizler her iki grup arasında anlamlı bir fark olduğunu ve bu nedenle TAP1-333 Val allelinin ve Ile/Val ile Val/Val genotiplerinin MM gelişiminde etkili olabileceğini göstermektedir ( $\chi^2 = 29.1$ ,  $p=0.000$ ).

MM hasta grubu ile diğer hasta gruplarının allel ve genotip dağılımları kıyaslanması durumunda, MM hastalarında KML, KLL ve kontrol grubuna göre bazı farklılıkların olduğu belirlenmiştir. Ile/Val ve Val/Val genotiplerinin ve Val allelinin KML, KLL ve kontrol grubuna göre MM hastalarında daha fazla bir dağılıma sahip olduğu gözlenmektedir (Tablo 4.3).

MM hastalarında kontrol grubuna göre Val allel frekansının arttığı ve dolayısıyla Ile allel frekansının azaldığı gözlenmiştir. Genotip dağılımları incelendiğinde, MM hastalarında heterozigot genotip oranının azaldığı buna karşılık homozigotların artış gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır. Bu sonuç TAP2-379 Val/Val genotipinin MM gelişiminde önemli bir role sahip olabileceğini göstermektedir ( $\chi^2=14.4$ ,  $p=0.001$ ).

**Tablo 4.3.** TAP1 ve TAP2 genotiplerinin kontrol grubunda ve MM hastalarında dağılımı

Genotip	Kontrol % (n=100)	MM % (n=25)	$\chi^2$	P
TAP1-333	(n=100)	(n=25)		
ILE/ILE	70	32		
ILE/VAL	26	56		
VAL/VAL	4	12	<b>29.1</b>	0.000
ILE	0.83	0.60		
VAL	0.17	0.40		
TAP2-379	(n=100)	(n=25)		
ILE/ILE	17	40		
ILE/VAL	77	52		
VAL/VAL	6	8	<b>14.4</b>	0.001
ILE	0.55	0.66		
VAL	0.45	0.34		
TAP2-565	(n=100)	(n=25)		
ALA/ALA	96	100		
ALA/THR	4	0		
THR/THR	0	0	4.08	A.D.
ALA	0.98	1.00		
THR	0.02	0.00		
TAP2-651	(n=100)	(n=25)		
ARG/ARG	84	76		
ARG/CYS	15	24		
CYS/CYS	1	0	3.47	A.D.
ARG	0.91	0.88		
CYS	0.09	0.12		
TAP2-665	(n=100)	(n=24)		
ALA/ALA	68	50		
THR/THR	31	38		
THR/ALA	1	12	<b>12.8</b>	0.002
ALA	0.83	0.69		
THR	0.17	0.31		

A.D. :  $p > 0.05$  olduğu için istatistiksel olarak anlamlı değil

TAP2-565 gen polimorfizmi için Ala allelinin frekansı MM hasta grubunda 1.00 olarak tespit edilmiş yani Thr alleleline hiç rastlanmamıştır. Kontrol grubu ile MM hasta grubu arasında genotip dağılımlarının incelenmesi sonucunda kontrol grubunda %96 oranında Ala/Ala ve az da olsa Ala/Thr genotipinin dağılım gösterdiği ancak MM hasta grubunda sadece Ala/Ala genotipinin var olduğu gözlenmiştir. Thr/Thr genotip dağılımı ise her iki grupta da gözlenmemektedir. Ki-kare analizi sonucunda gruplar arasında istatistiksel bir fark gözlenmemiş olup MM hastalığının gelişiminde TAP2-565 gen polimorfizminin ilişkili olmadığı belirlenmiştir ( $\chi^2=4.08$  ve  $p > 0.05$ ).

TAP2-565 gen bölgesinde hem kontrol grubunda hem de hasta gruplarında en yaygın olarak gözlenen allelin Ala olduğu tespit edilmiştir. KML, KLL ve MM hasta grubunda çalışılan TAP2-565 polimorfizmi KML hastalığının gelişimi ile ilişkili bulunurken, KLL ve MM hastalıklarının gelişimi ile ilişkili bulunamamıştır.

TAP2-651 gen polimorfizminde Arg allelinin frekansı kontrol grubunda 0.91 iken, MM hastalarında 0.88 olarak hesaplanmıştır. Her iki grupta genotip dağılımları incelendiğinde, kontrol grubunda % 84 olan Arg/Arg genotip frekansının MM hasta grubunda azalarak %65'e düştüğü gözlenmektedir. Fakat buna karşılık Arg/Cys genotipinin KML hastaları arasında sağlıklı bireylere göre daha fazla olduğu belirlenmiştir. Cys/Cys genotipine ise MM hastalarında hiç rastlanmamaktadır. Elde edilen veriler sonucunda TAP2-651 ile MM gelişimi arasında anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir ( $\chi^2 = 3.47$ ,  $p = 0.176$ ).

TAP2-651 gen bölgesinde her üç hasta grubunda ve kontrol grubunda en yaygın dağılıma sahip allelin Arg ve en yaygın genotipin Arg/Arg olduğu belirlenmiştir. KML, KLL ve MM hasta grubunda çalışılan TAP2-651 polimorfizmi KML hastalığının gelişimi ile ilişkili bulunurken, KLL ve MM hastalıklarının gelişimi ile ilişkili bulunamamıştır.

TAP2-665 gen polimorfizmi için Ala allelinin frekansı kontrol grubunda 0.83, MM hastalarında ise 0.69 bulunmuştur. Ala/Thr ve Thr/Thr genotipleri MM hastalarında kontrol grubuna göre daha fazla gözlenmiştir. Elde edilen veriler TAP2-665 polimorfizminin MM hastalığı ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir ( $\chi^2=12.8$ ,  $p=0.002$ ).

Çalışmaya dahil edilen tüm gruplarda Hardy-Weinberg dengesi test edilmiş ve tüm grupların analiz edilen polimorfizmler açısından dengede olduğu ancak kontrol grubunun TAP2-565 polimorfizmi açısından dengeden sapma gösterdiği tespit edilmiştir ( $\chi^2=9.6464$ ,  $p<0.05$ ). TAP2-565 kontrol grubunda genotiplerin dağılımı kıyaslandığında ise; Ala/Thr genotipi beklenenden daha fazla, Thr/Thr genotipi ise beklenenden az gözlenmiştir.

TAP1 ve TAP2 gen polimorfizmlerinin KML, KLL ve MM kanserleri ile ilişkisinin araştırıldığı bu çalışmada elde edilen sonuçlar Tablo 4.4' de özetlenmiştir. Çalışma

sonuçları KML, KLL ve MM hastalıklarının her üçünün de gelişiminde TAP2-665 polimorfizminin etkili olabileceğini göstermektedir.

KML hastalığının gelişiminde TAP1 gen polimorfizmlerinin bir etken olmadığı ancak TAP2 gen polimorfizminin etken olabileceği sonucuna ulaşılmıştır. KLL ve MM hastalıklarının gelişiminde TAP1 ve TAP2 gen polimorfizmlerinden her ikisinin de etkili olabileceği saptanmıştır.

**Tablo 4.4.** Çalışılan hastalıklarda TAP1 ve TAP2 gen polimorfizmi ilişkisi

<b>Polimorfizm</b>	<b>KML</b>	<b>KLL</b>	<b>MM</b>
TAP1-333	-	+	+
TAP1-637	-	E	E
TAP2-379	E	+	+
TAP2-565	-	+	-
TAP2-651	+	-	-
TAP2-665	+	+	+

+ : hastalık ve polimorfizm ilişkili bulunmuştur.

- : hastalık ve polimorfizm ilişkili bulunmamıştır.

E : eksik, çalışma yapılamamıştır.

TAP1 ve/veya TAP2 genlerindeki polimorfizmlerin birçok hastalığın oluşumunda ve gelişim mekanizmalarında etkin bir faktör olarak rol oynadığı önceki çalışmalarda da gösterilmiştir. Atopik dermatit, Romatoid artrit, Felty's sendromu, Sjörger's sendromu, kistik fibrozis, sedef hastalığı, vitiligo, Alzheimer ve şizofreni hastalıkları bunlar arasında yer almaktadır.

Birçok hastalığın yanı sıra TAP1 ve/veya TAP2 genlerindeki polimorfizmlerin çeşitli kanser türlerinin oluşum ve gelişim mekanizmasında da etkin bir faktör olarak rol oynadığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Tümör hücrelerinde, TAP genlerinin baskılanması/susturulması immün cevaptan kaçış için bir mekanizmadır. Bu nedenle bu genlerde meydana gelen bozukluklar tümörogenezi kolaylaştırabilir. TAP genlerinde meydana gelen bir mutasyon ve/veya polimorfizm immün cevabı



etkilediği için bu durum çeşitli otoimmün hastalıkların ve kanser çeşitlerinin gelişimine etki edebileceği düşünülebilir.

Servikal kanserlerin yarısından fazlasında ve melanomalarda TAP ve tapasin genlerinin kayıpları görülmektedir. Buna karşılık renal karsinoma lezyonlarının çoğunda TAP gen bölgesinin aşağı düzenleyicisi ve tapasinin ekspresyonu bulunmasına rağmen TAP gen defektleri yaygın değildir (McCluskey vd., 2004). İnsan lenfoblastoitlerinde ve tümör hücrelerinde TAP genlerinde meydana gelen polimorfizmlerin peptitlerin substrat spesifitesini etkilediği bildirilmiştir (Quadri ve Singal, 1998). Mehta vd., (2007) servikal kanser hastaları ile sağlıklı bireyler arasında allel dağılımlarını kıyasladıklarında LMP7-145, TAP1-651, ERAP1-127 ve ERAP1-730 lokusları ile servikal kanser riski arasında anlamlı bir ilişki olduğu sonucuna varmışlardır. Kuzey Çin'de insan papilloma virüs (HPV) enfeksiyonuna bağlı olarak görülme sıklığı artan özofagal karsinoma ile LMP7-145 ve TAP2-379 polimorfizmleri arasında anlamlı bir şekilde ilişki bulunmuştur (Cao vd., 2005).

Antijen işlenmesinde ve sunumunda önemli rollere sahip olan TAP genlerinin ifadesinin kanser hücrelerinde azaldığı veya TAP gen kayıplarının olduğu gözlenmektedir. Tümörlü hücrelerde görülen bu durum antijen sunumunu ve proteinin ifadesini etkilemektedir. Ancak kanser hücresele seviyede multifaktöryel bir hastalık olduğu için, gen ve genlerin varyasyonları kanser gelişimine neden olabileceği gibi çeşitli pek çok faktörün birlikte etkileşimi de kansere yol açabilmektedir. Bu nedenle TAP genlerinde görülen bir mutasyonun ve/veya polimorfizmin hastalık gelişimine hangi mekanizma ile neden olduğunu anlayabilmek için daha kapsamlı çalışmalara gereksinim vardır.

## BÖLÜM 5

### SONUÇ VE ÖNERİLER

TAP1 ve TAP2 genlerindeki genetik polimorfizmlerin KML, KLL ve MM olmak üzere çeşitli hematolojik kanserlerin gelişimindeki etkisini belirlenmeyi amaçlayan bu tez çalışmasından elde edilen veriler şu şekilde özetlenebilir;

- TAP1 gen polimorfizmlerinin KML hastalığının gelişimi üzerine herhangi bir etkisi tespit edilememiştir.
- TAP2 gen polimorfizmlerinden TAP2-651 ve TAP2-665'in KML hastalığının gelişimi ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir.
- KLL hastalığı ile ilişkili polimorfizmlere bakıldığında TAP1-333, TAP2-379, TAP2-565 ve TAP2-665 polimorfizmleri dikkati çekmektedir. Her iki genin de KLL gelişiminde etken olabileceği düşünülmektedir.
- TAP1-333, TAP2-379 ve TAP2-665 ise MM hastalığında genotip dağılımları anlamlı şekilde değişen polimorfizmlerdir. Dolayısıyla her iki gen de MM gelişimine etki ettiği düşünülmektedir.
- TAP2-665 ve TAP2-379 polimorfizmleri çalışılan tüm hasta gruplarında kontrol grubuna göre farklı genotip dağılımı gösterdiği için hastalık gelişimi ile ilişkili olduğu düşünülebilir.

Bu tez çalışmasında, hasta sayılarının az olması ve tüm polimorfizmlerin bütün hastalıklarda çalışılmaması bir eksiklik olarak kabul edilmektedir, ancak çalışmadan elde edilen veriler daha sonra yapılacak kapsamlı çalışmalara yön verebilecek niteliktedir. Toplumlarda önemli sağlık sorunlarından biri olan ve insanların yaşam kalitesini ciddi ölçüde etkileyen hematolojik kanserlerin gelişimine katkı sağlayan veya hastalığa yatkınlık nedeni olan moleküler faktörlerin tanımlanması ve bunun sonucunda hastalığın erken tanısı ve tedavisi açısından daha geniş kapsamlı çalışmalara gereksinim vardır.

## KAYNAKLAR

- Akçam F.Z. (2005). HLA System: Review: Türkiye Klinikleri, *Turkish Journal of Medical Science*, **25**, 829-834.
- Alaminos M., Davalos V., Cheung NK., Gerald WL., Esteller M. (2004). Clustering of gene hypermethylation associated with clinical risk groups in neuroblastoma. *Journal Natural Cancer Instruction*, **96**, 1208-19.
- Altuntaş F., Kaynar L., Eser B., Sarı İ., Kaptan B., Özkan M., Çetin M., Ünal A. (2004). Multipl Myeloma Tedavisinde Üç Farklı Konvansiyonel Kemoterapi Protokolünün Karşılaştırılması. *Türk Onkoloji Dergisi*, **19**, 9-14.
- Aquino-Galvez A., Camarana A., Montano M., Jaurez A., Zamora A.C., Gonzalez-Avila G., Checa M., Granados J., Pardo A., Selman M. (2008). Transporter associated with antigen processing (TAP) 1 gene polymorphisms in patients hypersensitivity pneumonitis. *Experimental and Molecular Pathology*, **84**, 173-177.
- Avcu F., Ural A. (2007). Kronik Lenfositik Lösemi. *Hematoloji Onkoloji Dergisi*, **3(2)**, 50-5.
- Baran Y., Gündüz U. (2007). Kronik Myelositer Lösemi Genetiği. *Hematoloji Onkoloji Dergisi*, **3(2)**, 50-5.
- Beksac M, (2004). HLA ve Doku Tiplendirilmesi Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları, Hematoloji Bilim Dalı. 42-49.
- Bravo M.J., Colmenero J.D., Queipo-Ortuno M.I., Martin J., Lavado R., Alonso A., Caballero A. (2010). No association of TAP and LMP genetic polymorphism in human brucellosis and its complications. *Human Immunology*, **10**, 1016-1019.

- Bullido M.J., Martinez-Garcia A., Artiga M.J., Aldudo J., Sastre I., Gil P., Coria F., Munoz D.G., Hachinski V., Frank A., Valdivieso F. (2007). A TAP2 genotype associated with Alzheimer's disease in APOE4 carriers. *Neurobiology of Aging*, **28**, 519-523.
- Cao B., Tian X., Li Y., Jiang P., Ning T., Xing H., Zhao Y., Zhang C., Shi X., Chen D., Shen Y., Ke Y. (2005). LMP7/TAP2 gene polymorphisms and HPV infection in Esophageal Carcinoma patients from a high incidence area in China. *Carcinogenesis*, **26**, 1280-1284.
- Casp CB, She JX, McCormack WT. (2003). Genes of the LMP/TAP Cluster are Associated with the Human Autoimmune Disease Vitiligo. *Genes&Immunity*, **4**, 492-9.
- Cromme F.V., Airey J., Heemels M.T., Ploegh H.L., Keating P.J., Stern P.L., Meijer C., Walboomers M. (1994). Loss of transporter protein, encoded by the TAP-1 gene, is highly correlate with loss of HLA expression in Cervical Carsinomas. *Journal Experimental Medicine*, **179**, 335-340.
- Çankaya E. (2009). Akut lenfositler lösemi ve akut myelositer lösemili hastalarda adiponektin, insülin benzeri büyüme faktörü I, insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-3 düzeylerinin değerlendirilmesi. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı (Uzmanlık Tezi).
- Çarin, M.N.(2004). Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji Anabilim Dalı V. Çukurova Anestezi Günleri(ÇAG). Transplantasyon ve İmmün Yanıt.
- Dalva K. (2004). Her yerde karşımda: Nedir bu HLA tiplendirimi. XXXI. Ulusal Hematoloji Kongresi, IV. Hematoloji İlk Basamak Kursu. 42-52.
- Davis EJ., Dann RP., Hillarby MC., Grennan DM., Ollier WER. (1994). Polymorphisms of the TAP2 transporter genes in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.*, **46**, 213-6.
- Dilsiz N. (2004). *Moleküler Biyoloji*. Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Agaroz Jel Elektroforezi, Palme Yayınevi, s.46.

- Doğru D., Gerçeker F.Ö., Yalçın E., obanoğlu N., Pekcan S., Özçelik U., Kiper N., Özgüç M. (2007). The role of TAP1 and TAP2 gene polymorphism in Idiopathic Bronchiectasis in children. *Pediatric Pulmonology*, **42**, 237-241.
- Eiermann TH., Bettens F., Tiberghien P., Schmitz K., Beurton I., Bresson-Hadni S., Ammann RW., Goldmann SF., Vuitton DA., Gottstein B. (1998). HLA and alveolar echinococcosis. *Tissue Antigens*, **52**, 124.
- Einstein M.H., Leanza S., Chiu L.G., Schlecht N.F., Goldberg G.L., Steinberg B.M., Burk R.D. (2009). Genetic variants in TAP are associated with High-Grade Cervical Neoplasia. *Clinic Cancer Research*, **15(3)**, 1019-1023.
- Erken E. (2008). Miyeloproliferatif Hastalıklarda JAK2 Mutasyonu ve Klinik Bulgular. ukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı (Uzmanlık Tezi).
- Faucz F.R., Probst C.M. & Petzl-Erler M.L. (2000). Polymorphism of LMP2, TAP1, LMP7 and TAP2 in Brazilian Amerindians and Caucasoids: implications for the evolution of allelic and haplotypic diversity. *European Journal of Immunogenetics*, **27**, 5–16.
- Fellerhoff B., Wank R. (2008). Transporter associated with antigen processing and the chaperone tapasin: Are non-classical HLA genes keys to the pathogenesis of schizophrenia? *Medical Hypotheses*, **72**, 535-538.
- Feng ML., Yin B., Shen T., Huang H., Zheng JW., Qian KC., Liu DZ. (2008). Determination of TAP1 and TAP2 polymorphism in the Chinese Han population by real-time Taq-man polymerase chain reaction. *Tissue Antigens*, **72**, 441-7.
- Feng ML., Yin B., Shen T., Ma Q., Lidong L., Zheng JW., Zhao Y., Qian KC., Liu DZ. (2009). TAP1 and TAP2 polymorphisms associated with ankylosing spondylitis in genetically homogenous Chinese Han population. *Human Immunology*, **70**, 257-261.
- Foley P.J., Lympany P.A., Puscinska E., Zielinski J., Welsh K.I. and Roland Bois

- R.B. (1999). Analysis of MHC encoded antigen-processing genes TAP1 and TAP2 polymorphisms in Sarcoidosis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.*, **160**, 1009-1014.
- Fraile A., Collado M.D., Matarán L., Martín J., Nieto A. (2000). TAP1 and TAP2 polymorphism in spanish patients with Ankylosing Spondylitis. *Experimental and Clinical Immunogenetics.*, **17**, 199-204.
- Gedik Ş., Gür S., Yılmaz G., Akova Y. (2005). Multipl Myelom, Hiperviskozite Sendromu ve Santral Retinal Ven Tıkanıklığı İlişkisi. *Ret-Vit.* **13**, 147-151.
- Gerçeker F.Ö., M. Özgüç. (2003). Frequencies of TAP1 and TAP2 gene polymorphisms in the Anatolian Population. *European Journal of Immunogenetics*, **30**, 97-99.
- Gerçeker F.Ö., Özçelik U., Kiper N., Anadol D., Göçmen A., Yılmaz E., Yurter H.E., Özgüç M. (2002). Analysis of the modifying effects of TAP1/2 genes on Cystic Fibrosis phenotype. *The Turkish Journal of Pediatrics*, **44**, 91-9.
- Gonzales-Escribano M., Morales J., Garcia-Lozano J.R., Castillo M.J., Sanchez-Roman J., Nunez-Roldn A., Sannchez B. (1995). TAP polymorphism in patients with Behçet's disease. *Annals of the Rheumatic Disease*, **54**, 386-388.
- Hillarby M.C., Davies E.J., Donn R.P., Grennan D.M., Ollier W.E. (1996). TAP2D is associated with HLA-B44 and may contribute to rheumatoid arthritis and Felty's syndrome susceptibility. *Clinic Experimental Rheumatology*, **14(1)**, 67-70.
- Ismail A., Bousaffara R., Kaziz J., Zilli J., Kamel A., Sfar T., Remadi S., Chouchane L. (1997). Polymorphism in transporter antigen peptides gene (TAP1) associated with atopy in Tunisians. *J. Allergy Clin. Immunology*, **99**, 216-23.
- Kaslow RA., Carrington M., Apple R., Park L., Munoz A., Saah AJ., Goedert JJ., Winkler C., O'Brien SJ., Rinaldo C., Detels R., Blattner W., Phair J., Erlich H., Mann DL. (1996). Influence of combinations of human major

- histocompatibility complex genes on the course of HIV-1 infection. *Natural Medicine*, **2**, 405-411.
- Kim R.K., Hyun Cho S., Joo Choi S., Hyeok Jeong J., Hwan Lee S., Won Park C., Tae K. (2007). TAP1 and TAP2 gene polymorphisms in Korean patients with Allergic Rhinitis. *Journal of Korean Medicine Science*, **22**, 825-831.
- Kiper N., Gerçeker F., Utine E., Yalçın E., Pekcan S., Çobanoğlu N., Aslan A., Köse M., Doğru D., Çelik U., Özgüç M. (2010). TAP1 and TAP2 gene polymorphisms in childhood cystic echinococcosis. *Parasitology International*, **59**, 283-285.
- Klug W.S., Cummings M.R. (2003). *Genetik Kavramlar* (Öner C.) Polimeraz Zincir Reaksiyonu, 515-519.
- Koca E., Haznedaroğlu İ. (2007). Kronik Miyelositer Lösemi. *Hematoloji Onkoloji Dergisi*, **3(2)**, 50-5.
- Kumagai S., Kanagawa S., Morinobu A., Takada M., Nakamura K., Sugai S., Maruya E., Saji H. (1997). Association of a new allele of the TAP2 gene, TAP2\*Bky2 (Val577), with susceptibility to Sjögren's syndrome. *Arthritis Rhum*, **40(9)**, 1685-92.
- Kuwata S., Yanagisawa M., Saeki H., Nakagawa H., Etoh T., Takunaga K., Juji T., Shibata Y. (1995). Lack of primary association between transporter associated with antigen processing genes and atopic dermatitis. *Allergy and Clinical Immunology*, **96**, 1051-1010.
- Kuzushita N., Hayashi N., Kanto T., Takehara T., Tatsumi T., Katayama K., Ohkawa K., Ito A., Kasahara A., Moribe T., Sasaki Y. and Hori M. (1999). Involvement of transporter associated with antigen processing 2 (TAP2) gene polymorphisms in hepatitis C Virus infection. *Gastroenterology*, **116**, 1149-1154.
- Lajoie J., S. Zijenah L., Faucher M., Ward B., Roger M. (2003a). Novel TAP1 Polymorphisms in Indigenous Zimbabweans: Their Potential Implications on

TAP Function and in Human Diseases. *Human Immunology*, **64**, 823-829.

Lajoie J., S. Zijenah L., Faucher M., Ward B., Roger M. (2003b). New Transporter Associated with Antigen Processing (TAP-2) Polymorphisms in the Shona People of Zimbabwe. *Human Immunology*, **64**, 733-740.

Layouni S., Buresi C., Thomas P., Malafosse A., Dogui M. (2010a). BRD2 and TAP1 genes and juvenile myoclonic epilepsy. *Neurological Science*, **31**, 53-56.

Layouni S., Chouchane L., Malafosse A., Dogui M. (2010b). Dimorphism of TAP1 gene in Caucasian with juvenile myoclonic epilepsy and in Tunisian with idiopathic generalized epilepsies. *International Journal of Immunogenetics*, **37**, 117-123.

Lee H.J., Ha S. J., Han H. and Kim J. W. (2001). Distribution of HLA-A, B alleles and polymorphisms of TAP and LMP genes in Korean patients with Atopic Dermatitis. *Clinical and Experimental Allergy*, **31**, 1867-1874.

Liang X., Caporaso N., McMaster M.L., Ng D., Landgren O., Yeager M., Chanock S., Goldin L.R. (2009). Common genetic variants in candidate genes and risk of familial lymphoid malignancies. *British Journal of Haematology*, **146**, 418-423.

McClusley J., Rossjohn J., W Purcell A. (2004). TAP genes and immunity. *Current Opinion in Immunology*, **16**, 651-659.

Mehta A.M., Jordanova E.S., Wezel T., Uh H., Corver W.E., Kwappenberg K.M.C., Verduijn W., Kenter G.G., Burg S.H., Fleuren G.J. (2007). Genetic variation of antigen processing machinery components and association with Cervical Carcinoma. *Genes, Chromosomes & Cancer*, **46**, 577-586.

Pala F.S. (2005). Hematolojik Kanserlerde FISH Uygulamaları. *Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, **22(3)**, 132-136.

Penforis A., Tuomilehto-Wolf E., The DiMe (Childhood Diabetes in Finland) Study Group, Denise L. Faustman, and Graham A. Hitman. (2002). Analysis of



- TAP2 polymorphisms in Finnish Individuals with Type I Diabetes. *Human Immunology*, **63**, 61–70.
- Purcell A.W. (2004). The peptide-loading complex and ligand selection during the assembly of HLA class I molecules. *Molecular Immunology*, **37**, 483-492.
- Pyo CW, Hur SS, Kim YK, Kim TY, Kim TG. (2003). Association of TAP and HLA-DM genes with Psoriasis in Koreans. *Journal of Investigate Dermatology*, **120**, 616-22.
- Quadri SA., Singal DP. (1998). Peptide transport in human lymphoblastoid and tumor cells: effect of transporter associated with antigen presentation (TAP) polymorphism. *Immunology Letters*, **61**, 25-31.
- Rau H., Nicolay A., Usadel K.H., Finke R., Donner H., Walfish P.G., Badenhoop K. (1997). Polymorphisms of TAP1 and TAP2 genes in Graves' disease. *Tissue Antigens*, **49**, 16-22.
- Restifo N.P., Esquivel F., Kawakami Y, Yewdell J.W., Mule J.J., Rosenberg S.A., Bannink J.R. (1993). Identification of human cancers deficient in antigen processing. *Journal Experimental Medicine*, **1;177(2)**, 265-72.
- Saeki H., Kuwata S., Nakagawa H., Etoh T., Yanagisawa M., Miyamoto M., Tokunaga K., Juji T., Shibata Y. (1995). Analysis of disease-associated amino acid epitopes on HLA class II molecules in atopic dermatitis. *Journal Allergy Clinical Immunology*, **96**, 1061-8.
- Savage DA., Ng Sc., Howe HS., Ngai JLF., Darke C., Hui KM. (1995). HLA and TAP association in Chinese systemic lupus erythematosus patients. *Tissue Antigens*, **46**, 231-6.
- Seliger B., Bock M., Ritz U. And Huber C. (2002). High frequency of a nonfictionnal TAP1/LMP2 promoter polymorphism in human tumors. *Internal Journal Of Oncology.*, **20**, 349-353.
- Shi C., Qian Y.H., Su J., Luo S.S., Gu J., You H., Cui Q., Lin Y.D., Dong M.H., Yu R.R. (2010). Genetic variation in the LMP/TAP gene and outcomes of

- hepatitis B virus infection in the Chinese population. *Epidemiol Infect*, **10**, 1-9.
- Shiina T., Hosomichi K., Inoko H., Kulski JK. (2009). The HLA genomic loci map: expression, interaction, diversity and disease. *Journal Human Genetic*, **54(1)**, 15-39.
- Shiina T., Inoko H., Kulski J. K. (2004). An update of the HLA genomic region, loci information and disease associations: *Tissue Antigens* **64**, 631–649.
- Soundravally R., Hoti S.L. (2007). Immunopathogenesis of dengue hemorrhagic fever and shock syndrome: Role of TAP and HPA gene polymorphisms. *Human Immunology*, **68**, 973-979.
- Soundravally R., Hoti S.L. (2008). Polymorphisms of the TAP1 and 2 gene may influence Clinical Outcome of Primary Dengue Viral Infection. *Clinical Immunology*, **67**, 618-625.
- Takeuchi F., Nakano K., Nabeta H., Hong H.G., Kuwata S., Ito K. (1996). Polymorphisms of the TAP1 and TAP2 transporter genes in Japanese SLE. *Ann Rheum Dis*, **55**, 924-926.
- Tamandani D.M.K., Sobti C.R., Shekari M., Husseini S.A., Suri V. (2009). No association of TAP1 and TAP2 genes polymorphism with risk of cervical cancer in north Indian population. *J Assist Reprod Genetics*, **29**, 173-178.
- Tao J., Zhang X.P., Chen X.P., Li Y., Liu Y.Q., Tian J., Huang C.Z., Shen G.X., Tu Y.T. (2007). *Clinical and Experimental Dermatology*, **32**, 550-555.
- Vermeulen CF., Jordanova ES., ter Haar NT., Kolkman-Uljee SM., de Miranda NF., Ferrone S. (2007). Expression and genetic analysis of transporter associated with antigen processing in cervical carcinoma. *Gynecol Oncology*, **105(3)**, 593-9.
- Vinasco J., Beraun Y., Nieto A., Fraile A., Mataran L., Pareja E., ekle .(1997). Polymorphism at the TNF loci in rheumatoid arthritis. *Tissue Antigens*, **49**, 74-8

- Vinasco J., Fraile A., Nieto A., Beraun Y., Pareja E., Mataran L., Martín J. (1998). Analysis of LMP and TAP polymorphisms by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism in rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, **57**, 33–37.
- Xu C., Qi S., Gao L., Cu H., Liu M., Yang H., Li K., Cao B. (2007). Genetic polymorphisms of LMP/TAP gene and Hepatitis B Virus infection risk in the Chinese Population. *Journal of Clinical Immunology*, **27**, No.5.
- Yakut T. (2004). HLA Doku Uygunluk Kompleksi, Genetik Lokalizasyonları ve Fonksiyonları. *Güncel Pediatri*, **2**, 53-57.
- Yıldırım A., Bardakçı F., Karataş M., Tanyolaç B. (2007). *Moleküler Biyoloji Protein Sentezi ve Yıkımı*. Nobel Yayınevi.
- Zhang S.L., Chabod J., Penforis A., Reviron D., Tiberghien P., Wendling D., Toussiro E.(2002a). TAP1 and TAP2 gene polymorphism in Rheumatoid Arthritis in a population in Eastern France. *European Journal of Immunogenetics*, **29**, 241-9.
- Zhang S.L., Penforis A., Harraga S., Chabod J., Beurton I., Bresson-Hadni S., Tiberghien P, Kern P.& Vuitton D.-A. (2002b). Polymorphisms of the TAP1 and TAP2 genes in Human Alveolar Echinococcosis. *European Journal of Immunogenetics*, **30**, 133- 139.