

## Büyük Doku Uyuşum Kompleksi

*Uzm.Dr. Özlem GÖRÜROĞLU ÖZTÜRK\**

### GİRİŞ

İmmün sisteminin kendinden olanı ve olmayanı tanınması için gerekli olan doku antijenlerini kodlayan gen bölgesi, Büyük Doku Uyuşum Kompleksi (Major histocompatibility complex, MHC) olarak adlandırılır<sup>1</sup>. İlk olarak lökositlerde gösterilen bu genler, insan lökosit antijenleri (HLA) bölgesi olarak da adlandırılır. Hücre yüzeyinde bulunan MHC molekülleri yabancı antijenleri bağlayarak immün sistemin efektör hücrelerine sunar ve bu şekilde immün yanıtın başlamasında anahtar rol oynarlar<sup>2</sup>.

MHC antijenlerinin üzerlerinde yerleştikleri hücre tipleri ile immün işlevleri açısından 3 farklı grupta oldukları anlaşılmış olup, bunlara sınıf I, II ve III MHC antijenleri adı verilmiştir. I. ve II. sınıf antijenleri hücre membranı üzerine yerleşmiş transmembran proteinlerdir. Ancak bu iki sınıf MHC antijenleri farklı genlerde kodlanırlar, farklı moleküler yapıya sahiptirler ve işlevleri de birbirine benzemez. III. sınıf antijenler HLA gen bölgesinde ifade edilen antijenler olup bazı kompleman komponentlerini, inflamasyon moleküllerini içerirler<sup>3</sup>.

İnsanda MHC antijenlerini kodlayan gen bölgesi 6. kromozomun kısa kolu üzerinde sentromere yakın bir bölgeye yerleşmiş ardışık bir DNA alanıdır (6p 21.3) (Şekil 1). Bu bölge 4 santimorgan büyüklüğünde bir bölgedir<sup>2</sup>. İnsan MHC' sinin tam gen dizisi, farklı MHC haplotiplerinin karışımından oluşur ve 224 gen lokusu içerir. Bu genlerin 128 tanesi yani %57'si immün sistemle ilişkili genlerdir<sup>1</sup>.

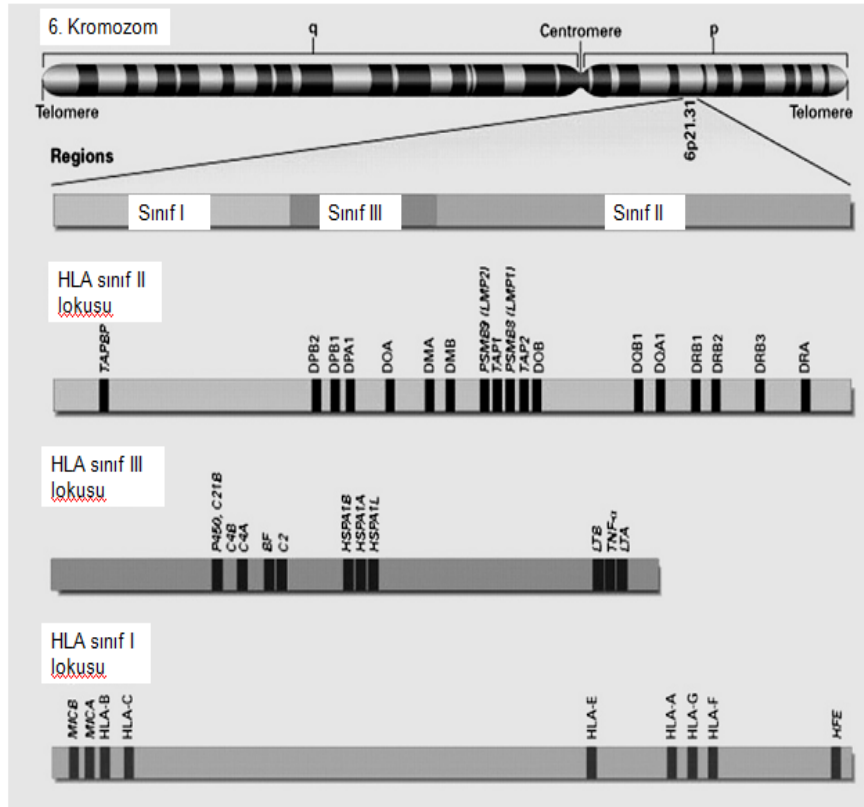
İnsanda MHC genleri Mendel kuralına göre ebeveynden çocuklara geçiş göstermektedir. Her bireyde bir çift kromozomun yarısı anneden yarısı babadan geçer. Böylece çocuklar ile anne-baba arasında bir haplotip

---

\*Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, ADANA

uygunluğu vardır. Bir haplotipde bulunan alleller bir blok halinde geçer. Genetik geçiş sırasında %1-3 oranında rekombinasyon görülebilir<sup>4</sup>. Arada yerleşmiş olan kompleman genlerini de kapsayan bazı haplotipler “genişletilmiş haplotipler” olarak adlandırılır. Hastalık ilişkisi çalışmalarında genişletilmiş haplotipler ile kurulan ilişkiler, allelik ilişkilere göre daha anlamlı bulunmaktadır. Haplotiplerin frekansında etnik farklılıkların önemi büyüktür<sup>5,6,7</sup>.

**Şekil 1:** HLA gen bölgesinin 6. kromozom üzerindeki yerleşimi ve Sınıf I, II, III Bölgeleri.



### **HLA Allel Polimorfizmi**

HLA sınıf I ve sınıf II genleri, insan genomundaki en polimorfik genlerdir. Bu genlerden bazıları için 200 allelik varyant tanımlanmıştır. Avrupa Moleküler Biyoloji Laboratuvarına (European Molecular Biology Laboratory, EMBL) bağlı Avrupa Biyoinformatik Enstitüsünün (European Bioinformatics Institute, EBI) HLA allelleri için oluşturduğu ve 2011 yılının Temmuz ayında güncellenen bilgi bankasında; HLA sınıf I için 5301, HLA sınıf II için ise 1509 farklı HLA alleli bulunmaktadır<sup>8</sup>.

HLA genleri içinde farklı allellerin oluşmasına sebep olacak şekilde dizi farklılıkları vardır. Bu çeşitlilik, özellikle antijen sunulması sırasında T hücre reseptörü ile ilişkiye giren zincirleri kodlayan genlerde görülmektedir. Bu genler sınıf I için ekzon 2–3'ten, sınıf II için ekzon 2'den kodlanan genlerdir. Sınıf I genlerde bu polimorfizmi çok sayıdaki psödogen ve fizyolojik rolleri henüz bilinmeyen klasik olmayan genler sağlar. Sınıf II genlerde ise DR alt bölgesindeki genlerin yapısı ve psödogenler etkili olur. Alleller arasındaki farklar, peptidin taşındığı kovuğun üç boyutlu yapısı üzerinde etkili olduğundan; taşınabilecek peptitlerin seçilmesinde de önem kazanmaktadır<sup>5,6,7</sup>. MHC bölgelerindeki bu çoklu allelik formlar nokta mutasyonu, rekombinasyon ve gen değişimi gibi pek çok çeşit mekanizma ile sağlanabilir<sup>1</sup>.

### **MHC Sınıf I Molekülleri**

Sınıf I gen bölgesi, MHC' nin telomerik ucunda yer alır. Klasik sınıf I molekülleri HLA-A, -B ve -C olarak sınıflandırılabilir. Klasik olmayan MHC molekülleri, HLA-E, -F, -G, MHC sınıf I zinciri- bağlantılı molekül A ve B (MIC A ve MIC B) ya da genomda başka bir yerde sınıf I zinciri ilişkili farklılaşma Kümesi–1 (CD1) ailesini kodlarlar. Klasik olmayan MHC genleri, klasik MHC genlerine göre daha az polimorfiktirler, genellikle daha az varyasyon gösterirler ve çoğu psödogendir<sup>1</sup>.

Sınıf I MHC molekülleri tüm çekirdekli somatik hücrelerde bulunurlar. HLA sınıf I molekülleri, kovalan olmayan bağlarla bir arada tutulan, iki polipeptid

zincirinden oluşmuş heterodimerlerdir. Bunlardan ağır olan alfa zinciri 45 KDa ağırlığında olup MHC bölgesinde kodlanır, hücre membranı boyunca ilerleyen bu molekülün amino ucu membranın dışında yer alır. Membran dışındaki alfa zinciri,  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  ve  $\alpha 3$  bölgelerinden oluşur. Bu bölgeler sırasıyla 90, 63 ve 86 amino asit dizisinden ibarettir. Zincirin membranı geçen kısmını takiben sitoplazmik kısa bir uzantısı vardır. Molekülde bulunan hafif zincir ise  $\beta 2$  mikroglobulin ( $\beta 2m$ ) olup 12,5 KDa ağırlığındadır.  $\beta 2m$  non-kovalent bağlarla ağır zincire bağlanmış olup MHC dışında, 15. kromozomda kodlanır<sup>3</sup>.

Molekülün üç boyutlu yapısına bakıldığında membran dışında birbirine benzerlik gösteren bölgelerin karşılıklı gelmesi ile iki çift domain oluştuğu görülür.  $\alpha 1$  ve  $\alpha 2$  membran distalinde,  $\alpha 3$  ve  $\beta 2m$  de membran proksimalinde karşılıklı yer alır. Karşılıklı yerleşen  $\alpha 1$  ve  $\alpha 2$  zincirleri antijenlere ait 8-10 amino asit büyüklüğünde peptidlerin yerleşebileceği kovuğa benzer bir yapı oluştururlar.  $\beta 2m$  molekülün üç boyutlu yapısının korunmasında rol almaktadır<sup>3,9</sup>.

Sınıf I molekül genleri, kodlama yapan 8 ekzon ve kodlama yapmayan 7 introndan oluşur. Polimorfik bir yapı gösteren  $\alpha 1$  ve  $\alpha 2$  bölgeleri ekzon 2-3 tarafından kodlanır. Altıncı kromozom üzerinde sınıf I moleülleri kodlayan genlerden önce sınıf I genleri düzenleyen bir bölge yer almaktadır. Bu kontrol bölgesi farklı sınıf I genleri ve hatta farklı aleller için bile farklı olabilir<sup>3,9</sup>.

HLA sınıf I gen bölgesinde (sınıf I benzeri) HLA-E ve HLA-G genleri belirlenmiştir. HLA-E, HLA-G' ye göre daha polimorfiktir. Ayrıca HLA B lokusuna yakın bir bölgede MIC A ve MIC B genleri bulunmaktadır. Bu genler sınıf I genleriyle yapısal benzerlikleri olan genler olup tercihen epitel hücrelerinde transkribe olurlar ve özellikle stresle aktiveşirler<sup>10</sup>.

### **Sınıf II MHC Moleülleri**

Sınıf II bölgesi ise sentromere yakın yerleşmiş olup, HLA -DRA, -DRB, -DQA, -DQB, -DPA, -DPB, -DNA, -DMA ve -DOB lokuslarını barındırır. Bunların yanı sıra çeşitli psödogenler, LMP1, LMP2, TAP1 ve TAP2 gibi antijen işlenmesinde rol alan genler de bu bölgede yer alır<sup>5,6,7</sup>.

Sınıf II MHC molekülleri; 34kDa uzunluğunda alfa ve 29kDa uzunluğunda beta polipeptit zincirlerinden oluşan transmembran glikoproteinlerdir. Hücre membranına daha yakın olan alfa2 ve beta2 bölgeleri karakteristik immunoglobulin katlanmasına benzer bir yapı oluştururlar. Bununla birlikte alfa1 ve beta1 bölgeleri HLA sınıf I alfa1 ve alfa2'yi taklit ederek beta-katlantılı tabakanın üzerinde 2 alfa-heliksini oluşturduğu oyuğun bir benzerini oluşturmaktadır<sup>1, 5, 6, 7</sup>. Alfa zinciri A, beta zinciri ise B genleri tarafından kodlanır. Bu nedenle sınıf II bölgesinde yer alan DR, DQ ve DP bölgeleri sırasıyla DRA ve DRB, DQA ve DQB, DPA ve DPB olarak ikiye ayrılırlar. DR bölgesinde alfa zinciri kodlayan tek gen varken, beta zinciri için 9 farklı bölge vardır. Bunların bir kısmı kodlama yapmayan genler olup; sadece DRB1, DRB3, DRB4, DRB5 kodlayıcı genlerdir ve farklı beta zincirlerini kodlarlar. DRB1, 1–18 arasında değişen büyük HLA DR antijenleri için kodlama yaparken; DRB3, DRB4, DRB5 ise DRB1 antijenlerine bağlı olarak eksprese edilen sırasıyla DR53, DR54, DR51 antijenleri için kodlama yaparlar. HLA DQ ve DP bölgelerinde DR' den daha az sayıda alt bölge bulunur. DR bölgesinden farklı olarak DQ ve DP bölgelerinde alfa genleri de çeşitlilik gösterir<sup>5, 6, 7</sup>. Sınıf II antijen ve genlerinin hepsinde ortak D harfinin bulunmasının nedeni bu antijenlerin varlığının ilk kez gösterilmesinde serolojik yöntem dışında farklı bir yöntem ile gösterilmiş olması. Bu yöntem, hücre kültürüne dayanan bir çeşit karışık lenfosit kültürü (MLC; mixed lymphocyte culture) reaksiyonudur. MLC ile ilk olarak gösterilen HLA-A, B ve C den sonra gösterilen antijen HLA-D olarak adlandırılmıştır<sup>6</sup>. Daha ileriki tarihlerde alloreaktif antikörlerin yardımı ile de HLA-DR ve DQ antijenleri tanımlanabilmiştir. HLA-DQ' nun alfa ve beta zincirini sentezleyen genler HLA-DQA1 ve HLA -DQB1 olarak adlandırılır. A1 ve B1 genleri peptid bağlayan bölgeleri kodlarken A2 ve B2 bölgeleri ise immunoglobulin benzer yapıda molekülleri kodlarlar. DRB genlerinin ancak %6 kadarı kodlama yapar ve ekzon 1–6 olarak sıralanmışlardır. Moleküler HLA DRB1 incelemelerinde genellikle ekzon 2 incelenir<sup>5, 11</sup>.

### **Sınıf III MHC Molekülleri**

HLA DRB ile HLA B bölgeleri arasında Sınıf III genleri bulunur. Bu genler, kompleman komponentleri (C2, C4 ve faktör B) sitokinler (interferon, tümör nekrozis faktör), enzimler (21 hidrosilaz koenzim) ve bazı ısı şok proteinlerini kodlayan genlerdir. Sınıf III bölgesi 60 gen içermektedir. Bu bölgeden kodlanan moleküllerin çoğu direkt veya indirekt olarak immün savunma işlevleriyle ilişkili bulunmaktadır. Sınıf 3 MHC bölgesinden büyük bir küme, kompleman komponentlerini kodlayan 4 geni içerir. Bunlardan ikisi C4 izotipleri C4a ve C4b, diğer ikisi C2 ve faktör B içindir. Sitokinlerden tümör nekroz faktör ve lenfotoksin, sınıf III altında kodlanan 70kDa ısı-şok protein ailesinin üyeleridirler. Eğer bir MHC bölgesinin bittiği ve diğerinin başladığı nokta tam olarak ayırım gösterebilse, klasik sınıf I veya II bölgeleri arasında yer alan genler sınıf III' ün bir parçası olarak sınıflandırılabilir fakat bu mümkün olmamaktadır. Örneğin, LMP ve TAP genleri sınıf II bölgesinde bulunan T hücre epitop peptitlerinin intrasellüler işlenmesi ve taşınmasıyla ilgili bulunabilir, fakat klasik sınıf II yapısına sahip değildir ve hücre yüzeyinde eksprese edilmezler<sup>1</sup>.

### **Bağlantı Dengesizliği**

Aynı kromozom veya haplotipde bazı allellerin birbirleri ile birlikte görülme sıklıkları beklenenden daha yüksek saptanabilmektedir. Bu durum bağlantı dengesizliği (linkage disequilibrium) olarak ifade edilir. Her hücrede ve anne baba kökenli kromozomlar üzerindeki genler tarafından kodlanan proteinler birlikte eksprese edilirler. Homolog kromozomlar arasında bir segment değişiminin olması ise rekombinasyon olarak tanımlanır; görülme sıklığı %1–3 olup; en sık HLA-A, HLA-DP bölgelerinde görülür. Her bölgede yer alan allellerin sayısı göz önüne alındığında: toplumlarda beklenen teorik değerden daha az sayıda haplotip bulunduğu görülür. Bu durum bazı allellerin birlikteliğinin rasgele olmadığını desteklemektedir. Bu durum bağlantı dengesizliğinin bir örneğidir ve bazı haplotiplerin korunma çabası ile açıklanmaktadır. Bu eğilim, en çok HLA B-C, DRB1-DRB3/4/5, DRB1- DQB1

arasında olmak üzere HLA-B ile HLA-DQB arasındaki bölge boyunca görülmektedir<sup>5,6,7</sup>.

### **Sonuç**

Klinikte HLA uygulamaları, transplantasyon, hastalık çalışmaları, antropolojik çalışmalar ve babalık testi amacıyla kullanılmaktadır<sup>12, 13</sup>. Özellikle kemik iliği nakillerinde HLA antijenlerinin uyumun önemini kanıtlayan pek çok çalışma vardır<sup>13, 14</sup>. MHC farklılıklarının doku reddini tetiklediğinin gözlenmesinden sonra bu antijen farklılıklarının tanımlanması için çok çaba harcanmıştır<sup>14</sup>. Uygun akraba donörü bulunmayan hematopoetik sistem malignite ve hastalıklarında küratif tedavi alternatifi olan allogeneik kemik iliği nakli için önemli bir alternatif akraba dışı donör kaynaklarıdır. HLA uygun akraba dışı donör bulunabilmesi için gelişmiş HLA doku banka sistemine ihtiyaç vardır. HLA doku bankalarının kapasitesi ne kadar fazla ise uygun donör bulma şansı o oranda artmaktadır<sup>13,14</sup>.

Yine solid organ transplantasyonunda da verici ve alıcının HLA antijenlerinin eşleştirilmesi ile doku reddi minimuma indirilmeye çalışılmıştır. Uyum için 3 lokus, HLA-A,-B ve DR en değerli kabul edilir. Genellikle ne kadar çok allel uyumluysa, greft yaşamı o kadar iyidir<sup>15</sup>. Ek olarak, solid organ transplantasyonunda alıcı da, vericinin HLA antijenlerine karşı oluşan HLA antikoru da (donör spesifik antikoru) doku reddine yol açabilmektedir<sup>16, 17</sup>.

Yapılan çalışmalarda MHC' nin pek çok hastalıkla, özellikle enfeksiyöz ve otoimmün temelli hastalıklarla ilişkisi olduğu gösterilmiştir. Bu tür çalışmalar, hastalık riskleri ve koruyucu faktörleri saptamak, tedavileri planlayabilmek amaçlarıyla yapılmaktadır<sup>12, 18, 19, 20</sup>. Hastalık çalışmaları, vaka-kontrol, aile ve populasyon taramaları ile ortaya konulabilmektedir. Farklı populasyonlarda, HLA allel ve haplotiplerinin dağılımı çok büyük farklılıklar göstermektedir. Türkiyede HLA doku tiplendirilmesi ile ilgili yapılmış kapsamlı çalışmalar bulunmaktadır<sup>21, 22</sup>. Sonuç olarak, HLA gen bölgelerinin, HLA moleküllerini kodlayan farklı allellerin ve moleküllerin yapısının daha iyi bilinmesi bu konuyla ilgili yapılacak çalışmalara ışık tutacaktır.

**Kaynaklar**

1. Roitt IM, Delves PJ. Membrane Receptors For Antigen. Roitt's Essential Immunology. Blackwell Science. Tenth Edition; 2001. Chapter 4. 62–79.
2. Choo SY. The HLA system: Genetics, immunology, Clinical testing and Clinical Implications. Yonsei Med. Journal. 2007;48:11-23.
3. Uçar F, Ovalı E, Değer O ve ark. MHC Gen Kompleksi ve HLA Doku Tiplemesi Testlerinin Önemi. İbni Sina Tıp Dergisi. 2001;6:117-24.
4. Ellis S. The cattle major histocompatibility complex: is it unique? Vet Immunol Immunopathol. 2004;102:1-8.
5. Steven MGE, Peter P, Linda BD. The HLA Facts Book. Academic Press; 2000.
6. Blasczyk R. New HLA Typing methods in New Diagnostic Methods in Oncology and Hematology, p143-184, Berlin: Springer –Verlag; 1998.
7. Klein J, Sato A. The HLA System— First of Two Parts. N Engl J Med 2000; 343:702-9
8. <http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/stats.html> (Erişim tarihi: Ekim 2011)
9. Van Kaer L. Major histocompatibility complex class I-restricted antigen processing and presentation. Tissue Antigens. 2002;60:1-9.
10. Stephens HA. MICA and MICB genes: can the enigma of their polymorphism be resolved? Trends Immunol. 2001;22:378-85.
11. SG Marsh, Bodmer JG, Albert ED et al. Nomenclature for factors of the HLA system. Tissue Antigens 2000;60:407-64.
12. Ghodke Y, Joshi K, Chopra A et al. HLA and disease. European Journal of Epidemiology 2005;20:475–88.
13. Little M, Marsh SGE, Madrigal JA. Current methodologies of human leukocyte antigen typing utilized for bone marrow donor selection. A Current Opinion in Hematology. 1998;5:419-28.
14. Reisner Y, Hagin D, Martelli MF. Haploidentical hematopoietic transplantation: current status and future perspectives. Blood 2011 Sep 14 (in press).
15. Eng HS, Leffell MS. Histocompatibility testing after fifty years of transplantation. J Immunol Methods 2011;30:1-21.
16. Ozturk OG, Bray R, Gebel H. Luminex Based Detection of IgG Subclasses in HLA alloantisera. Human Immunology 2010;71(1) suppl:A128-P.
17. Dunn TB, Noreen H, Gillingham K et al. Revisiting traditional risk factors for rejection and graft loss after kidney transplantation. Am J Transplant. 2011;11:2132-43.
18. Kandemir O, Polat G, Sayıcı T et al. Evaluation of MHC Class 2 Alleles in Chronic Hepatitis B Patients and Inactive Hepatitis B Carriers. Turkiye Klinikleri J Med Sci.2010;30:1317-23.
19. Gun FD, Ozturk OG, Polat A et al. HLA class-II allele frequencies in Turkish breast cancer patients. Med Oncol. 2011 Mar 4 (In Press).



20. Ozturk OG, Gün FD, Sezgin O et al. Çölyak Hastalığının Tanısında Yeni HLA Sınıf II Allelleri. VIII. Ulusal Klinik Biyokimya Kongre Kitabı 2008;SB3:86.
21. Gün FD, Ozturk OG, Muşlu N et al. Mersin'de HLA Allel Frekanslarının Deđerlendirilmesi 1. Ulusal Transplantasyon İmmünolojisi ve Genetiđi Kongre Kitabı 2008.
22. Uyar FA, Dorak MT, Saruhan-Direskeneli G. Human leukocyte antigen -A, -B and -C alleles and human leukocyte antigen haplotypes in Turkey: relationship to other populations. Tissue Antigens 2004; 64: 180-7.

**Yazışma Adresi :**

Uzm. Dr. Özlem GÖRÜROĞLU ÖZTÜRK

Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakóltesi

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

01330 Balcalı/Adana

e-mail: ozlem\_goruroglu@yahoo.com

Faks: 0 324 341 24 00