

The background is a deep red, swirling vortex-like pattern that suggests the flow of blood. Numerous red blood cells, depicted as biconcave discs, are scattered throughout the scene. On the right side, there is a cluster of more complex, star-shaped cells, possibly representing stem cells or immune cells, which are the focus of the presentation.

# ALLOJENİK KÖK HÜCRE NAKLİNDE HLA

Yük. Kim. Aybike BOSTANCI

# ALLOJENİK KÖK HÜCRE NAKLİ

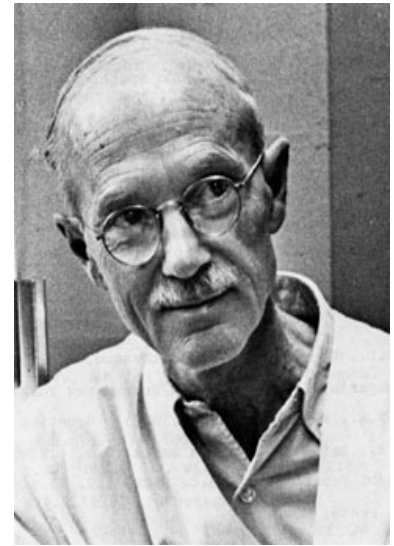
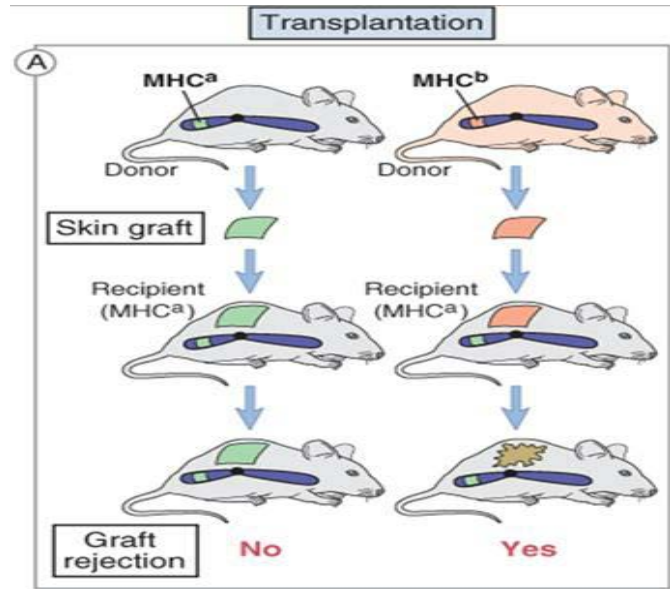
## HKH Kaynakları

- Periferal kan
- Kemik iliği
- Kordon kanı

## Hedefler

- Kalıcı engrafman
- Etkin immün yapılanma
- Nüksün engellenmesi

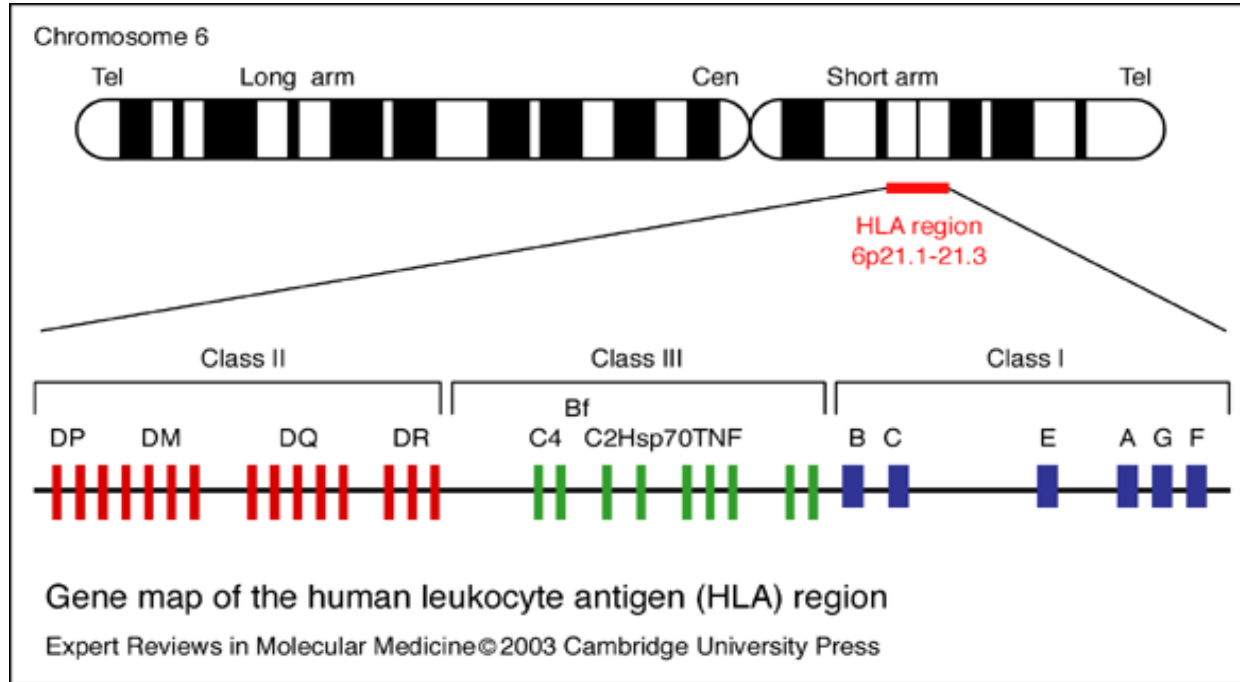
İlk defa 1930'lu yıllarda P.A. Gorer ve G.D. Snell tarafından, kan hücre antijenlerinin doku reddine neden oldukları tespit edilmiştir.



Doku atılım reaksiyonlarında rol oynayan antijenlere doku uygunluk veya transplantasyon antijenleri denilmektedir.

İnsan hücrelerinde bulunan bu doku uygunluk antijenlerine **human leukocyte antigen (HLA)** adı verilmektedir.

HLA kodlayan gen bölgesi insanda 6. kromozom üzerinde bulunur.



Bu bölgeye büyük doku uygunluk kompleksi gen bölgesi (Major Histocompatibility Complex Gene Region - MHC) denir.

# MHC

<b>MHC Sınıf I</b>	HLA-A, -B, -C, -E, -F, -G
<b>MHC Sınıf II</b>	HLA-DR, -DP, -DQ, -DO, -DN
<b>MHC Sınıf III</b>	C2, C4A, C4B, PF, TNF- $\alpha$ , - $\beta$
<b>MHC Sınıf IV</b>	SK12W, Hsp70, AIF-I, IC7, B144, LTB, TNF, LTA, IkBL, BATI, MICA, MICB

MHC gen bölgesinin her lokusunda herbiri farklı HLA antijenlerinden sorumlu HLA alelleri ve ürünleri HLA antijeni olarak ifade edilirler.

1970'li yıllarda Rolf Zinkernagel ve Peter Doherty, MHC moleküllerinin antijenler ile bağlandığını ve bunları T-hücrelerine tanıttıklarını gösterdiler (1996 Nobel ödülü).



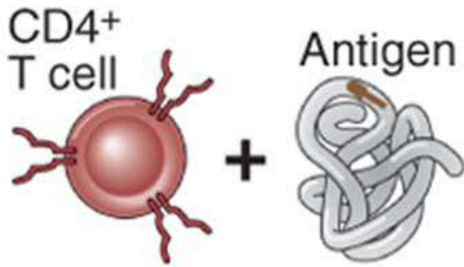
Peter Doherty (1940 - ) and Rolf Zinkernagel (1944 - )



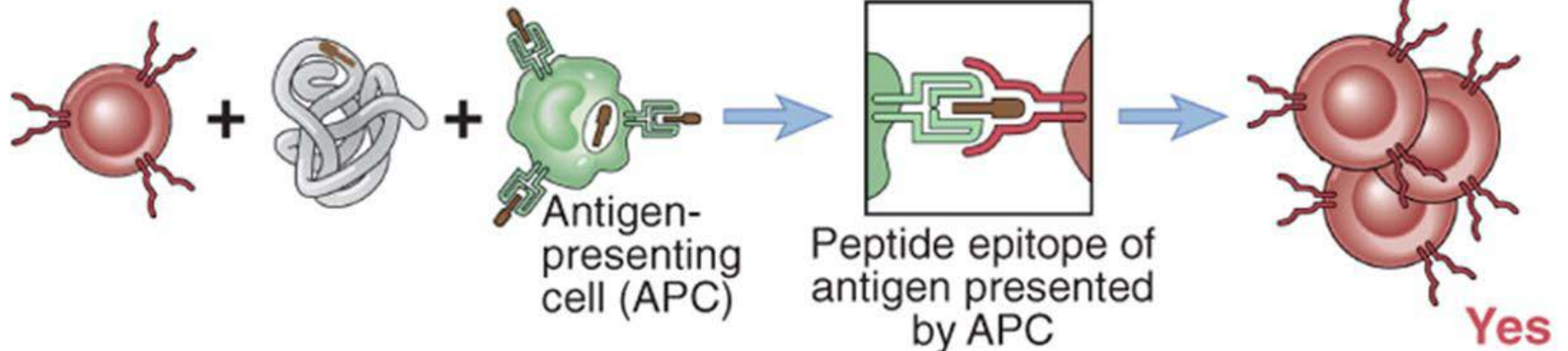
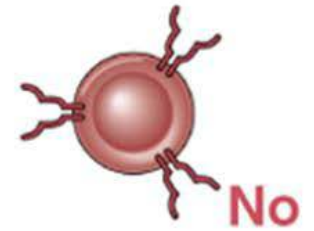


HLA moleküllerinin temel görevi, antijeni T lenfositlere sunmak ve spesifik immün cevabı başlatmaktır.

### Antijen tanıma

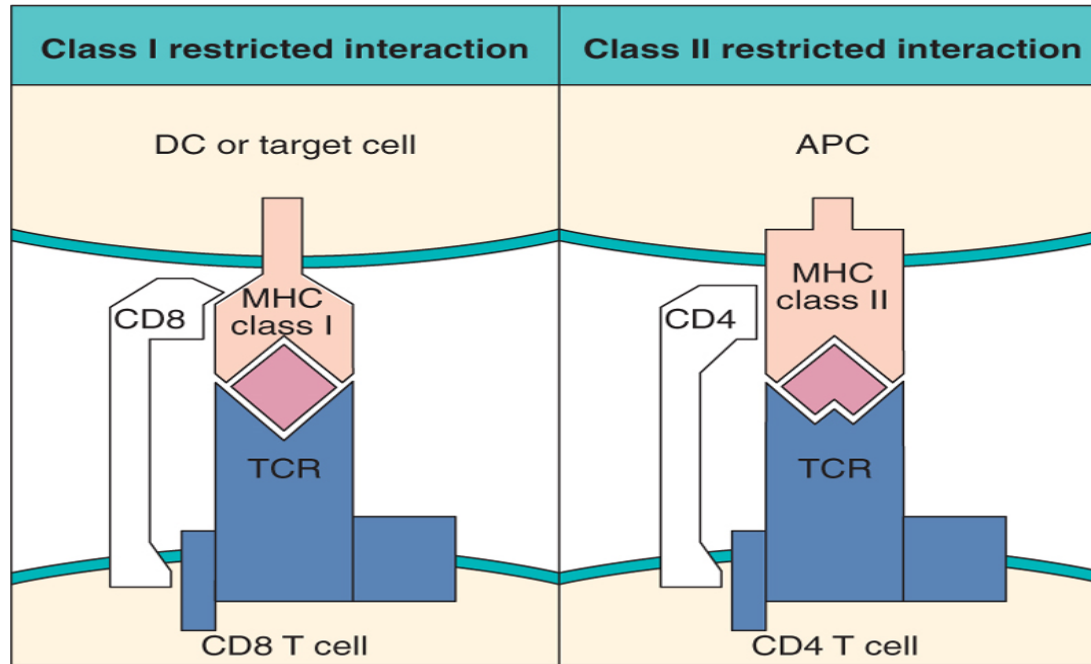


### T hücre yanıtı





- Sınıf I HLA molekülü CD8+ sitotoksik T hücrelere,
- Sınıf II HLA molekülü ise CD4+ yardımcı T hücrelerine antijen sunarlar.
- Sınıf III HLA molekülü antijen sunumunda görev almaz.
- Sınıf III ve IV HLA molekülü asıl olarak enflamasyonda ve otoimmün hastalıklarda önemlidir.

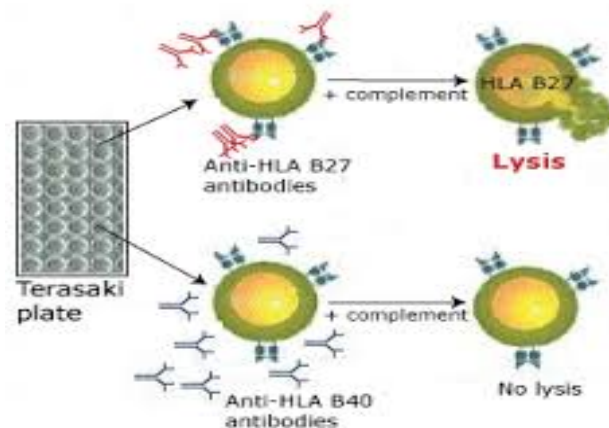
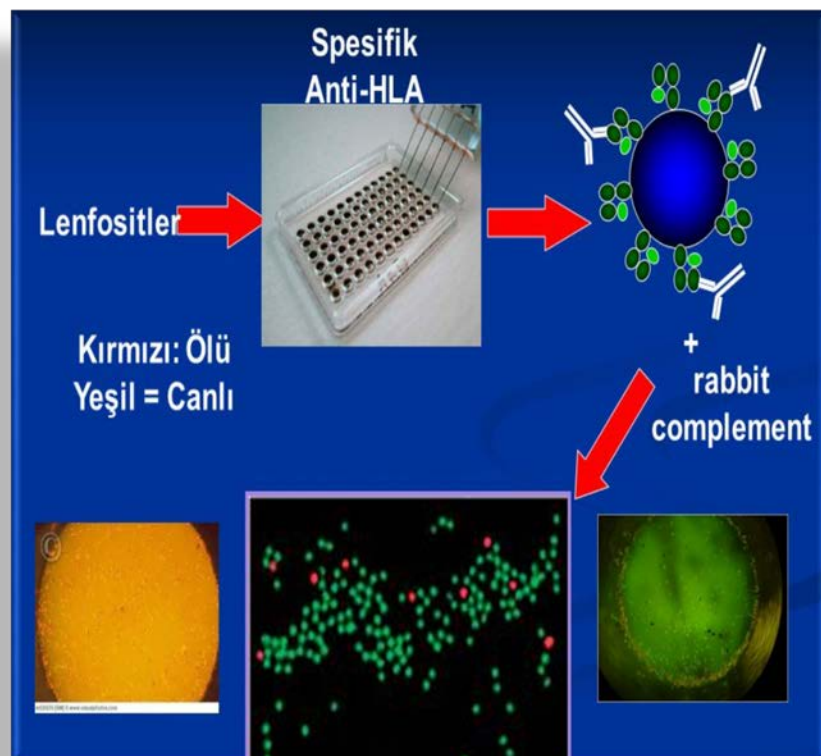


Murray et al: Medical Microbiology, 6th Edition.  
Copyright © 2009 by Mosby, an imprint of Elsevier, Inc. All rights reserved.

MHC restriction and antigen presentation to T cells. *Left*, Antigenic peptides bound to class I MHC molecules are presented to the T-cell receptor (TCR) on CD8 T killer/suppressor cells. *Right*, Antigenic peptides bound to class II MHC molecules on the antigen-presenting cell (APC) (B cell, dendritic cell, or macrophage) are presented to CD4 helper cells and delayed-type hypersensitivity T cells.

# HLA Tiplendirme Yöntemleri

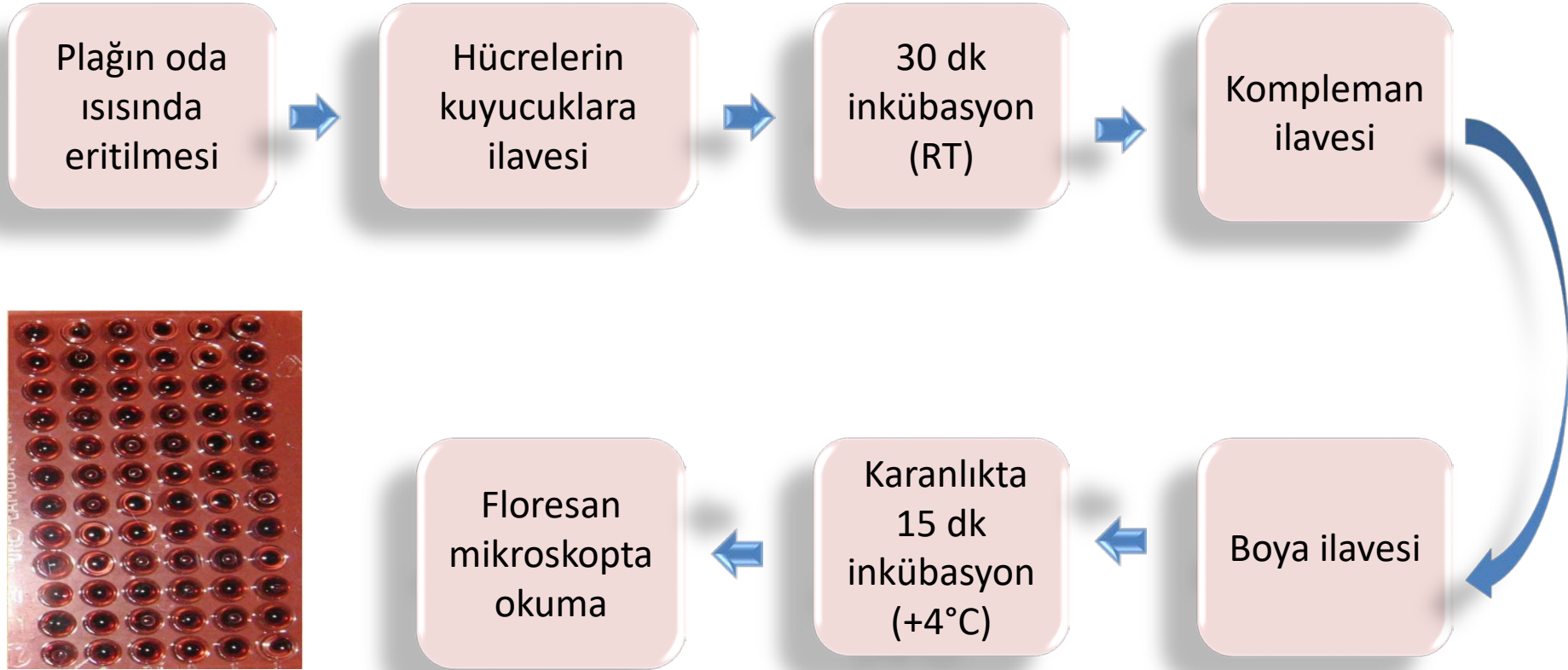
## 1. Seroloji (Lenfositotoksisite testi)



### SEROLOGICAL HLA TYPING

- ✦ Developed by Terasaki and McClelland in 1964
- ✦ Based on the detection of expressed HLA molecules on the surface of separated T cells (HLA class I) and B cells (HLA class II) using panels of antisera, usually obtained from multiparous women in a complement dependent cytotoxicity test.
- ✦ Requires sufficient live lymphocytes and panel of sera
- ✦ HLA antigen identified by serological methods were named in the order in which they were recognized. Eg: A1, A2, A3 and so on

# 1. Seroloji (Lenfositotoksosite testi)



# HLA Tiplendirme Yöntemleri

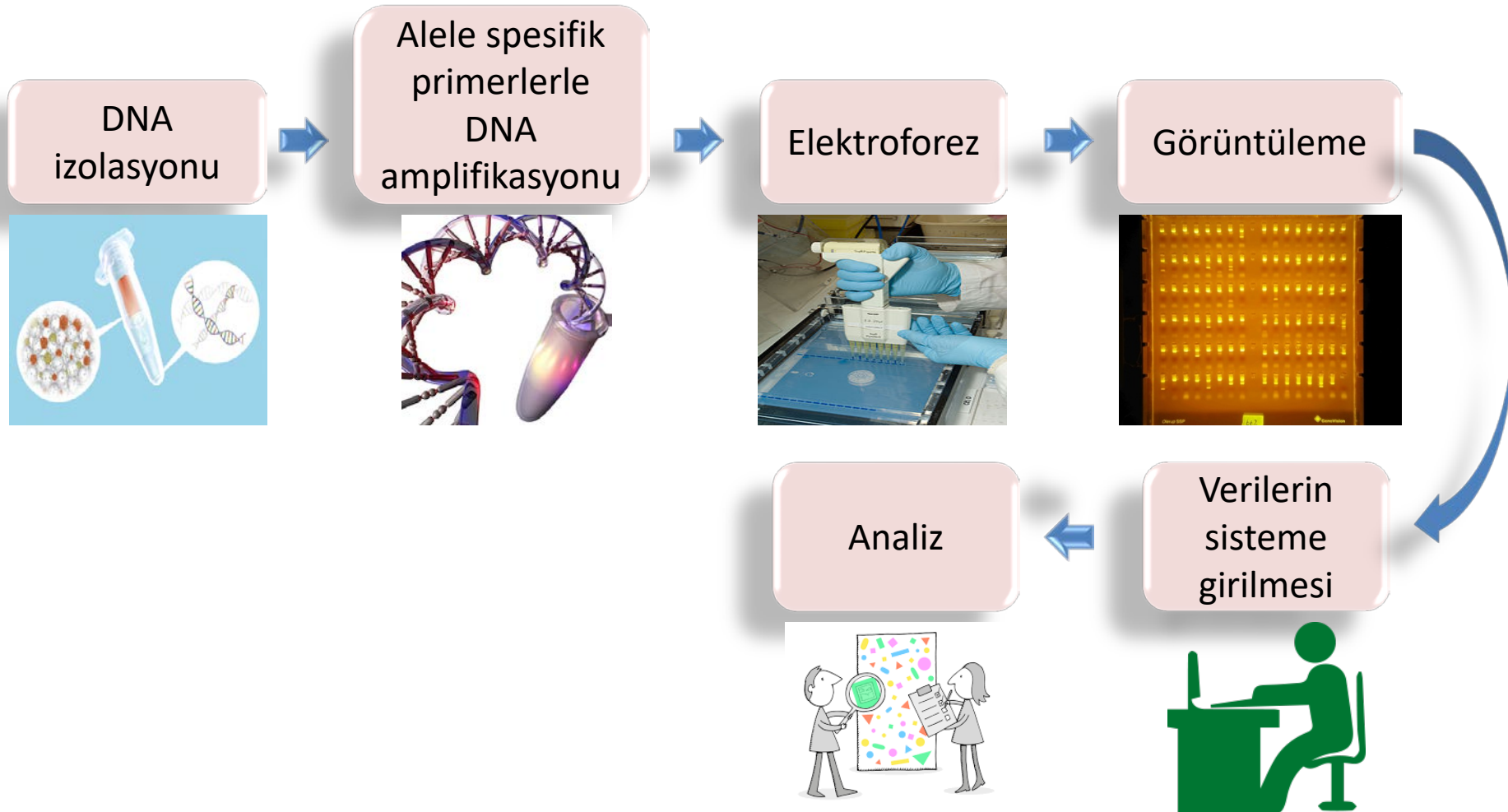
## 2. PCR tabanlı (Moleküler Yöntemler)

**SSP:** Sequence Specific Primer

**SSO:** Sequence Specific Oligonucleotid

**SBT:** Sequence Based Typing

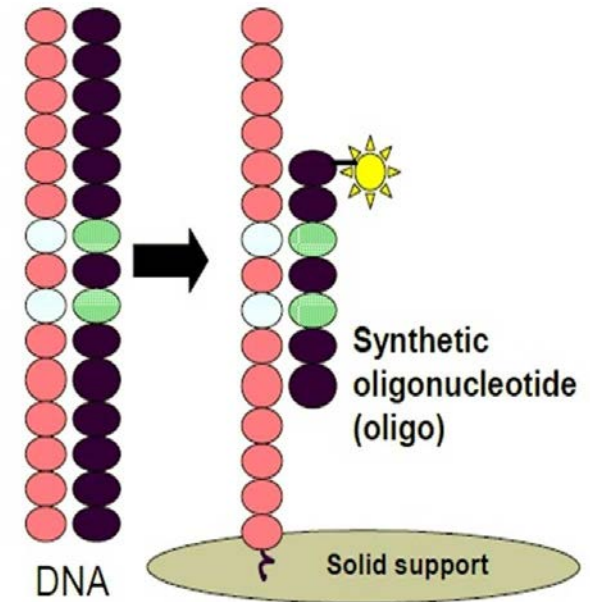
# SSP (Sequence Specific Primer)



# SSO (Sequence Specific Oligonucleotide)

Bir HLA bölgesine özgün primerlerle  
DNA'nın PCR temelli çoğaltılması

Diziye özgü oligonükleotit problemleriyle PCR' da  
çoğaltılmış DNA'nın hibridizasyonu



# Luminex

Mikro boncukların kullanımına dayalı

Çoklu analiz imkanı

Floresan ölçümü yapabilen

Hibridizasyon ve Floresan tayin yöntemlerini  
birlikte kullanan

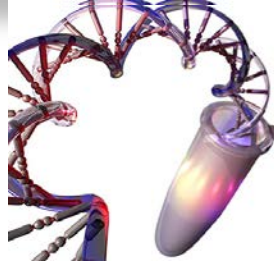


# Luminex

DNA  
izolasyonu



DNA  
amplifikasyonu



Hibridizasyon



MatchIT  
kullanarak  
hasta girişleri



Analiz



Çalışmanın  
okutulması



# SBT (Sequence Based Typing)

İstenen bölgenin primerler vasıtalı PCR bazlı çoğaltılması

DNA Sekansının çıkartılması

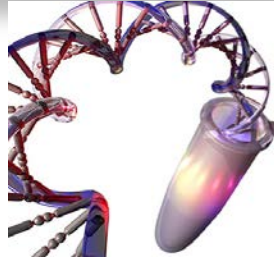
Ham verilerin Analizi

# SBT (Sequence Based Typing)

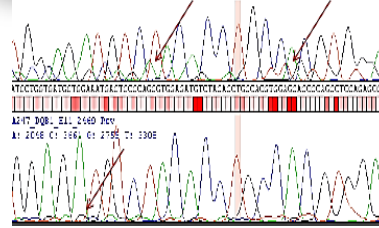
DNA  
izolasyonu



DNA  
amplifikasyonu



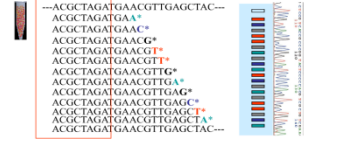
PCR ürününün  
temizlenmesi



Sekanslama  
reaksiyonu

SBT with Dye-Terminator Chemistry

Cycle sequencing: 4 colors/well/lane/sample



NTP needed: dATP, dCTP, dGTP, dTTP; ddATP\*, ddCTP\*, ddGTP\*, ddTTP\*

Analiz



Ürünlerin  
cihaza  
yüklenmesi,  
Elektroforez



Ürünün  
safılaştırılması



# Sonuçlar Size Nasıl Verilir?

## Düşük Rezolüsyonlu

- Allel grubunu belirler
  - HLA-A\*01

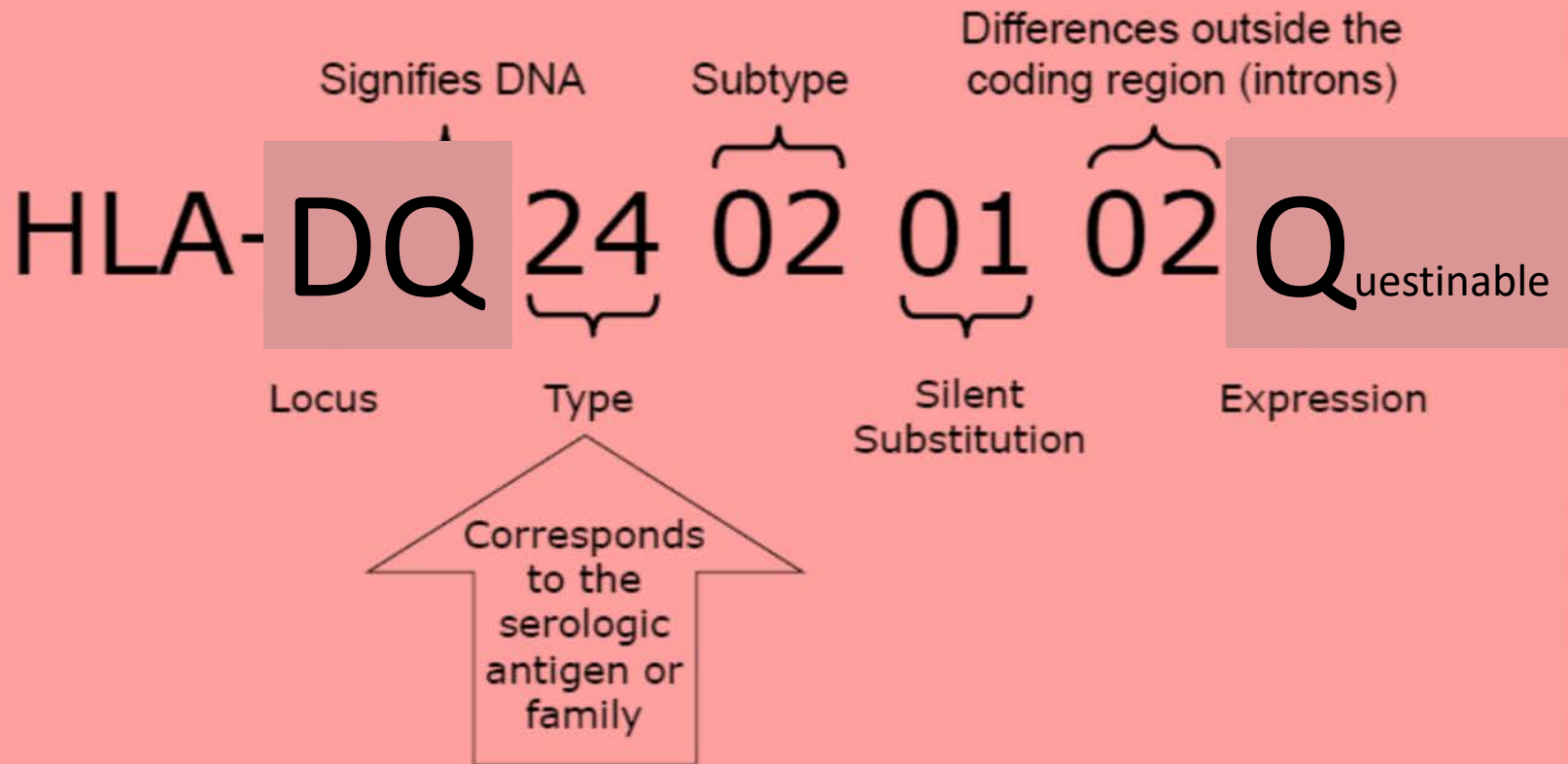
## Orta Rezolüsyonlu

- Sonuçta birkaç allel seçeneği birlikte verilir
  - HLA-A\*01:01/01:02/01:03

## Yüksek Rezolüsyonlu

- Allelik düzeyde tiplendirme
  - HLA-A\*01:01

# HLA Tipleme Formülasyonu



# HLA Tipleme Formülasyonu

HLA analizinde belirsizlik olduğunda

İtalik yazım proteini ifade eder

~~HLA\*02:01~~ veya HLA\*02:09  
*HLA\*03:01*  
şeklinde yazılmaz

Olasılıklar «veya» kelimesi yerine «/» kullanılır

HLA\*02:01 /02:09

# Hangi Durumda Hangi Test

Typing Method/transplant	Low resolution AB	Low resolution DR/DQ	High resolution AB	High resolution DR/DQ	C	D P	A B O
Blood or bone marrow sibling or related donor	U	U	R	R	R	V	V
Blood or bone marrow ,unrelated donor	U	U	I	U	V	V	V
Kidney	U	U	R	R	V	R	U
Pancreas	U	U	R	R	V	R	U
Heart/Lung	U	U	R	R	V	R	U
Liver	V	V	R	R	V	R	V
Cornea	V	R	R	R	V	R	R

U, usually V, variable R, rarely I, increasing use



# Antijen-Alel Uyumu

Major-Histocompatibility-Complex Class I Alleles and Antigens in Hematopoietic-Cell Transplantation  
 Effie W. Petersdorf, M.D., John A. Hansen, M.D., Paul J. Martin, M.D., Ann Woolfrey, M.D., Mari Malkki, Ph.D., Theodore Gooley, Ph.D., Barry Storer, Ph.D., Eric Mickelson, B.S., Anajane Smith, M.S., and Claudio Anasetti, M.D.  
 N Engl J Med 2001; 345:1794-1800 [December 20, 2001](#) DOI: 10.1056/NEJMoa011826

**TABLE 1. TERMINOLOGY FOR DONOR MATCHING OF HLA CLASS I ALLELES AND ANTIGENS.**

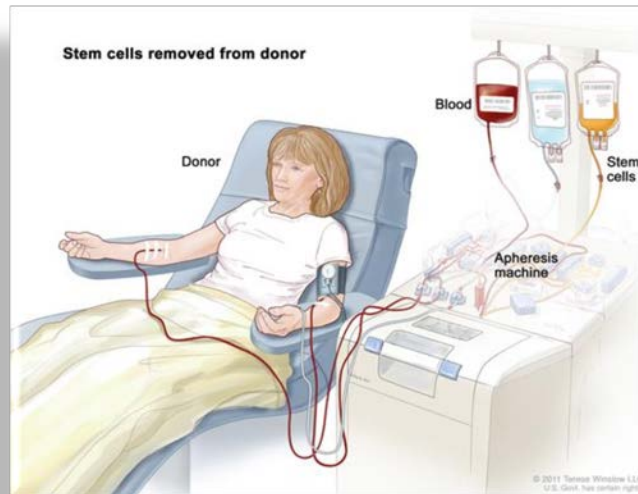
TERM	MATCHING STATUS	EXAMPLES*	
		DONOR	RECIPIENT
Matched	Antigen matched	HLA-A2	HLA-A2
	Allele matched	HLA-A*0201	HLA-A*0201
Allele mismatched†	Antigen matched	HLA-A2	HLA-A2
	Allele mismatched	HLA-A*0201	HLA-A*0205
Antigen mismatched‡	Antigen mismatched	HLA-A2	HLA-A1
	Allele mismatched	HLA-A*0201	HLA-A*0101

\*HLA alleles and antigens are designated according to the World Health Organization nomenclature for factors of the HLA system.<sup>10</sup> The specific amino acid substitutions encoded by each allele are noted in Supplementary Appendix 1 (available with the full text of this article at <http://www.nejm.org>).

†Alleles are defined by DNA sequencing.

‡Antigens are defined by serologic analysis.

# HLA Kullanım Alanları



## HLA-B27 DISEASES

- Class 1 surface antigen
- Seronegative spondyloarthropathies are strongly associated with acute anterior uveitis and HLA-B27
- spondylitis and sacroiliitis

### Include:

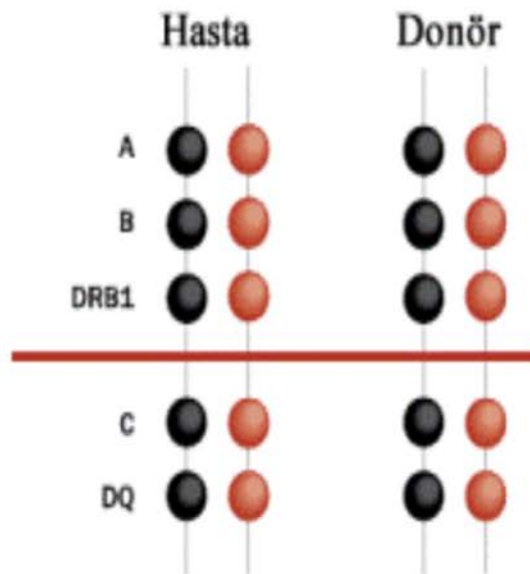
- Ankylosing spondylitis
- Reactive arthritis syndrome
- Inflammatory bowel disease
- Psoriatic arthritis

# Uygun Verici Seçiminde Gerekli Kriterler

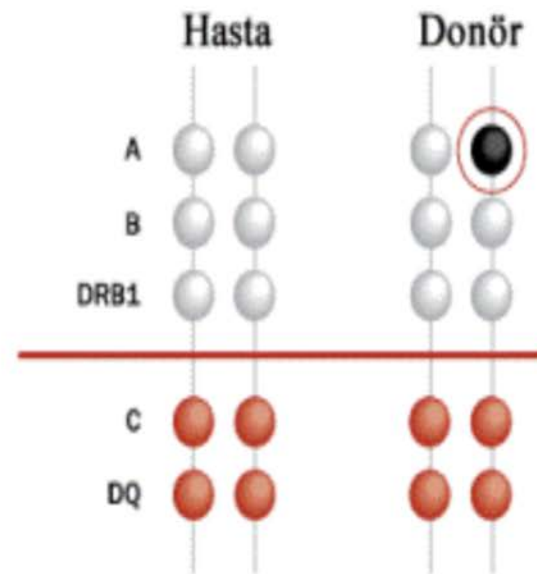
- Haplotiplerin belirlenmesi için hasta, kardeşler ve ebeveynlerin HLA-A, -B, -DR tiplemesine (düşük çözünürlük) başlanır.
- Aileden, HLA-A, -B, -DR' de yalnızca tek bir HLA uyumsuzluğu olan bir verici bulunması halinde, transplant yüksek GVHH riski göz önüne alınarak gerçekleştirilebilir. Tam uygunluk için yüksek çözünürlük HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1 tiplemesi bazı merkezler tarafından tavsiye edilebilir.
- Kardeş verici bulunmaması durumunda, yüksek çözünürlüklü HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1 tiplemesine dayanarak akraba dışı verici araştırması başlatılmalıdır. En az eksik eşlemeye sahip olan bir verici araştırılır. (10/10 veya 9/10 uyum)

## HLA uyum örnekleri

**A.** 6'da 6 uyum / 10'da 10 uyum



**B.** 6'da 5 uyum / 10'da 9 uyum

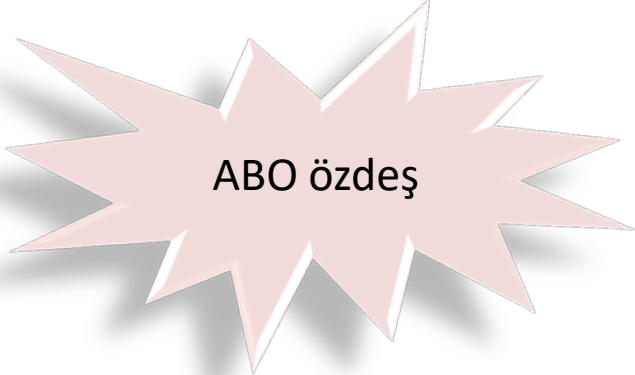


# Uygun Verici Seçiminde Gerekli Kriterler


- Birden çok HLA uyumlu verici bulunması halinde;



Erkek



ABO özdeş



CMV-EBV  
serostatüsü  
eşleşen

# Uygun Verici Seçiminde Gerekli Kriterler

- Uyumlu (10/10 veya 9/10) bir akraba dışı verici bulunamazsa, en fazla 2 HLA uyumsuzluğu olan kordon kanı seçeneği tercih edilebilir ya da haplo özdeş transplant göz önünde bulundurulur.

6/6 uyumda çekirdekli hücre sayısı  $>1.5 \times 10^7/\text{kg}$

5/6 uyumda  $>2.5 \times 10^7/\text{kg}$

4/6 uyumda ise  $>5 \times 10^7/\text{kg}$

3/6 önerilmez.

# Verici Tercihi

1) Tek yumurta ikizleri (Özdeş KHN)

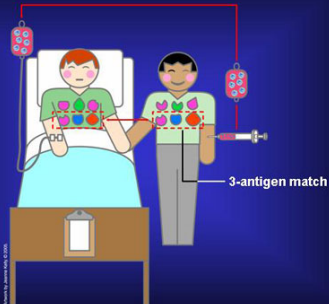
2) HLA özdeş kardeşler (Kardeş KHN)

3) Bir antijen uyumsuz kardeş  
(Kardeş KHN)

4) Akraba dışı donör

5) Haploidentik aile üyeleri (Haplo-KHN)\*

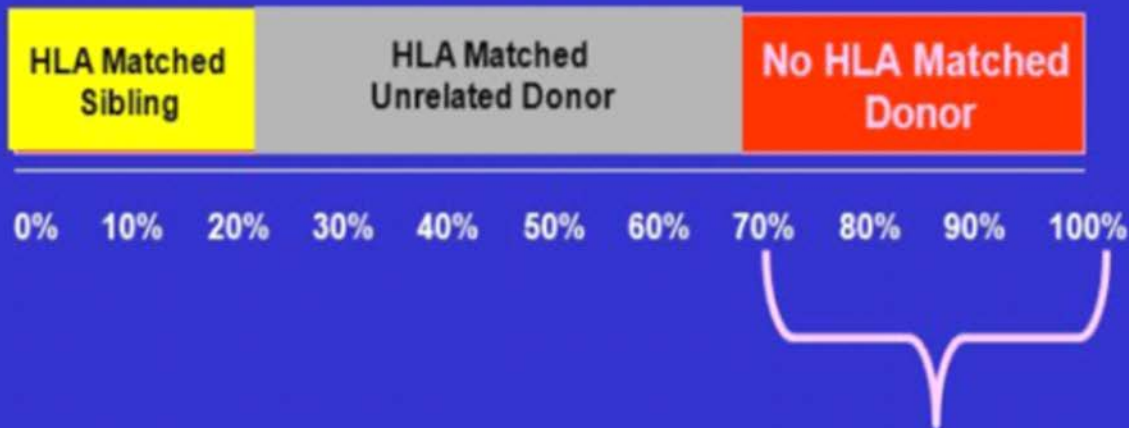
Sometimes a 3-Antigen Match Is Necessary





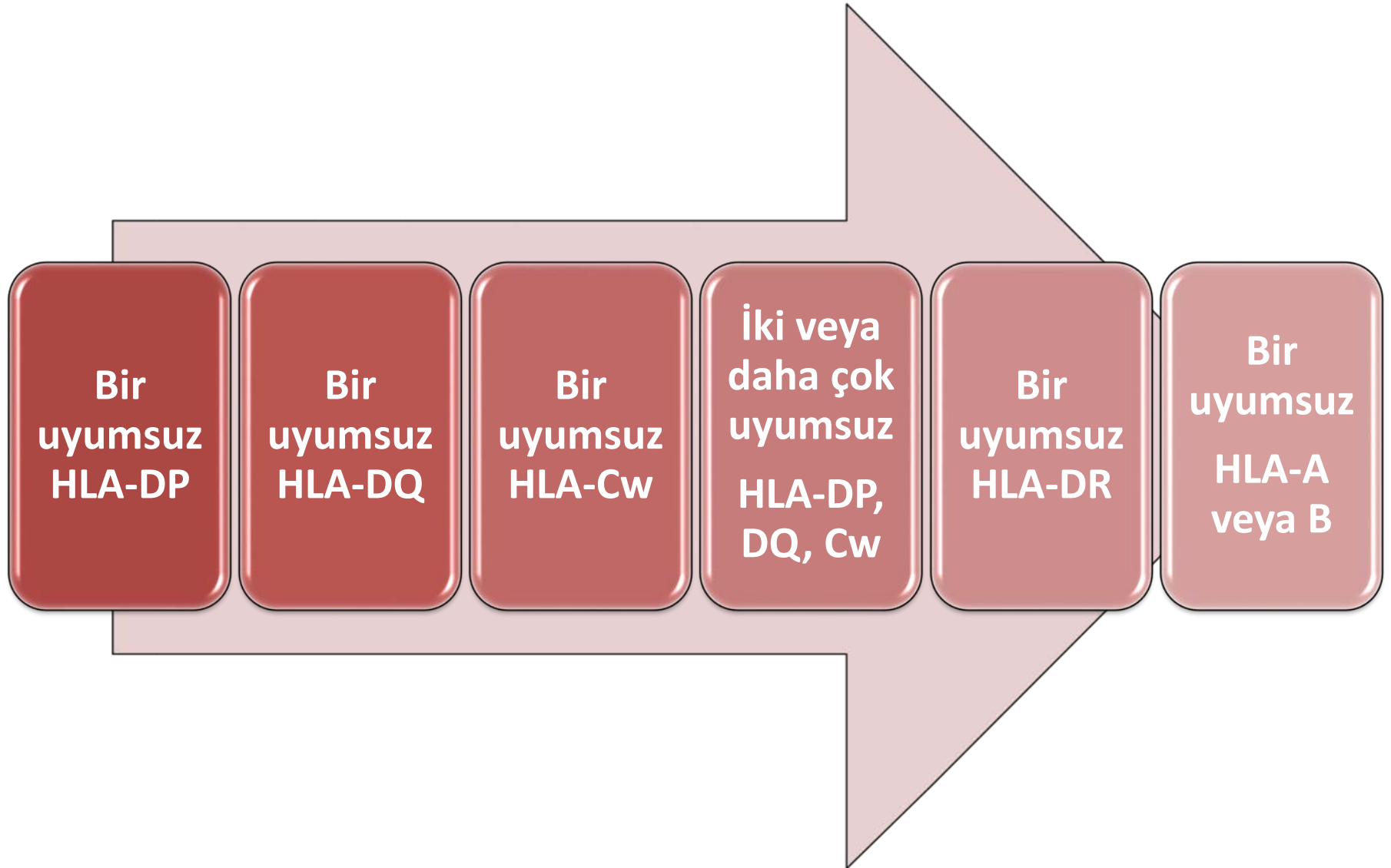
# Allojenik Transplantasyonlarda Kök Hücre Kaynağı Bulabilme Durumu

## Chances of Finding a Stem Cell Donor



Potential Candidates  
For a Cord Blood Transplant or  
A Haploidentical Transplant

# HLA Lokuslarının Önemi



# HLA Lokuslarının Önemi

	Grades III-IV aGVHD	Relapse	Survival
<b>HLA mismatch</b>	OR, P value		
HLA 10/10 (10,930)	1	1	1
Single HLA-A (1,430)	1.64, <0.001	1.10, 0.11	1.36, <0.001
Single HLA-B (651)	1.88, <0.001	0.93, 0.47	1.38, <0.001
Single HLA-C (2,600)	1.55, <0.001	1.00, 1	1.29, <0.001
Single HLA-DRB1 (383)	1.47, <0.003	1.04, 0.74	1.14, 0.07
Single HLA-DQB1(1,139)	1.00, 0.99	1.07, 0.29	1.05, 0.27
<b>Single DQB1 mismatch is tolerated the best</b>			
	OR, P value		
HLA 10/10 (10,930)	1	1	1
Single Class I (4,681)	1.62, <0.001	1.02, 0.58	1.32, <0.001
Single Class II (1,522)	1.11, 0.15	1.06, 0.29	1.07, 0.07
<b>Class I mismatches are more detrimental than Class II</b>			

“ GIVE SOMEONE A SECOND CHANCE ”



**BE A DONOR  
BE A HERO**

[www.nerdyinfo.com](http://www.nerdyinfo.com)

KATILIMINIZ VE DİKKATİNİZ İÇİN  
TEŞEKKÜRLER

