

AZƏRBAYCAN RESPUBLİKASI
SƏHIYYƏ NAZİRLİYİ

AZƏRBAYCAN TİBB UNİVERSİTETİ

Əlyazması hüququnda

PEYMAN NASİR OĞLU PURDAVUDƏSL

**BAKI ŞƏHƏRİNİN ƏHALİSİNDƏ
HLA GENLƏRİNİN SKRİNİNQİ**

İxtisas: 2409.01 – “genetika”

Biologiya üzrə fəlsəfə doktoru elmi dərəcəsi
almaq üçün təqdim olunmuş dissertasiya işinin

A V T O R E F E R A T I

Bakı – 2013

Dissertasiya işi Bakı Dövlət Universitetinin genetika və təkamül təlimi kafedrasında yerinə yetirilmişdir.

Elmi rəhbər:

biologiya üzrə elmlər doktoru, professor

K.Ə.Əliyeva

Rəsmi oponentlər:

biologiya üzrə elmlər doktoru, professor

İ.Ə.Şahmuradov

tibb üzrə fəlsəfə doktoru

D.H.Cavadova

Aparıcı təşkilat: Azərbaycan Respublikası Səhiyyə Nazirliyi B.Eyvazov adına Elmi-Tədqiqat Hematologiya və Transfuziologiya İnstitutunun immunologiya şöbəsi

Dissertasiyanın müdafiəsi “_06_” _12_ 2013-cü il tarixində, saat _____-da Azərbaycan Tibb Universitetində təşkil edilmiş BFD 03.013 şifrlı birdəfəlik dissertasiya şurasının iclasında keçiriləcəkdir.

Ünvan: AZ-1022, Bakı şəhəri, Mərdanov Qardaşları küçəsi, 98 (ATU-nun patoloji fiziologiya kafedrası, fizika-kimya korpusu, 2-ci mərtəbə).

Dissertasiya ilə Azərbaycan Tibb Universitetinin kitabxanasında tanış olmaq olar.

Avtoreferat “_____” _____ 2013-cü il tarixində göndərilmişdir.

BFD 03.013 şifrlı birdəfəlik
dissertasiya şurasının elmi katibi
tibb üzrə elmlər doktoru, professor

M.Q.Allahverdiyev

İŞİN ÜMUMİ XARAKTERİSTİKASI

Mövzunun aktuallığı. Müasir dövrdə orqan transplantasiyasının əsas problemlərindən biri toxuma uyğunsuzluğu nəticəsində köçürülən orqanın yaşama qabiliyyətini itirməsidir (Fourati H., Mahfoudh N., Abida O. et al., 2011; Luckey D., Bastakoty D., Mangalam A., 2011; Smagina I., Elchaninova S., Zolovkina A. et al., 2011). Transplantalogiya praktik təbabətin bir sahəsi kimi 1954-cü ildə amerikalı cərrahlar tərəfindən yerinə yetirilmişdir və onlar bu prosesə uğurla nəticələnən böyrəkköçürmə əməliyyatından başlayıblar (Halim K., Wong D., 1992). Məlumdur ki, o dövrdən indiyə qədər allo- və hetero transplantasiya əməliyyatlarının uğurlu nəticələri donorun və resipiyentin orqanizmləri arasında mövcud olan antigen fərqliliyinin dərəcəsindən, resipiyentin reaktivliliyinin vəziyyətindən, transplantant orqanda “özünükü”nü “yad”dan seçən əsas histouyğunlaşma kompleksinin xüsusi çəkisindən asılı olması elmi ədəbiyyatda öz təsdiqini tapıb (Nuah N., Monique S., 1997; Sato A., Sturniolo T., Sinigaglia F., Stern L 1999; Heinzlef O., Alamowitch S., Sazdovitch V. et al., 2000; Liu X., Tian W., Li L.; 2011 Ben Hamad M., Cornelis F., Mbarek H. et al., 2011; Puschmann A., Verbeeck C., Heckman M. et al., 2011, Gazquez I., Moreno A., Aran I. et al., 2012).

Əsas histouyğunlaşma kompleksi onurğalılarda aşkar edilən və immunitetin yaranmasında əhəmiyyətli rol oynayan bir qrup genlər və ya genomun böyük bir sahəsini təşkil edir (Məmmədov Z.M, Axundov R.M. 2008; Briffa C. 1985; Bodmer W., Bodmer J. 1988; Braunwald E., Fauci A., Kasper D. et al., 2001). Kompleksə daxil olan genlər hüceyrə membranında yerləşən zülalları kodlaşdırır, orqanizmə düşmüş antigenlərin T-limfositlərə təqdim olunmasını təmin edirlər. İnsanda bu genlər qrupu 6-cı xromosomun kiçik çiyində (6p₂₁) yerləşərək HLA (*ing. Human Leucocyte Antigen*) genləri və ya “İnsanın Leykosit Antigeni” adlandırılırlar (Ishikawa I., Umeda M., Laosrtsin N., 1994; Pociot F., Ronningen K., Bergboldt R. et al., 1994; Liu X., Cheng R., Verbitsky M. et al., 2011; Ruiz-Narvaez E., Fraser P., Palmer J. et al., 2011). HLA genləri qlikoproteinlərdən ibarət olub, bütün hüceyrələrin membranının səthlərində yerləşir və hər bir orqanizmin bioloji fərdiliyini təmin edirlər (Braun-Peterson G., Lamm L., Srensen I., Buskjaer L., 1991; Bonfil J., Didier F., Mercier P. et al., 1999; Chen J., Zhou L., Huo Z. et al., 2011; Durmanová V., Tirpakova J., Stuchlikova M. et al., 2011). HLA genlərinin konsentrasiya və ekspressiyası bütün orqanlarda eyni dərəcədə olmur. Belə ki, bu kompleksin genləri dəridə nisbətən çoxluq təşkil edirlər. Onlar

ağciyərlərdə, qaraciyərdə, böyrəklərdə, bağırsaqlarda, ürəkdə və damarlarda nisbətən az rast gəlinir. HLA genlərinin ən az konsentrasiyası isə mərkəzi sinir sisteminin hüceyrələrinin membranlarında müşahidə edilmişdir (Greer C., Lund J., Manos M., 1994; Chuang L., Wu H., Tsai W. et al., 1995; Heinzlef O., Alamowitch S., Sazdovitch V. et al., 2000; Hajjej A., Hajjej G., Almawi W. et al., 2011). Bu səbəbdən də transplantasiya əməliyyatları zamanı toxuma uyğunsuzluğunun dərəcəsini orqanlarda HLA genlərinin ekspressiya və konsentrasiyası ilə müəyyən etmək olur.

Qeyd edilənləri nəzərə alaraq belə bir fikir söyləmək olar ki, HLA genlərinin öyrənilməsi istiqamətində atılan hər bir addım orqanköçürmə əməliyyatlarının uğurla başa çatdırılmasını təmin edə bilər.

Digər tərəfdən sübut edilmişdir ki, bir sıra xəstəliklərin etiologiyasında HLA sisteminin müxtəlif lokuslarının allelləri mühüm rol oynayırlar (Bodmer W., Bodmer J., 1988; Doxiadis I., De Lange P., De Vries E. et al., 2001; Schadlow M., 2003). Bu səbəbdən də HLA genlərinin allellərinin əhali arasında yoxlanılması nəticəsində əldə olunan məlumatlara əsasən müəyyən ərazidə yaşayan insanların qeyd olunan xəstəliklərə nə dərəcədə meyilli olması haqqında mülahizə yürütmək olar.

Bütün bunları nəzərə alaraq, Azərbaycanın paytaxtı Bakı şəhərində yaşayan əhalinin bir qrupunda HLA genlərinin skrininqi istiqamətində elmi-tədqiqat işi aparmağı qərara aldıq.

Tədqiqatın məqsəd və vəzifələri. Tədqiqatın məqsədini Azərbaycan Respublikası Bakı şəhəri əhalisinin nümayəndələri arasında HLA genlərinin ən geniş yayılmış formalarının öyrənilməsi təşkil edir.

İşin məqsədinə nail olmaq üçün aşağıdakı **vəzifələrin** yerinə yetirilməsi qarşıya qoyulmuşdur:

1. Tədqiq olunan şəxslər arasında HLA genlərinin I sinif lokuslarının ən geniş yayılmış allelləri və tiplərini təyin etmək, həmçinin tezliyini hesablamaq;
2. Tədqiqata cəlb edilmiş şəxslərdə HLA genlərinin II sinif lokuslarının ən geniş yayılmış allelləri və tiplərini təyin etmək, rastgəlmə tezliyini müəyyənləşdirmək;
3. Orqan transplantasiyalrından əvvəl HLA genlərinin əsas tiplərinin təyini məqsədilə aparılan laborator analizlər sistemini təşkil etmək;
4. HLA genlərinin müxtəlif lokuslarının allelləri arasında ən geniş yayılmış haplotip sıxlıqlarını təyin etmək və hesablamaq;
5. HLA allelləri ilə əlaqədar yaranan bəzi genetik xəstəlikləri öyrənilən qrup fərdlərində araşdırmaq;

6. HLA genlərinə dair alınmış dəlillərlə ədəbiyyat məlumatları arasında müqayisəli təhlillər aparmaq;

İşin elmi yeniliyi. Transplantasiya əməliyyatlarından əvvəl HLA I sinif genlərinin A,B,C lokuslarında və HLA II sinif genlərinin isə DRB1 lokusunda kodlaşdırılan allellərin rastgəlmə spektri müəyyən edilmişdir.

HLA I sinif genlərinin A, B, C və HLA II sinif DRB1 lokusları üçün tərəfimizdən əldə olunmuş dəlillərin ədəbiyyat mənbələrində olan məlumatlarla müqayisəsi nəticəsində ilk dəfə olaraq belə bir nəticəyə gəlinmişdir ki, tədqiqat obyektlərində təyin olunmuş HLA genlərinin allelləri qafqazlılar populyasiyasının nümayəndələrində indiyə qədər aşkar olunmuş müvafiq allellərə uyğundur.

Tədqiqatın elmi-praktik əhəmiyyəti. HLA genlərinin öyrənilməsi nəticəsində tərəfimizdən əldə edilmiş məlumatlardan orqan transplantasiyalarının mümkünlüyünün təyin edilməsində və belə əməliyyatların proqnozlaşdırılmasında istifadə oluna bilər.

HLA allelləri ilə əlqədar yaranan genetik xəstəliklərin tərəfimizdən seçilmiş tədqiqat obyektlərində rast gəlinməsinə dair əldə etdiyimiz məlumatlardan belə xəstəliklərin əhali arasında yayılma meyilliliyinin təyin edilməsində praktiki istifadəsini zəruri hesab etmək olar.

Dissertasiya işinin müdafiəyə çıxarılan əsas elmi müddəaları:

1. Öyrənilən qrup nümayəndələrində HLA I sinif genlərinin A lokusunda tədqiq edilmiş 25 alleldən 23-ü mövcuddur. Ən çox müşahidə edilən allellər A2, A3 və A24, ən az müşahidə edilən allellər A9, A35 və A74, ümumiyyətlə rast gəlinməyən allellər isə A36 və A80-dir.
2. Tədqiqat obyektlərində HLA I sinif genlərinin B lokusunda tədqiq edilmiş 45 alleldən 34-ü mövcuddur. Ən çox müşahidə edilən allellər B13, B35 və B51, ən az müşahidə edilən allellər B40, B42, B46, və B73, ümumiyyətlə rast gəlinməyən allellər isə B48, B54, B59, B61, B63, B64, B65, B67, B75, B76 və B82-dir.
3. Öyrənilən qrup nümayəndələrində HLA I sinif genlərinin C lokusunda tədqiq edilmiş 7 allellin hamısı mövcuddur. Ən çox müşahidə edilən allellər CW4 və CW7, ən az müşahidə edilən allellər isə CW3 və CW5-dir .
4. Tədqiqat obyektlərində HLA II sinif genlərinin DRB₁ lokusunda tədqiq edilmiş 13 allellin hamısı mövcuddur. Ən çox müşahidə edilən allellər DRB₁*03, DRB₁*07, DRB₁*11, DRB₁*13 və DRB₁*15, ən az müşahidə edilən allel isə DRB₁*09-dur.
5. Tədqiqat obyektlərində HLA I və II sinif genlərinin müxtəlif allelləri arasında, ən çox müşahidə edilən haplotip sıxlıqları ardıcılıqla A11-

B35-C_w04, A11-B51-DRB1*15, A02-B51, B35-CW04 və B08-DRB1*03 olmuşdur.

- Öyrənilən qrup nümayəndələrində HLA genlərinin ən çox müşahidə edilən allelləri (B₃₅, B₅₁ və II sinif DR₃) təyin olunduğu üçün belə bir nəticəyə gəlinmişdir ki, tədqiqat obyektləri arasında qeyd edilən allellərlə əlaqədar yaranan xəstəliklərə qarşı daha çox meyillilik vardır.

Nəşrlər :Dissertasiya işinə aid 10 elmi əsər nəşr olunmuşdur, onlardan 6-sı jurnal məqaləsidir.

Dissertasiya işinin müzakirəsi. İşin əsas müddəaları və alınmış nəticələr haqqında Bakı Dövlət Universitetində keçirilmiş respublika elmi-praktik konfransda (Bakı, 2008); Bakı Dövlət Universitetinin 90 illik yubileyinə həsr olunmuş Beynəlxalq elmi konfransda (Bakı, 2009); Akademik A.Qarayevin anadan olmasının 100 illik yubileyinə həsr olunmuş elmi-praktik konfransda (Bakı, 2010) elmi məruzələrlə çıxışlar edilmişdir. Həmçinin kafedralarası elmi konfransda (Bakı, 10.09.2010), eləcə də ATU-da fəaliyyət göstərən FD 03.013 şifrli dissertasiya şurası nəzdindəki aprobasiya şurasının seminarında (Bakı, 04.06.2012) dinlənilmiş və müzakirə olunmuşdur.

Dissertasiyanın quruluşu və həcmi. Dissertasiya işi 174 səhifəni əhatə etməklə “Giriş”, “Ədəbiyyat icmalı”, “Tədqiqatın material və metodları”, “Tədqiqatın yekunları və onların müzakirəsi”, “Nəticələr”, “Praktiki tövsiyə” bölmələrindən və ədəbiyyat siyahısından ibarətdir. Ədəbiyyat siyahısına işdə istinad edilmiş 311 mənbə daxildir. Dissertasiya işində 26 cədvəl və 22 şəkil verilmişdir.

TƏDQIQAT İŞİNİN ƏSAS MƏZMUNU

Material və metodlar. Tədqiqat obyekti kimi, orqan transplantasiyalarında, xüsusilə, böyrək transplantasiyalarından öncə İran İslam Respublikası Qırmızı Aypara Cəmiyyətinin Bakıdakı klinikasına müraciət etmiş və yaş həddi 15-57 arasında tərəddüd edən 314 sağlam donordan istifadə olunmuşdur ki, onların da arasında 195 nəfəri kişi, 119 nəfəri qadın olmuşdur.

Bir sıra xəstəliklər HLA allellərinin xüsusi tiplənmələri ilə əlaqədar yarandığı üçün tədqiqat obyekti olaraq sağlam donorlarla apardığımız sorğular əsas kimi götürülərək, xəstələr və sağlam donorlardan onların anadan olduqları yeri, ünvanları haqqında məlumatlar toplanılmışdır.

Donorların bir hissəsi hal-hazırda Bakı şəhərində yaşadıklarına baxmayaraq, Azərbaycan Respublikasının müxtəlif regionları və şəhərlərində anadan olmuşlar.

Tədqiqatda son illərdə Ümumdünya Sağlamlıq Təşkilatı tərəfindən qəbul olunmuş və təsdiqlənmiş metodlar əsasında seroloji və molekulyar identifikasiya üsullarından istifadə edərək sağlam donorlar üzərində mikrolimfositotoksit üsulu ilə HLA genlərinin I sinif və PZR üsulu ilə HLA genlərinin II sinif molekullarının identifikasiyası həyata keçirilmişdir

HLA I sinif genlərinin skriningi. İlk olaraq analiz apardığımız şəxsdən 4 ml qan götürülür, xüsusi EDTA-lı sınaq şüşələrində qarışdırılır, sonra 2 ml NaCl məhlulu 2 ml qan ilə qarışdırılır və bu tərkib 2 ml Ficol məhlulu üzərinə xüsusi formada əlavə edilir. Daha sonra bu məhlul müəyyən zaman və dövr ərzində 2 mərhələdə sentrafuqa edilir və sınaq şüşəsində limfositlər qatı əldə edilir..

Bu mərhələdən sonra pipet pastör vasitəsilə nazik və zərif limfositlər qatı ehtiyatla götürülür və üzərinə 2 ml HBSS məhlulu tökülür. Sonra üç mərhələdən təşkil olan yuma mərhələləri aparılır. İlk olaraq, limfositlər və HBSS üzərinə NaCl məhlulu əlavə edilir və sentrofuqadan keçirilir. Sonra sentrofuqadan alınmış üst qat atılır və çöküntüsü Şeyker vasitəsilə ayrılır, yenidən üzərinə HBSS məhlulu əlavə edilir, sentrofuqadan keçirilir. Təkrarən məhlulun üst qatı atılır və onun çöküntüsü saxlanılır. Yuma mərhələlərinin üçüncü dəfəsində eritrositlərin yuyulması üçün üzərinə bir neçə ml ddH₂O (deonizə və distillə olunmuş su) əlavə edilir və bir neçə dəqiqədən sonra onun da üzərinə yenidən tris-Hanks məhlulu əlavə edilərək, sentrofuqadan keçirilir. Sentrofuqadan alınmış məhlul bütünlüklə atılır və çöküntüsü ayrılır. Onun üzərinə 300-500 mikrolitr Hanks əlavə edilir. Əldə olunan bu hüceyrələr limfosit suspenziyası adlanır.

Limfosit suspenziyasının hüceyrə balansının tənzimi. Hər fərd üçün lazım olan limfositlərin sayı hər bir analiz üçün 1,5-2 milyon hüceyrə olmaq şərti ilə lazımdır ki, bu da Qaryayev kamerasında (Neobar şüşələrində) mikroskopla saydıqdan sonra əldə edilir.

Qeyd etmək lazımdır ki, müəyyənləşmiş miqdardan az sayda hüceyrə yalançı pozitivlik və müəyyənləşmiş miqdardan çox sayda olan hüceyrə isə yalançı neqativlik problemlərini yarada bilər. Məhz bu fakta əsasən, hüceyrələrin əldə edilməsindən sonra, onların sayının təyini analiz prosesində çox mühüm rol oynayır.

HLA tiplənmələrinin təyini üçün lazım olan plənşetləri və onların monoklonal anticisimlərini təmin etdikdən sonra hər bir xəstədən əldə etdiyimiz ağ hüceyrələr suspenziyası (say baxımından tənzimlənib)

Hamilton şprisi ilə bir mikrolitr hər bir xanaya əlavə edilir. Sonda pozitiv və neqativ göstəriciləri də əlavə edilir.

Təbii ki, HLA genləri lokuslarının məhsulları hər bir xanada alınmış limfositlər üzərində mövcuddurlar və onlar orada monoklonal anticisimlərə olan reaksiyaya qarşı hazırlanırlar. Bu əlavə edilmələrindən sonra bütün ştativ şeyker üzərində yerləşdirilir.

Bu zaman ərzində antigen-anticisim reaksiyası həyata keçirilir və əgər limfosit üzərində olan HLA antigeni onun öz anticisimi ilə qarşılaşsın, bu zaman antigen-anticisim kompleksi təşkil olunur və 30 dəqiqədən sonra hər bir xanaya 6 mikrolitr dovşan komplementi əlavə edilir. Komplementin rolu bundan ibarətdir ki, əgər əlavə olunmuş anticismə qarşı antigen olarsa, antigen-anticisim kompleksi təşkil olunur. Komplement antigen-anticisim kompleksinə əlavə edilir və bu sistem hüceyrənin membranına hücum edir. Hüceyrə membranı səthində kiçik dəşiklər əmələ gəlir. Bu mərhələdən, yəni komplementi əlavə etdikdən sonra bir saat ərzində plənşetlər (üzərində HLA-antigenləri olan limfosit hüceyrələri+HLA anticisimləri+komplement) şeyker üzərinə qoyulur və bu zaman kəsiyində qeyd edilən reaksiyalar həyata keçirilir.

Komplement mərhələsindən sonra hər bir xanaya iki mikrolitr eozin boyağı əlavə edilir, 2-3 dəqiqədən sonra 8-10 mkl 37%-li formaldehid fiksatoru 7,2 PH- ilə əlavə edilir və 24 saat soyuducuda qaldıqdan sonra plənşetləri İnvert mikroskopu ilə oxumaq mümkün olur.

Bu mərhələdən sonra çarpaz reaksiyaların sxeminə baxaraq, allellərin təyininə başlanılır və hər bir şəxsə olan allellər təyin edilir. Normal halda hər bir insanın lokusunda iki forma allel heteroziqot halında müşahidə edilməlidir. Lakin əgər bir fərdin bir lokusunda allellərinə görə homoziqot olarsa, bu zaman həmin lokusda bir allel müşahidə edilməlidir. HLA genlərinin I sinfinin ABC lokuslarına görə 6 müxtəlif allel müşahidə edilir.

HLA genlərinin I sinfinə aid olan A, B və C lokusların identifikasiyasında istifadə edilən Almaniyanın BAG-Healthcare firmasının reaktiv dəstlərində onun xüsusi ştativlərində monoklonal anticisimlərin qoyulma formasına aid cədvəllər mövcuddur.

HLA II sinif genlərinin skriningi. Zəncirvari polimeraz reaksiyası (PZR) bir fermentativ reaksiyaya işarə edir.

HLA II sinif genlərinin yoxlanılması üçün HLA I sinif genlərinin təyini üçün müraciət edən 314 nəfər sağlam donörler arasından təsadüfi seçilib və HLA II sinif analizi üçün istifadə edilmişdir.

Qeyd edilən fərdlər üçün ilk 5-10 ml EDTA-lı qabda qan nümunəsi alınıb və qanın limfositlərindən DNT molekulunun çıxarılması prosesi

aparılıb. DNT çıxartma reaktiv dəsti Almaniyanın Roche firmasının istehsalı olan Roche-High Pure PCR Template Preparation kit dəstindən istifadə edilmişdir.

Pre-PZR mərhələsi və ya PZR-dən öncəki mərhələ. Bu mərhələdə hər bir PZR analizində bir master-mix hazırlanır ki, burada master-mix Reactiv dəstində hazır olur. Ancaq ona Tag – DNT polimeraza fermentini əlavə etmək lazımdır. Master-mix məhlulunun tərkibində $MgCl_2$, bufer 10x, DNTp (dezoksinukleotid trifosfat), önə və arxaya hərəkət edən praymerləri və bu mix olunmuş dəstə biz Tag-polymeraza fermenti əlavə edirik.

Nəhayət, apardığımız PZR analizlərində 150 mkl DDW (distilledionised water) + 69 mkl master-mix + 2 mkl Tag polymeraza fermenti + 40 mkl DNT əlavə edilir və reaktiv dəstinin hər bir alleli üçün nəzərdə tutulmuş hər bir xanaya görə 10 mkl əlavə edilir. Qeyd etdiyimiz kimi, bu analizlərdə Almaniyanın Haydel-Berg reaktiv dəstlərindən istifadə olunmuşdur ki, DRB₁ lokusunun allellərinin təyini üçün 23 cüt praymer 23 ayrı-ayrı mikrotuba doldurulur və istifadə edilir.

PZR mərhələsi. Bu mərhələdə bütün mikrotublarnın qapağını möhkəm bağlanılır, PZR amplifikatoru proqramlaşdırılır və aparılan müayinələrdə bu proqramın göstəriciləri qeyd edilir:

Denaturasiya	→ 94°C – 15 san.
Yapışma	→ 61°C – 50 san.
Çəkilmə	→ 72°C – 30 san.
Saxlama	→ 4°C – 15 dəq.

Elektroforez mərhələsi. PZR mərhələsindən sonra əldə edilənlərin nədən ibarət olduğunu təyin etməkdən ötrü PZR məhsulu aqaroza gelinin üzərində elektroforez edilir və nəticə UV (ultra bənövşəyi) işığının altında müşahidə edilir.

HLA II sinif nəticələrini üzə çıxarmaq və onun düz olub-olmamasını yoxlamaq üçün əvvəla bütün xanalarda daxili nəzarət elementinə düzgün əməl edilməlidir. Bu zaman biz işin təsdiqini həyata keçiririk. Əgər bütün daxili nəzarətlər doğru çıxır və iki allel müşahidə edilirsə, bu zaman fərd HLA genlərinin II sinfi üçün heteroziqot sayılır. Lakin əgər bütün daxili nəzarətlər cavab verirsə və nəticələri də bir allel müşahidə edilirsə, nümunə homoziqot sayılır. Əgər 24 PZR xanalarından bəzi xanalarda daxili nəzarətlər müşahidə edilmirsə, yalnız həmin xanaları təkrarlamaq lazımdır. Aşağı seçicilik qabiliyyətli reaktiv dəstindən istifadə etdikdə, biz hər bir allel üçün yalnız iki nömrə qeyd edə bilərik. Məsələn, DRB₁*03 və bununla bərabər onunla hərəkət edən allelin təsdiqindən istifadə edilməlidir.

Nəticədə, bir HLA II sinif analizinin təsdiqi üçün II variantdan istifadə edilir.

I. Daxili nəzarətdə reaktiv dəstindəki böyümə hormonunun genindən istifadə olunur.

II. Allellərin bir-biri ilə nisbi hərəkətinin müşahidə edilməsindən istifadə olunur.

Hesablama üsulları: Tədqiqatın dissertasiyada verilən nəticələr fəslinin 3.1, 3.2, 3.3 və 3.4 cədvəllərinin təhlili göstərir ki, onların 3-cü və 4-cü sütununda müvafiq olaraq, hər bir allellin pozitiv sayı ümumi nümunə bazasının bölünməsi sayəsində əmələ gəlir və aşağıda onun müvafiq düsturu göstərilib:

$$\text{Allell və ya antigen tezliyi} = \frac{n}{N}$$

Burada: n – antigen tezliyi;

N – ümumi nümunə bazası.

Gen tezliyi Hardy-Weinberq düsturu ilə hesablanmışdır.

$$GF = 1 - \sqrt{1 - AF}$$

Burada: GF gen tezliyini və AF antigen tezliyini göstərir.

Dissertasiyada verilmiş cədvəl 3.5, 3.6 və 3.7-də verilən digər hesablamalarda genetik məsafənin ölçülməsi üçün aşağıdakı düsturdan istifadə edilmişdir.

$$d_{1,2} = \frac{\sum \sqrt{(P_1 - P_2)^2}}{n}$$

Burada: $d_{1,2}$ – I və II obyektlər arasında olan genetik məsafənin,

P_1 ; P_2 – tədqiqatda allel tezliyinin,

n – müqayisə edilən cüt allellərin sayının göstəricisidir.

Tədqiqatda haplotip sıxlıqları (HF), ilişkililikdə tarazlığın pozulması (LD), nisbi ilişkililikdə tarazlığın pozulması (RLD), və (p) dəyəri populyasiya genetikası proqramı (Arlequin V 1.1) ilə hesablanmışdır. Alınmış nəticələrin ədədi qiymətlərinin statistik işlənməsi parametrik (t-Styudent) və qeyri-parametrik (U-Uilkokson (Manna-Uithi)) üsullarla aparılmışdır: $p < 0,05$ olduqda qruplar arasında fərq dürüst hesab olunmuşdur.

TƏDQIQATIN YEKUNLARI VƏ ONLARIN MÜZAKİRƏSİ

Müxtəlif genetik sistemlərin müqayisəsində müşahidə edilmişdir ki, immun sisteminin genetikasının nəzarətedilmə və nəzarət funksiyası başqa genetik sistemlərdə ümumiyyətlə ya mövcud deyil və ya əgər mövcuddursa, çox az dərəcədə nəzərə çarpır. İmmun sisteminin genetikasında müşahidə edilən bu yüksək dərəcəli adaptiv qabiliyyətlər kodlaşmış zülalların geniş formada üzə çıxmasında və həmçinin az sayda gen lokuslarından yüksək miqdarda zülal ehtiyatının formalaşmasına səbəb olur (Bonner J., Terasaki P., 1978; Dostrowsky A., 1996; Gharavi A., Kiryluk K., Choi M. et al., 2011; Luckey D., Bastakoty D., Mangalam A., 2011).

Bir sözlə, immun sisteminin genləri təkcə kliniki baxımdan transplantasiyaların nəzarət edilmələrində deyil, habelə autoimmun xəstəliklərində, infeksiyalara qarşı reaksiyalarda və bir sıra genetik xəstəliklərin yaradılmasında mühüm rol oynayır. Major histocompatibility kompleks (MHC) və ya əsas histouyğunluq kompleksinin genləri 6-cı xromosomun qısa çiyində bir qrup və ya klaster formasında yerləşirlər (Əyyubova A.A., Nəsrullayeva G.M., 2007; Mobbini N., Yunis E., Ahmed A., 1997; Kim S., Hong M., Shin M. et al., 2011).

Bu genlər struktur və funksiyalarına görə üç sinfə bölünürlər. Onların hər biri çox polimorf genetik sistem sayılır. Bu siniflərdən I və II sinif öz əhəmiyyətinə görə birinci kəşf edilmişdir. MHC genlərinin məhsulları və ya antigenləri insanda ilk dəfə olaraq leykositlər üzərində kəşf edilmişdir. Məhz ona görə də ona insanda HLA və ya human leykosit antigen adı verilib. Bir sıra hüceyrələr səthində yerləşən və kodlaşdırılan zülallar HLA I sinif və II sinif genləri tərəfindən kodlaşdırılıb. Bu gen məhsulları bir immun reaksiyasının başlanmasında və xüsusi ilə bir antigenin T-limfositlərə, o cümlədən CD_4^+ CD_8^+ limfositlərinə təqdim edilməsində böyük rol oynayırlar. Belə ki, T-limfosit hüceyrəsi immun sistemində hüceyrə səthində olan HLA-antigen kompleksi ilə birləşdiyi zaman bir antigeni tanımaq və cavab vermək qabiliyyətinə malik olur (Mayer R., Bernoco B., Be Maihi, Ceppellini R., 1993; Stimac D., Grubic Z., Stingli K. et al., 2011; Szczypiorska M., Sanchez A., Bartolome N. et al., 2011).

HLA kompleksinin birinci sinfi HLA-A, HLA-B və HLA-C lokuslarına bölünür. Bədəndə sinir toxuması hüceyrələrindən başqa bütün hüceyrələr üzərində bu gen lokuslarının kodlaşdırdığı məhsullar müşahidə edilir. HLA I sinif genləri 6-cı xromosomun qısa çiyində telometrik ucunda yerləşirlər və bir sıra hüceyrə səthinin molekullarını kodlaşdırırlar. Bu HLA molekulları hüceyrədaxili mənşəli antigenləri o cümlədən virus

mənşəli, parazitik mənşəli və ya şiş mənşəli antigenləri T-CD₈⁺ finotipində olan limfositlərə təqdim edir (Auffery, Strominger J., 2003; Jiang Y., Chen S., Jia S. et al., 2011; Mobbini N., Yunis E., Ahmed A., 1997).

HLA I sinif genlərinin məhsulu olan hüceyrə səthinin molekulları və ya antigenlər iki polipeptid zəncirdən təşkil olunublar: birincisi, MHC molekulları tərəfindən kodlaşdırılan ağır zəncirdir. Bu zəncir α zənciri adlanır və ikinci zəncir isə MHC regionundan xaric olan və 15-ci xromosom üzərində yerləşən gen sahəsinin vasitəsilə kodlaşan β_2 -mikroglobulin zəncirindən ibarətdir. Bu iki zəncir qeyri - kovalent birləşmələri ilə bağlıdır. Belə ki, α zənciri üç müxtəlif həlqədən (α_1 , α_2 , α_3) təşkil edilmişdir; α_1 və α_2 həlqələri zəncirin aminli ucunda yerləşirlər və hər biri təxminən 90 amin turşusundan ibarətdir. Qeyd olunan polimorf amin turşuları I sinif molekullarının arasında olan müxtəlifliyin məhsulu sayılır, α_3 həlqəsi isə monomorf sayılır və CD₈ limfositin birləşməsinə təmin edir (Bunce M., Neill C., Bamardo M. et al., 1995; Kuby J., 1997; Cooper G., Miller F., Pandey J., 1999).

Bundan əlavə, β_2 mikroqlobulin zənciri isə monomorf sayılır və bu zəncirin bütün I sinif molekullarında amin turşularının ardıcılığı sabit müşahidə edilir. HLA II sinif lokusu bir neçə regiondan təşkil olunub və bu lokuslar HLA-DP, HLA-D_Q və HLA-DR antigenlərini kodlaşdırırlar. Bundan əlavə, bir sıra polimorf zülallar, o cümlədən, TAP və LMP zülallarını bu gen sahəsindən kodlaşdırırlar. Qeyd edilən zülallar hüceyrə səthində olan molekullardan sayılırlar. Lakin antigenlərin yoxlanılmasında, onların kiçik peptid sahələrə çevrilməsində və HLA molekullarına təhvil verməkdə mühüm rol oynayırlar. II sinif genləri VI xromosomun sentromik ucunda (6P) yerləşirlər və üç lokusa bölünürlər. Bu da DP, D_Q və DR lokusları ilə adlandırılır. DP və D_Q lokuslarının ortasında LMP-TAP və bir neçə başqa genlər yerləşir. HLA II sinif genlərinin kodlaşdırdığı molekullar ümumiyyətlə dendritik hüceyrələr, makrofaqlar, B-limfositləri və bir neçə başqa immun sistemi hüceyrələri üzərində bəyan edilir. Bu molekullar və ya II sinif genləri məhsulları hüceyrə xaricində olan antigenləri və parçalanmış antigenləri CD₄⁺ fenotipində olan T-limfositlərə təqdim edirlər (Dorman J., La Perte R., Stone R., 1990; Hitman G., Metcalfe K., 1993; Hart P., Zhang Y., Firatli E. et al., 2000; Cha C., Sohn Y., Oh H. et al., 2011).

Bu molekullar iki polipeptid zəncirindən, o cümlədən, α (32-34 kd kütləsində) və β (29-32 kd kütləsində) zəncirlərindən təşkil edilmişdir. I sinif genlərinin əksinə, hər iki zəncir II sinif molekullarında MHC regionu tərəfindən kodlaşdırılır ki, bu iki zəncir qeyri-kovalent birləşmələri ilə

əlaqədə olurlar. MHC molekullarının II sinfinin zəncirləri (α və β) endoplasmik şəbəkəsində istehsal olunduqdan sonra endozomaya buraxılır. II sinif heterodemerləri bir sabit zülalla (I i) birləşirlər (invariant Protein) ki, bu zülal DM zülalı vasitəsilə ortadan götürülməli və bundan sonra II sinif molekulu endositoz olunmuş zülalın peptid qalıqlarına birləşə bilər [Zamani M., Gu X., Spaepen M. et al., 1995; Bitti P., Murgia B., Ticca A. et al., 2001; Tenner E., 2005; Almeida C., Bronke C., Roberts S. et al. 2011; McElroy J., Isobe N., Gourraud P. et al., 2011; Fernando M., Freudenberg J., Lee A. et al., 2012].

Beləliklə, apardığımız tədqiqatlara əsasən HLA genlərinin I və II sinfinin hər üç lokusuna görə Bakı şəhərində yaşayan və yaş həddi 15-57 arasında tərəddüd edən 314 sağlam azərbaycanlı donorlar arasından seçilmiş şəxslər üzrə əldə edilən nəticələr tədqiqat işinə daxil edilmişdir.

HLA genlərinin I sinfindən A lokusunun 25 allelinə görə seçilmiş donorları arasında 195 nəfəri kişi, 119 nəfəri qadın olmaq şərtilə hesablanmışdır. Qeyd etmək lazımdır ki, bütün hesablamalar kompyuterdə SPSS statistik proqramı ilə aparılmışdır. HLA genlərinin I sinfinə aid olan A lokusuna görə alınmış nəticələrdən məlum olub ki, tədqiqat apardığımız əhali arasında A lokusuna görə ən çox müşahidə edilən allellər A2, A24 və A3 və ən az müşahidə edilən allellər A74, A35 və A9 olmuşdur. Bununla belə, A36 və A80 allellərinə heç rast gəlinmir.

HLA genlərinin I sinfinə aid olan ən polimorf lokus B lokusuna aiddir. Bizim tədqiqatımızda B lokusuna görə 45 allelin nəticələri əks edilmişdir ki, bu 45 allel kliniki baxımdan ən çox əhəmiyyətə malik allellərdən sayılırlar. A lokusunun skriningində istifadə edilən 314 nəfər, eləcə də B lokusunun skriningində istifadə edilmişdir. Bunlardan 195 nəfər kişi və 119 nəfər qadın obyekt bazasını təşkil edir. HLA genlərinin I sinfinə aid olan B lokusuna görə alınmış nəticələrdən məlum olur ki, tədqiqat apardığımız əhali arasında B lokusuna görə ən çox daşıyıcı və ya ən çox müşahidə edilən allel B35, B51 və B13 olmuşdur. Ən az müşahidə edilən allellər isə B46, B73, B42 və B40 allelləri sayılırlar. Qeyd etmək lazımdır ki, B63, B65, B76, B48, B54, B59, B61, B64, B75, B67 və B82 allelləri, ümumiyyətlə, müşahidə edilmirlər.

HLA genlərinin birinci sinfinin C lokusuna görə A və B lokusları daha az allel sayına malikdirlər. Ümumiyyətlə, tədqiqatlarda və klinik yönümlü təcrübələrdə C lokusuna görə 3-4 allel baxılır. Lakin bizim tədqiqatımızda istifadə edilən reaktiv dəstlərində HLA genlərinin I sinfinin C lokusuna görə 7 müxtəlif alleli bir-birindən ayırmaq və seçmək qabiliyyəti mövcuddur. Tədqiqatımızda HLA genlərinin I sinfinin C

lokusuna görə 314 nəfər üzərində təcrübə aparılmış və alınmış nəticələrdən aydın olur ki, HLA genlərinin I sinfinin C lokusuna görə ən çox müşahidə edilən allel CW4 və CW7 olmuşdur və bunun əksinə, ən az müşahidə edilən allel isə CW5 və CW3 olmuşdur.

HLA genlərinin II sinfində üç müxtəlif lokus, yəni, DRB, DP və DQ lokusları mövcuddur ki, bu lokuslar VI xromosomun sentromik ucunda yerləşirlər. HLA-DRB lokusunun identifikasiyasında öncədən şərh verdiyimiz kimi, PZR metodundan istifadə olunur.

DRB lokusunun identifikasiyasında mikrolimfositotoksiti metodlarından istifadə etmək olar. Lakin bu lokusda çarpaz reaksiyaların daha çox olmasını nəzərə alaraq, dəqiq nəticələri əldə etmək üçün və hal-hazırda dünyanın bir çox laboratoriyalarında PZR metodundan istifadə olunmasını nəzərə alaraq, biz tədqiqat üçün qeyd edilən metoddan istifadə etmişik. HLA II sinif genlərinin yayılmasına görə ən çox müşahidə edilən allel tezliyi DRB₁*11, ondan sonra ardıcılıqla, DRB₁*15, DRB₁*13, DRB₁*03 və DRB₁*07 allelləri sayılırlar və buna əks olaraq, ən az müşahidə edilən allel tezliyi isə DRB₁*09 – allelinə məxsusdur.

HLA genlərinin I sinfinə aid olan A, B və C lokuslarına görə alınan nəticələrdən məlum olur ki A lokusuna görə ən sıx və yüksək tezliklə müşahidə edilən allellərin siyahısı A₂, A₃ və A₂₄ olmuşdur və buna əks olaraq ən az və aşağı tezliklə müşahidə edilən allellərin siyahısı A₇₄, A₃₅ və A₉ olmuşdur.

HLA genlərinin I sinfinin lokusu, yəni B lokusunun alınmış nəticələrindən məlum olur ki, bu lokusa görə ən çox və ya ən yüksək gen tezliyinə malik olan antigenlər siyahısında, B₁₃, B₃₅, B₅₁, allelləri olmuşdur və buna əks olaraq ən az və ya ən minimal gen tezliyinə malik olan antigenlər siyahısında B₄₀, B₄₂, B₄₆, B₇₃, allelləri sayılırlar. Bununla belə məlum olur ki, B₆₃, B₆₅, B₇₆, B₄₈, B₅₄, B₅₉, B₆₁, B₆₄, B₇₅, B₆₇ və B₈₂ allellərinin gen tezliyi sıfıra bərabərdir.

HLA genlərinin I sinfinin III lokusu yəni C lokusunun alınmış nəticələrindən məlum olur ki, bu lokusun 7 allelinə görə ən çox müşahidə edilən allel və ya ən çox gen sıxlığına malik olan antigenlərə HLA-CW4 və HLA CW7 aid olmuşdur. Bunun əksinə olaraq, HLA-CW3, HLA CW5 allelləri ən az gen tezliyinə malikdirlər. HLA genlərinin I sinfinin DRB₁ lokusuna görə ən çox rast gəlinən və ya ən yüksək gen tezliyinə malik olan allellərin siyahısında HLA DRB₁*11 və ardıcılıqla sonra HLA-DRB₁*15 HLA-DRB₁*13, HLA-DRB₁*03, HLA-DRB₁*07 allelləri sayılırlar və buna əks olaraq ən az və ya minimal gen tezliyinə malik olan allellərdən HLA-DRB*09-dan da aparmaq olar.

HLA genlərinin birinci sinfindən alınmış nəticələr başqa populyasiyalardan əldə edilmiş nəticələrlə müqayisə edilərək müəyyən edilmişdir ki, Bakı şəhəri əhalisi nümayəndələri ilə ABŞ-da tədqiq edilən qafqazlılar populyasiyası arasında daha çox oxşarlıq müşahidə olunur.

Həmçinin, əldə edilmiş nəticələr və apardığımız müqayisə sayəsində tədqiqat apardığımız obyektlə başqa üç populyasiya arasında genetik məsafə ölçülmüşdür və müəyyən olunmuşdur ki, A lokusuna görə tədqiqat apardığımız obyektlə qafqazlılar populyasiyası arasında genetik məsafə 300 CM, qeyd edilən lokusda bizim tədqiqat apardığımız obyektlə qaradəriliilər arasında 1030 CM və A lokusunun üzərində tədqiq etdiyimiz obyektlə Asiya populyasiyası arasında 647.9 CM genetik məsafə müşahidə edilir. Yekun nəticə olaraq Bakı şəhəri əhalisi nümayəndələrində A lokusuna görə ən az genetik məsafə, bizim obyektlə qafqazlılar populyasiyası arasında müşahidə edilir.

Buna oxşar olaraq, B lokusuna görə tədqiqat apardığımız obyektlə qafqazlılar populyasiyası arasında genetik məsafə 277.2 CM, qeyd edilən lokusda həmin göstərici qaradəriliilər arasında 378.8 CM və B lokusunun üzərində bu göstərici ilə Asiya populyasiyasında 313.6 CM genetik məsafə müşahidə edilir. Yekun nəticə olaraq Bakı şəhəri əhalisi nümayəndələrində B lokusuna görə ən az genetik məsafə bizim obyektlə qafqazlılar populyasiyası arasında müşahidə edilir. Bu baxımdan əldə etdiyimiz nəticələrə əsasən qeyd etmək olar ki, tədqiq etdiyimiz obyektlə Asiya populyasiyası arasında olan genetik məsafə qafqazlılar populyasiyasına görə 36.40 CM daha çoxdur. Həmçinin C lokusuna görə tədqiqat apardığımız obyektlə qafqazlılar populyasiyası arasında genetik məsafə 454 CM, qeyd edilən lokusda həmin göstərici qaradəriliilər arasında 394 CM, C lokusunun üzərində isə bu göstərici ilə Asiya populyasiyası arasında 1048 CM genetik məsafə müşahidə edilir. Yekun nəticə kimi qeyd etmək olar ki, Bakı şəhəri əhalisi nümayəndələrində, A və B lokuslarından fərqli olaraq burada ən az genetik məsafə qaradəriliilər populyasiyası ilə müqayisədə nəzərə çarpır. Bu da sübut edir ki, C lokusuna görə Asiya populyasiyasının genetik məsafəsi qaradəriliilər və qafqazlılardan 3 dəfə artıqdır. Lakin ümumi halda hər 3 lokusun genetik məsafəsini Bakı şəhəri əhalisi nümayəndələrinin göstəriciləri ilə müqayisəli hesablama apardıqda müəyyən olunur ki, ən az genetik məsafə bizim tədqiq etdiyimiz obyektlə qafqazlılar populyasiyası arasında müşahidə edilir. Tədqiq etdiyimiz əhali arasında HLA haplotiplərinin birinci və ikinci siniflərində müxtəlif lokusların arasında fərqli kombinasiyalar nəzərə alınaraq müxtəlif haplotiplərin sıxlıqları hesablanmışdır. Apardığımız tədqiqatda iki və

üç lokuslu haplotiplərin tezliyi HLA A,B,C, HLA A-B-DRB₁, HLA A-B, HLA B-C və HLA B-DRB₁ lokusları üçün hesablanmış və onların nəticələri dissertasiya işinin ayrı-ayrı cədvəllərində verilmişdir ki buna əsasən tədqiqat obyektlərində HLA I və II sinif genlərinin müxtəlif allelləri arasında ən çox müşahidə edilən haplotip sıxlıqları ardıcılıqla A11-B35-C_w04, A11-B51-DRB1*15, A02-B51, B35-CW04 və B08-DRB1*03 olmuşdur.

HLA-genlərinin I və II siniflərinin lokuslarında ən çox müşahidə edilən allellərin identifikasiyasından sonra hansı HLA genləri ilə bağlı genetik xəstəliklərin daha çox yayılma ehtimalı və əhali arasında onlara qarşı hansı profilaktik tədbirlərin görülməsi məsləhət görülür ki, apardığımız tədqiqata əsasən, Bakı şəhəri əhalisi nümayəndələri hipertiroid (B35), Behçət (B51), xroniki autoimmun hepatit (DR3) və birinci növ diabet (DR3) xəstəliklərinə daha çox meyillidirlər. Lakin əhali arasında genetik xəstəliklərə meyillilik faktorlarının təyininə, mühit amillərinin təsirini də nəzərə almaq lazımdır. Buna misal olaraq Azərbaycan Tibb Universitetinin insan anatomiyası kafedrasının müdiri professor V.B Şadlinskiyin (1998) apardığı elmi-tədqiqat işləri nəticəsində Bakı şəhərindəki əhali arasında zob xəstəliyi rayonlardakına nisbətən az müşahidə olunduğu təsdiq edilmişdir. Müəyyən olunmuşdur ki, Bakı şəhərinin dəniz kənarında yerləşməsi bir mühit faktoru kimi mühüm rol oynayır.

NƏTİCƏLƏR

1. Bakı şəhəri əhalisi nümayəndələrində HLA I sinif genlərinin A lokusunda tədqiq edilmiş 25 alleldən 23-ü aşkar edilmişdir. Ən çox müşahidə edilən allellər A2 (20.6%), A24 (15.2%) və A3 (13.3%), ən az müşahidə edilən allellər A74 (0.3%), A35 (0.2%) və A9 (0.2%), ümumiyyətlə rast gəlinməyən allellər isə A36 və A80-dir.

2. Bakı şəhəri əhalisi nümayəndələrində HLA I sinif genlərinin B lokusunda tədqiq edilmiş 45 alleldən 34-ü aşkar edilmişdir. Ən çox müşahidə edilən allellər B35 (20.3%), B51 (16.4%) və B13 (5.2%), ən az müşahidə edilən allellər B46 (0.2%), B73 (0.3%), B42 (0.3%) və B40 (0.3%), ümumiyyətlə rast gəlinməyən allellər isə B63, B65, B76, B48, B54, B59, B61, B64, B75, B67 və B82-dir.

3. Bakı şəhəri əhalisi nümayəndələrində HLA I sinif genlərinin C lokusunda tədqiq edilmiş 7 allelin hamısı aşkar edilmişdir. Ən çox müşahidə edilən allellər CW4 (17.4%) və CW7 (17%), ən az müşahidə edilən allellər isə CW5 və CW3-dür (müvafiq surətdə 4% və 4.8%).

4. Bakı şəhəri əhalisi nümayəndələrində HLA II sinif genlərinin DRB1 lokusunda tədqiq edilmiş 13 allelin hamısı aşkar edilmişdir və ən çox müşahidə edilən allellər DRB₁*11 (23%), DRB₁*15 (16%), DRB₁*13 (12%), DRB₁*03 (11.3%), DRB₁*07 (11%), ən az müşahidə edilən allel isə DRB₁*09-dur (1%).

5. HLA I sinif genlərinin A, B, C və DRB1 lokusları üçün Qafqaz, Qaradəriliilər və Asiya populyasiyaları üzrə ədəbiyyat məlumatları və Bakı şəhəri əhalisi nümayəndələri üzrə bizim tərəfimizdən alınmış nəticələr əsasında hesablanmış orta genetik məsafələrə görə (müvafiq surətdə, 344.7, 600.93 və 669.83 CM) müəyyən edilmişdir ki, Bakı şəhəri əhalisi nümayəndələrinə ən yaxın olanı Qafqaz populyasiyasıdır.

6. Bakı şəhəri əhalisi nümayəndələrində HLA I və II sinif genlərinin müxtəlif allelləri arasında ən çox müşahidə edilən haplotip sıxlıqları ardıcılıqla A11-B35-C_w4 (4.3%), A11-B51-DRB1*15 (3.0%), A02-B51 (6.3%), B35-CW04 (13.4%) və B08-DRB1*03 (5.1%) olmuşdur.

7. Alınmış nəticələrin HLA-genlərinin I və II siniflərinin müxtəlif allelləri ilə müəyyən xəstəliklər arasında müsbət korrelyasiya olmasının ədəbiyyat məlumatları kontekstində müqayisəli təhlili güman etməyə əsas verir ki, Bakı şəhəri əhalisi nümayəndələri hipertiroid (B35), Behçət (B51), xroniki autoimmun hepatiti (DR3) və birinci növ diabet (DR3) xəstəliklərinə daha çox meyillidirlər. Lakin bununla yanaşı əhali arasında genetik xəstəliklərə meyillilik faktorlarının təyində xarici mühit amillərinin təsirini də nəzərə almaq lazımdır.

PRAKTİK TÖVSIYƏ

Bakı şəhəri əhalisi nümayəndələrində HLA genlərinin aşkar edilmiş spektri orqan transplantasiyalarının mümkün olub-olmamasının müəyyənləşdirilməsində və nəticələrinin proqnozlaşdırılmasında istifadə oluna bilər. Bakı şəhəri əhalisi nümayəndələrinin hipertiroid (B35), Behçət (B51), xroniki autoimmun hepatiti (DR3) və birinci növ diabet (DR3) xəstəliklərinə meyilliliyə dəlalət edən müşahidələr müvafiq qabaqlayıcı profilaktik tədbirlərin həyata keçirilməsində istifadə oluna bilər. Nəhayət, HLA genləri allellərinin Bakı şəhəri əhalisi nümayəndələrində yayılma spektri üzrə nəticələr müvafiq HLA bankının yaradılmasında istifadə oluna bilər.

DİSSERTASIYANIN MÖVZUSU ÜZRƏ DƏRC EDİLMİŞ İŞLƏRİN SİYAHISI

1. HLA genlərinin A-1 lokusunun muxtəlif allellərinin rastgəlmə tezliyi /Azərbaycan xalqının böyük oğlu, ulu öndər H.Ə.Əliyevin anadan olmasının 85-ci ildönümünə həsr olunmuş Respublika Elmi Konfransının materialları, Bakı, 2008, s.81-82 (həmmüəllif K.Ə.Əliyeva).
2. Protective and Susceptible HLA class I genes in patient with end-stage Renal Disease // International research journal of Biological Sciences indexed in ISI, Australian. 2008, volume 3(11), p.1344-1346 (həmm.N.R.Farhadi,M.D.Najafzadeh).
3. Major histocompatibility class I genes in the Azerbaijan population / Bakı Dövlət Universitetinin 90 illik yubileyinə həsr olunmuş beynəlxalq elmi konfransın materialları,Bakı , 2009 p.392 (həmm.K.Ə.Əliyeva).
4. Protective and susceptible hla class I genes in patient with end-stage Renal Disease / Bakı Dövlət Universitetinin 90 illik yubileyinə həsr olunmuş beynəlxalq elmi konfransın materialları, Bakı, 2009, p.413-414 (həmm.K.Ə.Əliyeva).
5. Protective and susceptible of HLA-A locus alleles in patient with end stage Renal Disease // Russian journal of modern world,nature & man.Russian,2009, p.5-6 (həmm.K.Ə.Əliyeva).
6. Bakı şəhərinin əhalisində HLA genlərinin I sinfinə aid olan C lokusunun allellərinin genetik polimorfizminin skriningi // Azərbaycan Təbabətinin Müasir Nailiyyətləri, Bakı, 2009, № 4, s. 142-146 (həmm.K.Ə.Əliyeva).
7. Protective and susceptible of HLA-B locus alleles in patient with end stage Renal Disease // Russian journal of modern world,nature & man. Russian, 2009, p.6-7 (həmm.K.Ə.Əliyeva).
8. Bakı şəhərinin əhalisində HLA genlərinin II sinfinin DRB-lokusunun skriningi / Akademik Abdulla Qarayevin anadan olmasının 100 illik yubileyinə həsr olunmuş “XXI əsrdə biologiyanın aktual problemləri” mövzusunda respublika elmi konfransının materialları, Bakı, 2010, s.346-348 (həmm.K.Ə.Əliyeva).
9. Bakı şəhərinin əhalisində HLA genlərinin I sinfindən olan B lokusunun allellərinin genetik polimorfizminin skriningi // Bakı Dövlət Universitetinin xəbərləri, təbiət elmləri seriyası, Bakı, 2010, № 4, s. 52-58 (həmm.K.Ə.Əliyeva).
10. Bakı şəhəri əhalisində HLA genlərinin A lokusunun genetik polimorfizminin skriningi // “Sağlamlıq”, Bakı, 2013, №4 (həmm. K.Ə.Əliyeva)

ПЕЙМАН НАСИР ОГЛЫ ПУРДАВУДАСЛ

СКРИНИНГ ГЕНА HLA НАСЕЛЕНИЯ ГОРОДА БАКУ

РЕЗЮМЕ

Данная диссертационная работа была посвящена определению HLA класса I и II антигена и генных частот среди азербайджаноязычного населения города Баку. Этот ген был назван комплексом генов области HLA или антигеном, находящимся в лейкоцитах человека, расположенный на коротком плече 6-ой хромосомы человека. Он кодирует молекулы клеточной поверхности, специализирующиеся представлять антигенные пептиды Т-клеточного рецептора (TCR) на Т-клеток. Этот ген области массово можно разделить на два общих локуса и они называются HLA I и II класса. Продукты этого гена ответственны за иммунологическую реакцию организма и в ячейке Т-клеточных реакций этого процесса. Было доказано, что важную роль комплекса генов HLA, играет в трансплантации органов. Кроме того, проводимый нами исследования были осуществлены над 314 гражданами Азербайджана, из которых 119 женщин и 195 мужчин. В городе Баку в исследованиях мы использовали метод из микролимфоцито-токсина в HLA I класса скрининг и использование ПЦР или полимеразной цепной реакции метода для HLA класса 2 скрининга. Для того чтобы установить на основе ДНК HLA, были набраны в центральной клинической лаборатории в городе Баку сочетание серологических и молекулярных (последовательность конкретных ССР праймеров) методов HLA I и II класса. В нашем исследовании мы использовали стандартные НИИ микролимфоцито токсина для серологических методов. HLA класса I планшеты были подготовлены компанией BAG-healthcare в Германии. ПЦР было сделано с помощью реактива Рош высокого чистого комплекта выделения ДНК и HLA DRB SSP. В общем, наши результаты показали что, среди 314 здоровых обследуемых, по локусу А HLA класса I наибольшая плотность генов связана с HLA A2, A24, A3 и наименьшая плотность связана с A74, A35 и A9. В локусе В HLA класс I наибольшая плотность генов связана с HLA B35, B51, B13 и наименьшая плотность связана с B46, B73, B42, B40. И в локусе С класса HLA I наибольшая плотность генов связана с HLA CW4, CW7 в количестве 0. 174 и 0,170, и наименьшая плотность связана с CW3 Cw5 в количестве 0. 040 и 0. 048. Также, наши исследования показали, что наибольшая плотность генов HLA класса II были DRB1 * 11 и DRB1 * 15, DRB1 * 13, DRB1 * 03 и DRB1 * 07.

PEYMAN POURDAVOUDASL

SCREENING OF HLA GENE COMPLEX IN BAKU CITY PEOPLE

SUMMARY

The present PhD thesis was devoted to determine HLA class I and II antigens and gene frequencies of people that lived in Baku city capital of Azerbaijan Republic. This gene region was named HLA gene complex or human leukocyte antigen and it was located on short arm of chromosome 6 in human genome. It encodes cell surface molecules specialized to present antigenic peptides to the T-cell receptor (TCR) on T cell. This gene region en masse divided in two common locus and these are named HLA class I and class II that these gene product are responsibility in immunology reaction in organism and in cell and T cell reaction in immunology process however the common role of HLA gene complex is in organ transplantation. In addition in our study group under research constitution of 314 healthy and Azerbaijanian person that their formed of 119 female and 195 male. In our research we use of microlymphocytotoxicity method in about HLA class 1 screening and use of PCR or polymerase chain reaction method for HLA class 2 screening. In order to establish DNA-based HLA typing in central laboratory in Baku city a combination of serological and molecular (sequence specific primers ssp) methods for HLA class I and II. In our research we use N.I.H standard microlymphocytotoxicity was used for serological method in HLA class I plates were prepared from BAG health care company from Germany. PCR was done using Roche high pure DNA extraction kit and HLA DRB ssp. In addition our result on 314 healthy Azerbaijanian person shows that in A locus of HLA class I the most and common frequent related to HLA A2, A24, A3 and least frequent related to A74, A35, A9. In the B locus of HLA class I the most and common frequent related to B35, B51, B13 and least frequent related to B46, B73, B42, B40. In the C locus of HLA class I the most and common frequent related to CW4, CW7 with 0.174 and 0.170 gene frequent, and least frequent related to CW5 v α CW3 with 0.040 v α 0.048. gene frequent. about HLA class II gene frequent our result shows that the most and common gene frequent in Azerbaijanian people that living in Baku city as follows were DRB₁*11 and, DRB₁*15, DRB₁*13, DRB₁*03 v α DRB₁*07.

İXTİSARLARIN SİYAHISI

DNT	– Dezoksinuklein turşusu
DNTP	– Dezoksinukleotidtrifosfat
EDTA	– Ethylen diamintetraacidic acid (Etilendiamintetraasid)
HBSS	– Hanks balanced sodium sitrate
HLA	– Human Leucocyte Antigen (İnsanın leykositar antigeni)
MHC	– Major Histocompatibility complex (Əsas toxuma uyğunluğu kompleksi)
MLC	– Microlymphocytotoxicity method (Mikrolimfositoksit üsulu)
PZR	– Polimeraz zəncirvari reaksiya
UV	– Ultraviolet

Kağız formatı 60x84 ¹/₁₆.
Sifariş 341. Tiraj 100.

Azərbaycan Tibb Universitetinin
mətbəəsində çap edilmişdir.

Tel.: 595-55-76

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
АЗЕРБАЙДЖАНСКОЙ РЕСПУБЛИКИ
АЗЕРБАЙДЖАНСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

На правах рукописи

ПЕЙМАН НАСИР оглы ПУРДАВУДАСЛ

**СКРИНИНГ ГЕНА HLA НАСЕЛЕНИЯ
ГОРОДА БАКУ**

Специальность: 2409.01 – “генетика”

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т
диссертационной работы на соискание ученой степени
доктора философии по биологии

Баку – 2013