

# BİYOTEKNOLOJİ DOKTORA PROGRAMI

## 2018

1. **B\*\*\*\* S\*\*\*\*\* G\*\*\*\*** Sağlıklı, Hiperplazik ve Adenomatöz Paratiroid Dokularında Minör ve Majör Histokompatibilite Antijenlerinin Ekspresyon Miktarlarının Karşılaştırılması

# SAĞLIKLI, HİPERPLAZİK VE ADENOMATÖZ PARATİROİT DOKULARINDA MİNÖR VE MAJÖR HİSTOKOMPATİBİLİTE ANTİJENLERİNİN EKSPRESYON MİKTARLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

## ÖZET

İmmün yanıt hakkında öğrenilen her yeni bilgi; dokulara ait karakteristik özelliklerin, immün yanıtı tetikleme, oluşturma ve devamında gerçekleşen süreçlerin önemini işaret etmektedir. Bir dokuya ait spesifik immün yanıtı anlamak için dokunun immünojenitesinin belirlenmesi gerekmektedir. İmmünojenite bir molekülün immün sistemi nasıl teşvik ettiği veya yanıtı meydana getirme yeteneğinin ifadesidir. Dokuya ait immünojenite kavramı, dokuda bulunan veya sunulan Majör ve Minör Histokompatibilite antijenleri ile tanımlanabilir.

İmmünogenetik araştırmalar sonucunda histokompatibilite antijenleri iki grupta incelenmeye başlanmıştır; majör ve minör histokompatibilite antijenleri. İnsan majör histokompatibilite antijenleri, “insan lökosit antijenleri” (HLA) sistemi olarak bilinir. HLA sistemi 6. kromozomun kısa kolunda bir bölgede yerleşmiş olup 200'den fazla gen bölgesini kodlar ve içerdiği gen bölgeleri ile biyoloji ve tıpta çok büyük etkinliklere sahiptir. Temel rolleri organ ve kemik iliği nakillerinde alıcı ve verici arasındaki uyum veya uyumsuzluğun belirlenmesidir.

Edinsel ve doğal bağışıklık arasındaki ilişki, organ nakillerinde ve aynı zamanda paratiroid naklinin sağ kalım süresini etkiler. Allo-tanıma süreci, antijen sunan hücrelerin peptit/insan lökosit antijen (HLA) kompleksi ile aktive olur ve T lenfositlerinin bulunduğu lenf nodüllerine yönelmesi ile başlar. Alıcının, antijen sunan hücrenin donöre ait dokuyu tanınmasıyla, T lenfositleri aktivasyonu ve migrasyonu rejeksiyonu indükler. Paratiroid nakillerinde, kültüre edilen dokular doku-spesifik lökositten yoksun olarak sayılır ve bu yolla greft sağ kalımının artması hedeflenmektedir.

Paratiroid dokusunun immünojenik özelliklerinin HLA molekülleri açısından iyi taranması hedefiyle sınıf I; HLA-A, HLA-B, HLA-C ve sınıf II; HLA-DR, HLA-DP, HLA-DQ $\alpha$ 1, HLA-DQ $\alpha$ 2 bölgelerinin detaylı şekilde hem protein hem gen ekspresyonları, kültüre edilen paratiroid dokularında araştırılmıştır. Ayrıca, otozomal geçişli minör histokompatibilite SP110 peptidinin varlığı, sağlıklı, hiperplazik ve adenomatöz paratiroid dokularında araştırılmıştır.

Sonuç olarak, HLA-A protein ekspresyonu kültür süresince değişmediği fakat mRNA ekspresyonunun azaldığı gözlenmiştir. HLA-B protein ve mRNA ekspresyonu yalnızca hiperplazik paratiroid dokularında azalmıştır. HLA-C ise protein ekspresyonu açısından zayıf veya belirlenememiştir. Ayrıca HLA-DQ $\alpha$ 2 ve –DR protein ekspresyonları paratiroid hiperplazi ve adenomatöz dokularda yüksek bulunmuştur. Bu sebeple, paratiroid dokuları HLA sınıf II- bağımlı immün yanıt açısından kültüre edilmelerine rağmen potansiyel birer hedef olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte SP110 peptidinin protein ekspresyonları sağlıklı, hiperplazik ve adenomatöz dokularında sırasıyla belirlenememiş veya orta seviyede pozitif ekspresyon göstermiştir.

Diğer araştırılan veriler HLA-DQ ve –DR arasındaki uyumlu ekspresyon sonuçları, paratiroid dokusunun naklinde rejeksiyon/kısa süreli sağkalıma muhtemel bir bağlantı olduğunu ifade ettiği düşünülmektedir. mRNA ve protein

ekspresyonlarındaki farklı sonuçların HLA sınıf I-II moleküllerinin gen ve protein seviyesindeki farklı kontrol edilme süreçlerinden kaynaklandığına işaret etmektedir. Proteinlerin biyokimyasal işleme süreçleri, mRNA ile üretilen protein ekspresyonlarının paratiroid dokularında değişiklik göstermektedir. Nakil öncesinde, paratiroid dokularının HLA sınıf I ve II moleküllerinin ekspresyonları açısından değerlendirilmelidir. Yapılan diğer çalışmalar otozomal geçişli minör histokompatibilite antijeni SP110 peptidinin HLA-A\*03 aleli taşıyan bireylerin dokusuna karşı spesifik olarak makrofajları uyararak immün sistemi aktive ettiği bilinmektedir. Gelecek çalışmalarda SP110 peptidinin paratiroid dokusundaki pozitifliği makrofaj aktivasyonu açısından *in vitro* olarak değerlendirilmelidir.

Bu çalışma Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Birimi tarafından desteklenmiştir (3.2016/7).

# **COMPARISON OF THE EXPRESSION PATTERNS OF MINOR AND MAJOR HISTOCOMPATIBILITY ANTIGENS IN HEALTHY, HYPERPLASIC AND ADENOMATOUS PARATHYROID TISSUES**

## **SUMMARY**

As we learn more about how immune response occurs, it is becoming clear that the characteristics of the tissue can be important as immune cells determines the initiation and progression of an immune response. A formal definition of immunogenicity can be stated as “the ability of a molecule to provoke an immune response or the strength of an immune response”. Tissue-specific immunogenicity can be characterized by the determination of Major Histocompatibility Complex and Minor Histocompatibility Antigens as well.

The immunogenetic studies of histocompatibility antigens categorized into two groups; major and minor histocompatibility antigens. Human major histocompatibility antigens are known as "human leukocyte antigen" system. The human leukocyte antigen complex is located within the short arm of human chromosome 6 and contains more than 200 genes, has important activities in biology and medicine with the gene regions of diverse function. The major role in medicine is the donor selection in organ and stem cell transplantation.

The coordination between innate and adaptive immunity eliminates the survival of organ transplantations as well as parathyroid transplantations. In allorecognition, antigen presenting cells activated by peptide/human leukocyte antigen (HLA) complex and thus changing its course through lymph nodes where T cells reside. Once the recipient antigen presenting cells recognize donor tissue, this leads to activation and migration of T cells where they promote rejection. In solid organ transplantation, cultured tissue cells were presumed as passenger-leukocyte free which ensures prolonged graft survival.

With the aim of understanding and characterization of parathyroid gland immunogenicity; the both protein and gene expression patterns of major histocompatibility antigens class I; HLA-A, HLA-B, HLA-C and class II; HLA-DR, HLA-DP, HLA-DQ $\alpha$ 1, HLA-DQ $\alpha$ 2 regions were compared in cultured parathyroid cells that derived from healthy, hyperplastic and adenomatous parathyroid tissues. In addition, autosomal restricted minor histocompatibility antigen SP110 protein expression investigated healthy, hyperplastic and adenomatous parathyroid tissues.

As a result, HLA-A protein expression remained the same during culture but mRNA expression decreased. HLA-B protein and mRNA expression decreased only in hyperplasia tissues. HLA-C showed weak/no protein expression for both tissues. In addition, cultured parathyroid tissues are still potential targets for class II-restricted allorecognition even during the culture. Therefore, -DQ $\alpha$ 2 and -DR protein expression was found higher. Besides, parathyroid tissues showed SP110 peptide expression level as follows not detected or moderate in healthy, hyperplastic and adenomatous parathyroid tissues respectively.

In conclusion, HLA class I expression patterns was different at every stage. The change in mRNA levels and protein levels was not correlated in different parathyroid tissues and even during culture. Another outcome that the concordance between HLA-DQ and -DR indicates a possible linkage in rejection/poor graft survival of parathyroid tissue transplantation via allorecognition. This mainly due to

the regulation control at different levels between gene and its protein as well. The biochemical diversity of proteins means that the individual correlation levels with the associated mRNA varies in parathyroid tissues. Parathyroid tissue should be evaluated in detail with this expression patterns of HLA class I and II for allorecognition prior to transplantation. Current studies showed autosomal restricted minor histocompatibility antigen SP110 peptide was found to recognize HLA-A\*03 allele and significantly induces macrophage activation. In future studies, SP110 positivity of parathyroid tissues evaluates for macrophage activation via *in vitro* cell culture system.

Presented work was financially supported by Bezmialem Vakif University Scientific Research Funding Unit (3.2016/7).