

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ADLİ TIP ANABİLİM DALI

TRANSPLANTASYON SONRASI HASTALARIN
KAN, SAÇ VE BUKKAL SÜRÜNTÜ
ÖRNEKLERİNİN DNA PROFİLLERİ

DR. VOLKAN ZEYBEK

UZMANLIK TEZİ

İZMİR- 2012

**T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ADLİ TIP ANABİLİM DALI**

**TRANSPLANTASYON SONRASI HASTALARIN KAN, SAÇ VE
BUKKAL SÜRÜNTÜ ÖRNEKLERİNİN DNA PROFİLLERİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. VOLKAN ZEYBEK

Danışman Öğretim Üyesi

PROF. DR. YÜCEL ARISOY

Bu araştırma DEÜ BAP tarafından 2011KGSAG64 sayı ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa no.
Tablo Listesi	ii
Şekil Listesi	iii
Kısaltmalar	iv
Teşekkür	v
Özet	1
Summary	2
Giriş- Amaç	3-4
Genel Bilgiler	5-23
Gereç Yöntem	24-28
Bulgular	29-41
Tartışma	42-44
Sonuç ve Öneriler	45
Kaynaklar	46-50
Ekler	
(EK 1) DEÜ Girişimsel (İnvaziv) Olmayan Klinik Araştırmalar Değerlendirme Komisyonu'nun izin belgesi	
(EK 2) Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi arşiv tarama izin belgesi	
(EK 3) Adli Tıp Kurumu Başkanlığı izin belgesi	
(EK 4) Aydınlatılmış onam formu	

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa no.</u>
Tablo 1: AmpFISTR® Identifiler® Plus Kit lokusları ve allelleri	27
Tablo 2: Allo PBSCT yapılan hastaların klinik bigileri	29
Tablo 3: Karaciğer transplantasyonu yapılan hastaların klinik bigileri	30
Tablo 4: Karaciğer nakli yapılan hastaların hastalık etiyojilerinin dağılımı	31
Tablo 5: Allo- PBSCT yapılan olguların STR profil sonuçları	32
Tablo 6: Karaciğer transplantasyonu yapılan olguların STR profil sonuçları	32-35
Tablo 7: Allo- PBSCT yapılmış 1. olgunun bukkal sürüntü örneği DNA profili analizi	36
Tablo 8: Allo- PBSCT yapılmış 1. olgunun kan örneği DNA profili analizi	37
Tablo 9: Allo- PBSCT yapılmış 1. olgunun saç örneği DNA profili analizi	38
Tablo 10: Karaciğer nakli yapılmış 26. olgunun kan örneği DNA profili analizi	39
Tablo 11: Karaciğer nakli yapılmış 26. olgunun saç örneği DNA profili analizi	40
Tablo 12: Karaciğer nakli yapılmış 26. olgunun bukkal örneği DNA profili analizi	41

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa no.</u>
Şekil 1. İnsan genom organizasyonunun şematik özeti	6
Şekil 2. Kromozomun yapısı	10
Şekil 3: PCR kullanılarak DNA amplifikasyonun mekanizması	12
Şekil 4: Günümüzde yaygın olarak kullanılan AmpF/STR lokusları	17
Şekil 5: Kapiller elektroforez (CE) sistemi	19
Şekil 6: ABI PRISM 310 Genetic Analyzer cihazında, AmpF/STR SEfiler PCR ürünlerinin, GeneScan Software programında elektroferogram gösterimi	20
Şekil 7: STR allellerini belirleme basamakları	21

KISALTMALAR

allo- PBSCT: Allogenic peripheral blood stem cell transplantation

GVHD: Graft versus host disease

DNA: Deoxyribonucleic acid

RNA: Ribonucleic acid

mRNA: Messenger RNA

VNTR: Variable Number of Tandem Repeats

Bç: Baz çifti

Kb: Kilobazlık

STR: Short tandem repeats

A: Adenin

T: Timin

G: Guanin

C: Sitozin

RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism

PCR: Polymerase chain reaction

Ng: Nanogram

PAGE: Polyacrylamide gel electrophoresis

ISFG: International Society of Forensic Genetics

CODIS: Combined DNA Index System

FBI: Federal Bureau of Investigation

SGM: Second-generation multiplex

ABI: Applied Biosystems

ENFSI: European Network of Forensic Science Institutes

TWGDAM: Technical Working Group on DNA Analysis Methods

CE: Capillary electrophoresis

LIF: Laser-induced fluorescence

SSCP: Single strand conformation polymorphism

AL: Allelic ladder ()

POP-4: Performance Optimized Polymer

DTT: Dithiothreitol

TEŞEKKÜR

Tıp Fakültesi ve uzmanlık eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, eğitim hayatımda önemli bir yeri olan saygıdeğer hocam Prof.Dr. Serpil Salaçin'e çok teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca üzerimde emekleri olan bilgi, deneyim ve ilgilerini benden esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Yücel Arısoy'a, Prof. Dr. Erdem Özkara'ya, Prof. Dr. M. Hakan Özdemir'e, Doç. Dr. Akça Toprak Ergöner'e, Yard. Doç. Dr. Zehra Demirođlu Uyaniker'e ve Yard. Doç. Dr. İ. Özgür Can'a teşekkür ederim.

Tez çalışmamın her aşamasında çok önemli ve değerli katkılarını gördüğüm tez danışmanım Prof.Dr. Yücel Arısoy' ayrıca teşekkür ederim.

Tezimin yürütülmesinde her zaman önemli yardımlarını gördüğüm Karaciğer Nakli Koordinatörlüğü'nde çalışan Dr. Aylın Bacakođlu'na, Adli Tıp Kurumu İzmir Grup Başkanlığı Biyoloji İhtisas Dairesi Laboratuarında çalışan Biyolog Zeynep Irmak'a teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitim sürecimi birlikte paylaştığım değerli asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Beni yetiştiren aileme ve eşim Dr. Selcan Zeybek' e sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Volkan Zeybek

ÖZET

TRANSPLANTASYON SONRASI HASTALARIN KAN, SAÇ VE BUKKAL SÜRÜNTÜ ÖRNEKLERİNİN DNA PROFİLLERİ

Volkan Zeybek, DEÜTF Adli Tıp Anabilim Dalı

Giriş ve Amaç: Adli olgularda kimliklendirme ve babalık/akrabalık incelemelerinde periferik kanın DNA profilleri sık kullanılmaktadır. Çalışmalarda, allo PBSCT ve karaciğer nakli yapılan hastalarda, kan ve bazı dokularda kimerizm geliştiği ve nakil sonrası engrafman ve bazı komplikasyonların tanısında, gelişen kimerizmin analizlerinin önemli olduğu saptanmıştır. Günümüzde transplantasyon geçirmiş hastaların sayısının giderek artması nedeniyle Adli olgularda transplantasyon öyküsünün sorgulanması önem kazanmış ve bu tür olgularda daha doğru sonuç alabilmek için periferik kan yerine bukkal sürüntü örnekleri veya saç foliküllerinin çalışılması gündeme gelmiştir. Çalışmamızda, kök hücre ve organ transplant hastalarında kimerizm analizleri ile kan, saç folikülleri ve bukkal sürüntü örneklerinin adli kimliklendirmede kullanılabilirliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç- Yöntem: DEÜTF Hematoloji Bilim Dalı tarafından allo- PBSCT yapılmış beş hastanın, DEÜTF Genel Cerrahi Anabilim Dalı tarafından karaciğer transplantasyonu yapılmış 35 hastanın kan, saç folikülü ve bukkal sürüntü örnekleri kör olarak incelendi. Örneklerin DNA'ları izole edildikten sonra, belirli kısa ardışık tekrar dizileri, PCR analizi ile çoğaltılıp kapiler elektroforezde genotip tayini yapıldı.

Bulgular: DNA profilleri karşılaştırıldığında; allo- PBSCT yapılan hastaların dördünde kan örneklerinin, saç ve bukkal sürüntü örneklerinden tamamen farklı olduğu, miks kimerizm bulunmadığı belirlendi. Bu üç örneği birbirinin aynı olan tek olguda da engrafman başarısızlığı olduğu ve nakil tekrarı planlandığı öğrenildi. Karaciğer transplantasyonu yapılanlarda DNA profilleri karşılaştırıldığında bir fark gözlenmedi. Karaciğer nakli yapılmış hastaların hiç birinde GVHD gelişmemiş, iki tanesinde akut rejeksiyon gelişmişti.

Tartışma ve Sonuç: Başarılı allo- PBSCT yapılmış kişilerin periferik kan DNA profillerinin donör kimerizmi gösterdiği, bukkal sürüntü örneklerinin DNA profilleri, nakil sonrası geçen süre ile değişkenlik gösterdiği ancak saç örneklerinin DNA profillerinin tamamen alıcıya ait olduğu gösterilmiştir. Karaciğer transplantasyonu yapılmış 35 hastanın, her üç örneğinin DNA profilleri arasında bir fark yoktu. Bu durum olguların hiçbirinde GVHD gelişmemesine bağlandı.

Anahtar kelimeler: transplantasyon, kimerizm, adli kimliklendirme

SUMMARY

DNA Profiling In Blood, Buccal Swabs And Hair Follicles Of Patients Transplantation.

Volkan Zeybek, Dokuz Eylul University Faculty of Medicine Department of Legal Medicine

Introduction and Object: Peripheral blood DNA profiles are often used in forensic identification and paternity/ kinship investigations. Studies were showed that, patients undergoing allo PBSCT, and liver transplantation, chimerism developed in blood and some tissues and this chimerism was important to show posttransplant engraftment and to diagnose some of complications. Nowadays, due to the increasing number of patients who had undergone transplantation, questioning the story of transplantation has gained importance in forensic cases and buccal swab or hair follicles samples was raised rather than peripheral blood samples to get more accurate results in such cases. In this study, it is aimed to investigate availability of chimerism analysis of blood, hair follicles and buccal swab samples in forensic identification of stem cell and organ transplant patients.

Materials and Methods: Blood, hair follicle and buccal swab samples of five patients who were made alloPBSCT by Department of Hematology DEU and 35 patients who were made liver transplantation by Department of General Surgery DEU were analyzed as blind. After the isolation of samples DNA, specific short tandem repeats sequences were amplified with PCR and then genotype was determined with capillary electrophoresis.

Results: DNA profiles were compared with patients who underwent allo-PBSCT in four blood samples, hair and buccal swab samples were completely different, there was no mixed chimerism. It was learned that one patient whose three examples were same had failure of engraftment and transmission repetition scheduled.

Discussion and Conclusion: It is showed that after succesful allo PBSCT, DNA profiles of peripheral blood samples show donor chimerism, DNA profiles of buccal swab samples varies with time after transplantation, and DNA profiles of hair samples are fully recipient's. There was no difference between each of the three samples DNA profiles of 35 liver transplant patients. This situation is connected to the absence of development of GVHD.

Key words: transplantation, chimerism, forensic identification

1. GİRİŞ- AMAÇ

Son 30 yıldır malign veya nonmalign hematolojik hastalıkların tedavisinde allogenik periferel kan kök hücre transplantasyonu (allo- PBSCT) yaygın olarak kullanılmaktadır. Bugün dünyada yıllık yaklaşık 15000 allo- PBSCT yapılmakta ve her yıl yapılan hasta sayısı artmaktadır. Kök hücre transplantasyonu, bir donörden alınan hematopoietik kök hücrelerin, verildiği hastada yerleşip çoğalarak alıcının hematopoietik sisteminin tamamını veya bir kısmını oluşturması amaçlanarak yapılan bir uygulamadır. Başarılı bir kök hücre transplantasyonu sonrası hastanın hematopoietik ve lenfoid hücreleri donörün kemik iliğinden gelenlerle yer değiştirir (1, 2).

Allo- PBSCT’nda, engraftman devamlılığı ve altta yatan hastalığın relapsının önlenmesi için komple donör kaynaklı hematopoezisin olması gerekmektedir. Transplantasyon sonrası takipte en önemli görev; alıcı vücudundaki donör spesifik hücrelerin kalitatif ve kantitatif değerlendirilmesidir. Allo- PBSCT başarı/ başarısızlığının belirlenmesinde kimerizm gösterilmesi gerekli hale gelmiştir (1, 3).

Transplante edilen kemik iliği kök hücrelerinin “adult stem cell plasticity” olarak adlandırılan, nöral, kemik, kıkırdak, kas, karaciğer, barsak, alveolar, epidermal veya endotelyal hücrelere “transdiferansiyasyon” veya “dediferansiyasyon” olma potansiyellerinin olduğu kabul edilmektedir. Bu nedenle başarılı allo- PBSCT öyküsü olan kişilerde kimliklendirme ve akrabalık/ babalık tayini çalışmalarında periferel kan örneklerinin kullanılması uygun değildir (1, 4, 5).

Aynı şekilde karaciğer transplantasyonu yapılan kişilerde, yapılan çalışmalarda donör kimerizminin gösterildiği ve transplantasyon sonrası bazı komplikasyonların erken tanısında bu yöntemin kullanıldığı belirtilmektedir (6).

Karaciğer, graft reddi duyarlılığı ile ilgili immunolojik olarak ayrıcalıklı bir organdır. Donör transplant T lenfositleri alıcıya karşı bir bağışık yanıt oluşturduğunda “graft versus host disease” (GVHD) oluşur. Bu, allo- PBSCT’larında sık görülen bir komplikasyondur. Çünkü çok sayıda immunokomponent hücre, immunokompromis hücre içine transfüze olmaktadır. Karaciğer transplantasyonlarında GVHD nadir fakat ciddi bir komplikasyondur.

GVHD tanısı genelde klinikle konur, fakat son zamanlarda gelişen testler sayesinde donör organ kaynaklı hücrelerin gösterilmesi, klinik şüpheyi doğrularak yanlış tedavi uygulanmasını engellemiştir (7, 8, 9).

Adli olgularda kimliklendirme ve babalık/akrabalık tayinlerinde periferik kan sık kullanılmaktadır. Fakat transplantasyon yapılan kişilerde oluşacak kimerizm nedeniyle bu tür olgularda daha doğru sonuç alabilmek için periferik kan yerine bukkal sürüntü örnekleri veya saç foliküllerinin kullanılması uygundur (1,6).

Bu çalışmada, kök hücre ve organ transplant hastalarında transplantasyon sonrası "graft versus host disease" (GVHD) ve prognoz takibinde kimerizm analizlerinin optimizasyonunun sağlanması ve saç foliküllerinin ve bukkal sürüntü örneklerinin allo-PBSCT ve karaciğer transplantasyonu sonrası adli kimliklendirmede kullanılabilirliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 DNA ve yapısı:

Canlılığın, temel belirtileri olan metabolizma, büyüme ve çoğalabilme yeteneğine sahip en küçük parçası hücredir (10). Hücrelerin moleküler biyolojisini anlamak, tüm biyolojik bilimlere temel olan aktif bir araştırma alanıdır. Özellikle insan genomunun diziliminin tamamlanmasıyla, hücre ve moleküler biyolojideki gelişmeler tıp uygulamalarında yeni ufuklar açmıştır (11). İnsan genomu, temel olarak insanın fonksiyonel bir organizma olmasını belirlemek için gerekli olan tüm genetik bilgiyi yapısında bulunduran büyük miktarda kimyasal deoksiribonükleik asitten (DNA) oluşur (12).

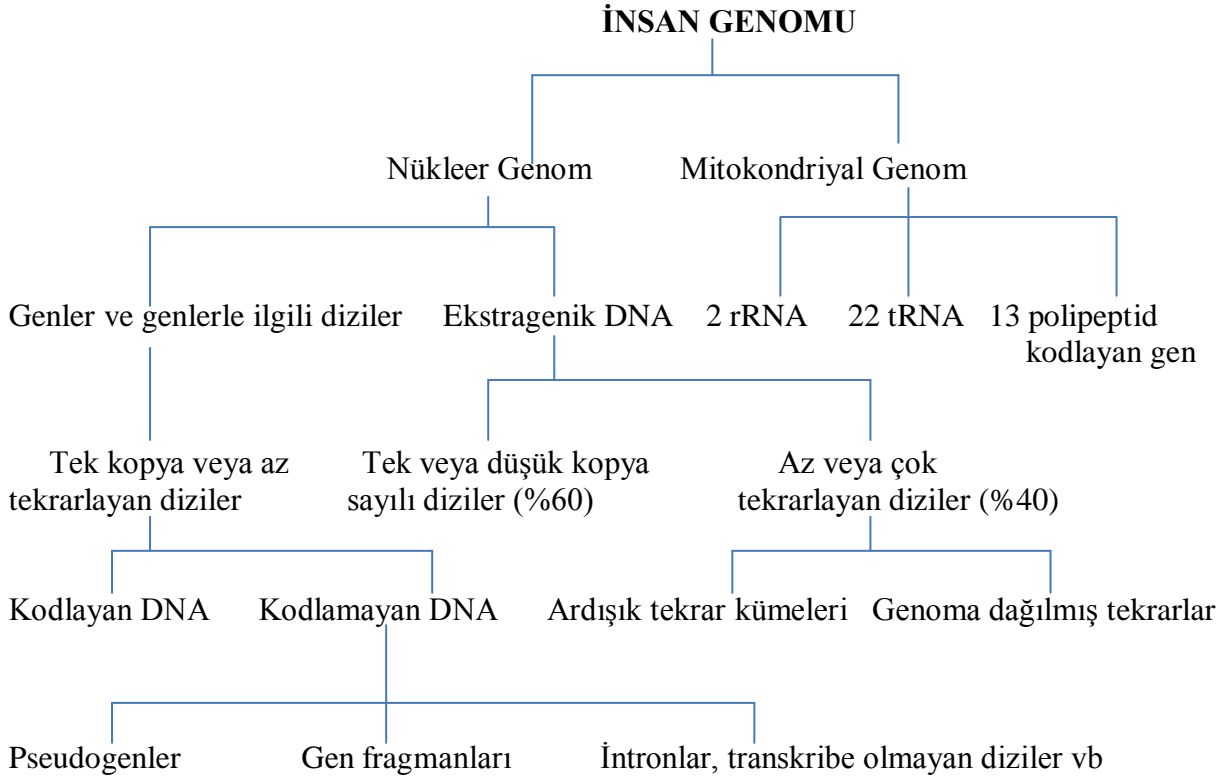
Genomu oluşturan DNA molekülleri çok uzun nükleotit polimerleridir. Nükleotitler, basit alt birimler olmayıp deoksiriboz olarak bilinen şeker, fosfat grubu ve azotça zengin pürin ve pirimidin bazlarından oluşan yapılardır. DNA'da iki adet pürin (adenin ve guanin) ve iki adet pirimidin (sitozin ve timin) bazları bulunmaktadır. Bazlar şekerlere bağlanarak nükleozidler oluştururlar. Nükleotitler bunlara ek olarak, nükleozid şekerlerin 5' karbonlarına bağlı bir ya da daha fazla fosfat grupları içermesinden oluşur (11).

Nükleotitlerin nükleik asitleri oluşturmak üzere polimerleşmesi, bir nükleotitin 5' fosfatı ile diğerinin 3' hidroksil grubu arasında fosfodiester bağlarının oluşumunu kapsar. Polinükleotitler her zaman 5'- 3' yönünde sentezlenirler; büyüyen zincirin 3' hidroksil (OH) grubuna serbest nükleotit eklenmektedir. Konvansiyonel olarak, DNA'da baz dizilimi 5'- 3' yönünde belirtilir. DNA moleküllerindeki genetik bilgi polimer boyunca yer alan bazların diziliminde saklıdır (11).

DNA molekülleri şeker fosfat omurgasından oluşan iki zincirin bir eksen etrafında sarılması ile meydana gelen çift sarmal (double helix) yapıdadır. İki iplik birbirinin özdeşi olmayıp birbirinin tamamlayıcısıdır. DNA'nın replikasyon, transkripsiyon, tamir gibi tüm biyolojik fonksiyonları bu özelliği sayesinde gerçekleşir. Replikasyon sırasında çift iplikli DNA moleküllerinin iplikleri ayrılıp her biri yeni molekülün sentezi için kalıp görevi görür. Sonunda atasal molekülün eşdeğeri olan iki çift iplikli DNA meydana gelir. Mitoz ve mayoz bölünmeler sırasında replikasyon devamlı olarak oluşur. DNA'nın baz diziliminde saklı olan

genetik bilgi organizmanın tüm yapı ve fonksiyonları için gerekli olan proteinlerin yapı ve miktarını belirler yani genetik bilgi akışı DNA—RNA—Protein şeklinde gerçekleşir. Bu sürece santral dogma denir (12).

İnsan genomu, kodlayan ve kodlamayan DNA dizilerinden oluşur.



Şekil 1. İnsan genom organizasyonunun şematik özeti

2.1.1 Genler Ve Genler İle İlgili DNA Dizileri

Genom üzerinde proteine veya ribonükleik asite (RNA) çevrilen işlevsel bir ürün oluşturacak şekilde eksprese olan diziler, gen olarak adlandırılır. İnsan Genom Projesi kapsamında 30000 civarında gen tanımlanmıştır. Bu genlerin yaklaşık %95'i polipeptid kodlarken %5'i RNA kodlamaktadır. Genlerin içinde büyük miktarda kodlamayan DNA bulunur. Bu tip genlerin kodlayan, yani proteine çevrilen dizi bölgelerinin (ekson), kodlamayan dizilerden (intronlar gibi) ayrıldığı bölünmüş bir yapısı vardır. Tüm genin uzun bir RNA molekülü oluşturacak şekilde transkripsiyonu yapılır, intronlar daha sonra kesilerek ayrılır ve böylece mesajcı RNA'da (mRNA) sadece eksonlar bulunur (11).

2.1.2 Ekstragenik DNA Tekrarları:

İnsan genomunun büyük kısmı gen dışı tekrarlardan oluşur. Bu diziler ardışık tekrar kümeleri ve genoma dağılmış tekrarlar olarak iki gruba ayrılabilir.

2.1.2.1 Ardışık Tekrar Kümeleri:

Aynı dizinin ardı ardına “n” sayıda tekrarlanması şeklinde görülür. Tekrarlanan bu dizilerde tekrar sayıları değişken olduğundan genellikle polimorfiktir. Bu diziler kendi içinde gruplara ayrılır.

2.1.2.1.1 Satelit DNA: Satelit DNA’lar hiçbir zaman transkribe olmaz ve heterokromatik bölgelerde özellikle sentromer yakınlarında bulunurlar.

2.1.2.1.2 Minisatellit DNA:

Hiper değişken minisatellitler-VNTR(Variable Number of Tandem Repeats):

6-100 baz çifti (bç) uzunluğundaki birimlerin birbiri ardınca tekrarlanması ile 0.1- 20 kilobazlık (kb) tekrar blokları oluşturan ve genom üzerinde yaklaşık 1000 kadar blok şeklinde bulunan yapılardır. Orta derecede tekrarlayan DNA (moderately repetitive DNA) olarak da tanımlanırlar. Bu ardışık tekrarların eşit olmayan krossover ve replikasyon kayması olaylarının ürünü olan duplikasyonlar sonucu oluştuğu kabul edilmektedir. Yüksek mutasyon hızına sahip (~%2.0), yüksek derecede polimorfiktirler. DNA kimliklendirmesi için kullanılırlar.

Telomerik DNA: 10-15 kb’lık ardı ardına yerleşik tekrar üniteleridir. Kromozomları oluşturan lineer DNA’nın uçlarını kısılmaktan korur (12).

2.1.2.1.3 Mikrosatellit DNA:

Kısa ardışık tekrarlar-STR(Short tandem repeats):

STR(short tandem repeats) olarak da bilinen 2-6 baz çifti uzunluktaki çekirdek ünitenin 5-30 kez ardışık tekrarından oluşan ve ortalama 150 bç uzunluğundaki DNA üniteleridir. Genom boyunca ortalama her 6-10 kb’da bir rastlanır. İnsan genomunda yaklaşık olarak bir milyon STR lokusu bulunur (13). Bunlar ileri derecede polimorfik olduklarından genetik belirteç olarak yaygın biçimde kullanılmaktadır. İnsan genomunda heterozigotlukları %70’in üzerinde olan 1300’den fazla STR lokusu tanımlanmıştır.

2.1.2.1.4 Megasatellit Ve Düşük Kopyalı DNA Tekrarları:

Bunların tekrar ünitesi birkaç kb olup, blok uzunluğu birkaç 100 kb'dır.

2.1.2.2 Genoma Dağılmış DNA Tekrarları:

Birçok küçük DNA ailesi bu genel tanımlama içinde bulunsa da genomun önemli bir kısmını oluşturdukları ve genetik hastalıklara karıştıkları için özellikle Alu ve L1 ailesi önem kazanır.

2.1.2.2.1 Alu ailesi: Yaklaşık 300bp uzunluğundadır. İnsan genomunda yaklaşık 500 000 Alu ailesi bulunmaktadırlar. SINE (short interspersed repeated sequences) grubuna ait en önemli ailelerden birisidir.

2.1.2.2.2 L1 (LINE) ailesi: 6kb kadar uzunluktadır. İnsan genomunda yaklaşık 100 000 kopyası bulunmaktadır.

2.2 Kromozom Ve Yapısı:

İnsan genomu, 22 çift otozomal ve 2 cinsiyet kromozomundan oluşur. Her biri doğrusal DNA molekülü içerir. Yaklaşık 2 metre olan genomik DNA'nın sadece 5- 10µm çapındaki bir çekirdeğe yerleşimi için yoğun bir şekilde paketlenmesini sağlayan bazı histon proteinleridir. DNA'nın histon proteinleri ile ilişkisi sonunda kromatin yapısı ortaya çıkar(11,12).

Kromatin kondansasyonunun düzeyi, hücrenin yaşam döngüsü sürecinde değişim gösterir. İnterfazdaki hücrelerde kromatinin çoğu nispeten yoğun olmayan durumdadır ve çekirdek içinde dağılmıştır. Buna ökromatin adı verilir. Hücre döngüsünün bu döneminde, gen transkripsiyonu olur ve DNA, hücre bölünmesine hazırlanacak şekilde replike olur. Ökromatinin aksine, interfaz kromatinin yaklaşık %10'u mitoz giren hücrelerin kromatinine benzeyen çok yoğunlaşmış bir durumdadır. Heterokromatin, geç replike olan, RNA'ya hiç çevrilmeyen veya nadiren çevrilebilen ve hücrenin gereksinimlerine göre ökromatine

dönüşebilen bir yapıdır (11). Genomun en ileri derecede paketlenmiş hali mitoz bölünme sırasında görülen kromozomlardır. Kromozomal boyama ile mikroskopta görülebilirler (12).

Kromozomlar çeşitli boyamalar sonrası ışık mikroskobunda, açık ve koyu bantlar şeklinde gözlenir. Yaygın olarak Giemsa boyası kullanılır. Giemsa boyası kullanılmasıyla oluşan bantlara G- bantları denmektedir. Açık ve koyu bantların özelliği adenin- timin (A-T) ve guanin- sitozin (G-C) bazlarının yoğunluğu ile ortaya çıkar. Koyu boyanan G bantları A-T den zengin, açık bantlar ise G-C den zengindir. Bu şekilde boyanan 24 kromozomun boyut farkları ve sentromer yerleşimlerine göre birbirinden ayırt edilmesini sağlayan analiz tipine, karyotip denir (10).

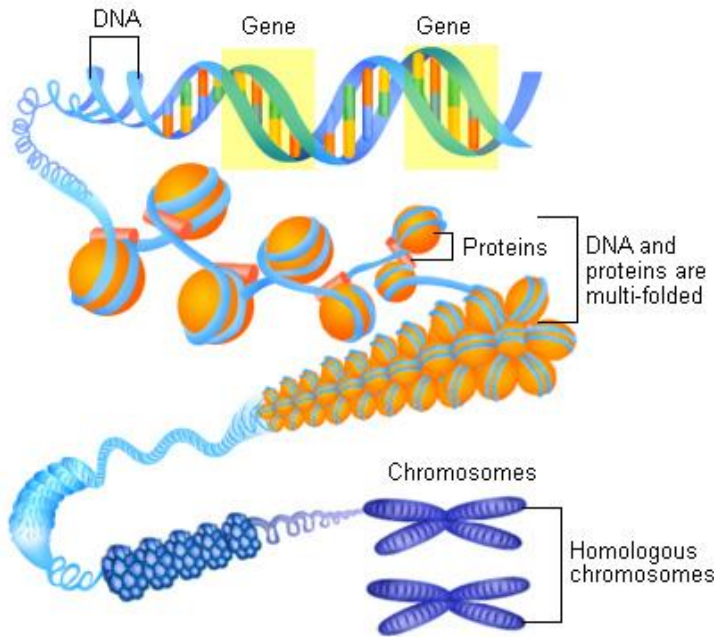
Kromozomların üzerindeki genlerin dağılımı da farklıdır. Bu durum pürifiye CpG adacıklarının metafaz kromozomlarına hibridizasyonu ile ortaya çıkarılmıştır. Bu çalışmalara göre bazı kromozomlar genden zenginken bazıları fakirdir. Kromozomların G bantlarında gen yoğunluğu azken, açık bantlarda ve subtelomerik bölgelerde gen yoğunluğu fazladır (14).

Genler, kromozom üzerinde kesin pozisyonu veya lokusu olacak şekilde doğrusal biçimde sıralanmıştır. Gen haritası genlerin kromozomal yerleşimlerinin haritası olup benzer şekilde her tür için, hatta tür içinde her birey için karakteristiktir (12). İnsan Genom Projesi'nin 2003 yılında tamamlanmasıyla şu an insan kromozomlarının 23 çiftinin de uzunluk ve sekanslarını biliyoruz (10).

Kromozom çiftinin üyeleri (homolog kromozomlar) birbiri ile uyumlu genetik bilgi taşırlar. Yani aynı genler, aynı dizilime sahiptirler. Bununla beraber, herhangi bir spesifik lokusta aynı genin özdeşi veya çok az farklı formu olabilir ve allel olarak adlandırılır. (12) Eğer homolog kromozom üzerinde, aynı lokustaki iki allel farklı ise heterozigot denir, aynı ise homozigot denir. Eş lokuslardaki allellerde saptanan farklılıklar insan kimliklendirme testleri için önemlidir. Bir genetik lokusta bulunan allellerin tanımlanmasına genotip denir. Örneğin lokusta A ve a allelleri varsa üç genotip oluşma olasılığı vardır (AA, Aa, aa). AA ve aa genotipleri homozigottur, Aa genotipi heterozigottur. DNA profili, multipl lokuslar için elde edilmiş genotiplerin kombinasyonudur. DNA profillemesi de DNA molekülündeki spesifik lokalizasyonlarda bulunan genotiplerin belirlenmesi işlemidir (10).

Lokuslardaki allel sayısının genetik çeşitlilikteki etkisini daha iyi anlamak için AB0 kan gruplarına bakılabilir. A, B ve 0 olarak 3 allel var. Bu 3 allel, olası 3 homozigot genotip (AA, BB, 00) ve 3 heterozigot genotip (A0, B0, AB) oluşturabilir. Böylece 3 allelden 6 olası genotip ortaya çıkar. Fakat fenotip olarak A, B, AB ve 0 ortaya çıkar. DNA markeri için, daha çok sayıda allel olması, daha fazla sayıda genotiple sonuçlanır. Genel olarak, eğer "n" sayıda allel varsa, n sayıda homozigot genotip ve $n \times (n-1) / 2$ adet heterozigot genotip oluşur. Örneğin 20 tane allel varsa, $20 + 20 \times (20-1) / 2 = 210$ tane genotip oluşur. Eğer 10 lokus olduğunu ve her lokusta 10 allel olduğunu düşünürsek; kombinasyonu $2,5 \times 10^{17}$ olası genotip oluşur ($55 \times 55 \times 55 \times \dots$). Her lokustaki allel sayısı ve her DNA testi için lokus sayısı, olası genotip sayısının daha çok üretilmesine yardımcı olur (10).

Şekil 2. Kromozomun yapısı (11)



DNA moleküllerimizin çok büyük kısmının (yaklaşık %99,7'si) diğer insanlarla aynı olduğu, sadece küçük bir kısmının (%0,3, yaklaşık 10 milyon nükleotit) bizi diğer insanlardan ayırdığı bilinmektedir. İşte bu farklı bölgelerin ortaya çıkarılması, insan kimliklendirmesinin amacıdır (10).

2.3 Adli Bilimlerde DNA Analiz Yöntemleri

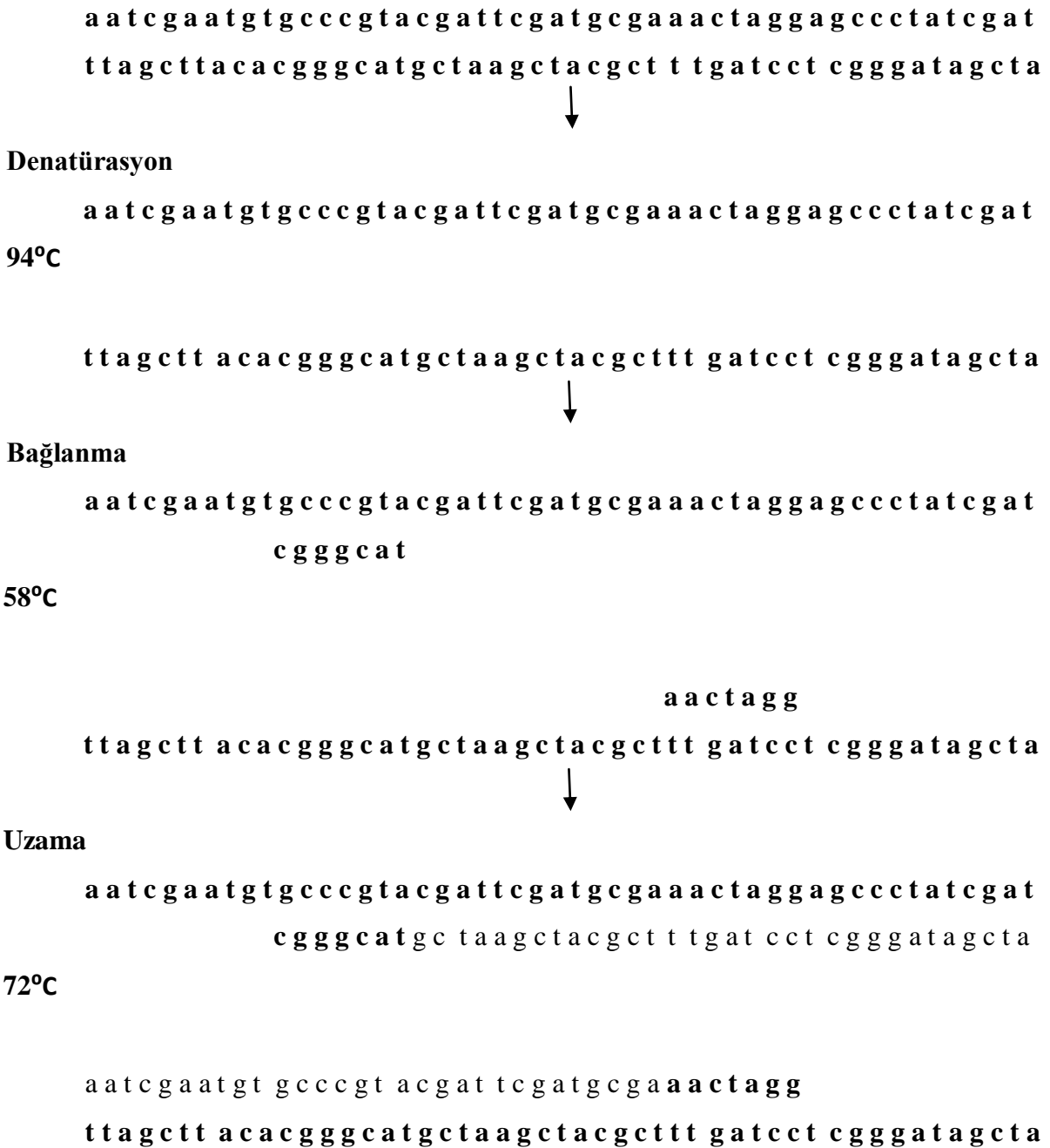
Adli bilimlerde DNA analiz yöntemleri hiçbir zaman sabit kalmamış ve sürekli devam eden teknolojik gelişmeler göstermiştir.

RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) analizleri, 1980'lerden 1990'ların ortasına kadar kullanılmıştır (15, 16). Ray White tarafından 1980 yılında tanımlanan RFLP orta düzeyde polimorfizm gösterir. Bu çeşitlilik, kodominant alleller olarak kalıtılır. Her bir kromozoma özgül bölgelerde haritalandıkları için, genetik hastalıkların bir ailede nesilden nesile geçişini takip etmek amacıyla belirleyici olarak kullanılmaktadır (17). RFLP yönteminin ayırt etme gücü çok yüksek ve son derece güvenilir olmakla birlikte sadece degrade olmamış DNA varlığında başarılı sonuçlar alınabilmesi yöntemin adli bilimler alanında kullanımını sınırlamaktadır. Ayrıca yöntemin fazla zaman alıcı olması, çok fazla iş gücü ve radyoaktif madde ile temas gerektirmesi, fazla miktarda ve yüksek kalitede DNA'ya ihtiyaç duyulması gibi olumsuz yönleri de vardır. Yukarıda söz edilen dezavantajlarından dolayı bugün yerini PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) tekniğine dayalı analiz yöntemlerine bırakmıştır (10, 18).

PCR metodu, adli bilimlerden ekolojiye, DNA diagnostik çalışmalarından temel araştırmalara kadar her alanda kabul görmüştür. Bunun sebebi yöntemin basit, kolay ve hızlı olmasıdır (19). 1988'de Kary Mullis tarafından geliştirilen PCR hücre çekirdeği içerisinde gerçekleşen DNA replikasyonunun bir analogudur. Şekil 3'te görüldüğü gibi denaturasyon (A), bağlanma (B) ve uzama (C) olmak üzere üç aşamadan oluşmaktadır. Çok az miktardaki (genellikle nanogram (ng) düzeyindeki) kalıp DNA'da istenen bölgelerin tekrarlayan kopyalarının çıkarılması için DNA polimeraz kullanılmaktadır. (10, 12, 20). DNA'nın her bir replikasyon döngüsünde iki katına çıkması ile DNA moleküllerinin sayısı ekponansiyonel olarak artar ve böylece başlangıçtaki az miktardaki kalıp DNA'dan yeterli miktarda DNA elde edilmesi sağlanır. Örneğin 30 döngü boyunca amplifiye edilen tek bir DNA molekülünden, teorik olarak 2^{30} adet (yaklaşık bir milyar) yeni molekül elde edilecektir. Bu yüzden tek bir DNA molekülünün amplifikasyonu ile moleküler klonlama veya nükleotit dizi analizi gibi daha ileri analizler için gereken miktarlarda DNA elde edilebilir (11).

Yöntemde kalıp olarak kullanılacak DNA, biyolojik örneklerden çeşitli izolasyon yöntemleriyle elde edilir. Primerler kalıp DNA'da çoğaltılmak istenen bölgeye özeldir. PCR tekniğinde günümüzde en yaygın olarak kullanılan polimeraz enzimi Taq polimerazlardır. Son dönemde modifiye edilmiş HotStart Taq DNA polimerazlar, yüksek sıcaklığa dayanıklı ve daha verimlidirler. Hedef DNA'nın konsantrasyonu, oligonükleotid primer, Mg^{+2} , DNA polimeraz miktarları, DNA kalitesi ile bağlanma sıcaklığı gibi parametreler yöntemin başarısını etkiler. Bu nedenle söz konusu parametreler optimize edilmelidir (10, 21).

Şekil 3: PCR kullanılarak DNA amplifikasyonunun mekanizması



Adli bilimlerde PCR tekniği, çok düşük miktardaki DNA'yı çoğaltma imkanı verdiği için tercih edilmektedir. Kriminal olaylarda çeşitli delillerden elde edilen (tek bir saç teli, sigara filtresi, kemik parçası, kan lekesi vs.) çok az miktarlardaki DNA'nın PCR tekniği ile çoğaltılabilmesi, delillerin değerlendirme oranını yükseltmiştir (22). PCR yöntemi replikasyon gibi DNA'nın tamamını kopyalama imkanı vermemektedir. Zaten bu zaman ve para yönünden ekonomik değildir. Bu nedenle DNA'nın amaca en iyi hizmet edecek bölgelerinin çoğaltılması hedeflenmektedir (23).

PCR sonrası amplifiye DNA fragmentlerinin yüksek çözünürlükteki poliakrilamid jel elektroforezi (PAGE) sonucu gümüş boyama yöntemi uygulanarak 10 baz çifti veya daha küçük uzunluktaki DNA fragmentlerinin farklılıkları belirlenebilir. Bu yöntem 1989 yılında Allen R.C. tarafından bulunmuştur (24). Tekniđin diğer bir avantajı da kolay ve hızlı olmasıdır. Ayrıca DNA milyonlarca kez çoğaldığı için görünürleştirme işlemi radyoaktif olmayan yöntemler ile yapılabilmektedir (25).

2.3 Adli Bilimlerde İncelenen DNA Bölgeleri:

Adli amaçla rutinde kullanılacak lokusların seçiminde; lokusun ayırım gücü, heterozigotluk oranı, kromozomal lokalizasyonu, yapısı, PCR ile çoğaltılabilmesi, güvenilir ve tekrarlanabilir sonuçların elde edilebilmesi gibi kriterler göz önüne alınır (26).

Adli bilimlerde bireylerin birbirinden ayırımında DNA parmak izi, haplotip analizi, bağlantı haritalarının çıkarılması, populasyon genetiği ve kimerizm gibi çalışmalarda kullanılan yüksek mutasyon hızına sahip (~%2.0), yüksek derecede polimorfik VNTR'lar tekrar sayısının kişiler arasında farklılık göstermesi nedeniyle adli bilimlerde ayırıcı genetik işaret olarak kullanılmıştır (27).

VNTR'lar genellikle RFLP yöntemi ile tiplense de, PCR yöntemi ile de tiplenebilirler. Ancak degrade olmayan DNA örnekleri için bile bu tekniğin uygulanması sınırlıdır. Çünkü PCR'da hedef DNA büyüklüğü arttıkça amplifikasyon işleminin etkinliği azalmaktadır. VNTR tiplemesinde fazla ve iyi kalitede DNA'ya gerek olması, istatistik analizinin zor olması, bazen homozigot veya heterozigot ayırımını verememesi ve uzun zaman alması gibi nedenler yöntemin kullanımını sınırlandırmıştır. Yukarıdaki nedenlerden ötürü adli bilimlerde

VNTR'ların bir alt grubu olan STR (Short Tandem Repeats- Kısa Ardışık Tekrar Dizinleri, Mikrosatellitler) lokusları tercih edilmektedir (10, 28).

İnsan genomunda bulunan yaklaşık olarak bir milyon STR lokusundan heterozigotlukları %70'in üzerinde olan 1300'den fazla STR lokusu tanımlanmıştır (29). Çok sayıda STR lokusunun tek tüp içerisinde, PCR (multipleks PCR) ile kolayca çoğaltılabilmesi, floresans tespit sistemleri ile jel veya kapiler elektroforezde genotip tayini yapılabilmesi STR'ların yaygın olarak kullanımını sağlamıştır (30). VNTR lokuslarına göre ayırım güçlerinin düşük olması bir dezavantaj gibi görünüyorsa de çok sayıda lokusun birlikte çalışılması ile bu sorun giderilmiştir. Adli bilimler için uygun STR lokuslarının seçim kriterleri; küçük ve degrade DNA örneklerinde sonuç vermesi, lokusun ayırım gücünün %90'ın üzerinde olması, allelerin 90- 500 bp arasında olması, gözlenen heterozigotite oranının %90'ın üzerinde olması, amplifikasyon hassasiyetinin yüksek olması, düşük mutasyon oranına sahip olması olarak belirlenmiştir (31). Mikrosatellitlerde lokuslar arasında kısmi farklılıklar olmakla birlikte mutasyon oranı her kuşakta 10^{-3} ile 10^{-4} arasında değişmektedir. Mutasyon oranı türler arasında farklılık gösterdiği gibi aynı tür içinde lokuslar arasında da farklılık görülür (32, 33).

STR lokuslarının analizi ilk kez 1991 yılında Edwards ve arkadaşları tarafından tanımlandıktan kısa süre sonra geniş kullanım alanı bulmuş ve birbiri ardına çok sayıda yeni STR lokusu tanımlanmıştır (21). STR lokuslarının ilk adli uygulaması ölü bir mağdurun iskeletlerinin tiplenmesidir (10, 13).

Tek nükleotid polimorfizmi (SNP-PCR) yeni kullanılmaya başlanan bir teknoloji olup genomda STR'lerden daha yüksek sıklıkta bulduklarından ve daha stabil olduklarından mutasyon oranları düşüktür. STR'den daha yüksek sensitivitesinin olması beklenmektedir, ancak şu ana kadar üstünlüğü kanıtlanamamıştır (34).

2.4 DNA Markırları İçin İsimlendirme:

ISFG (International Society of Forensic Genetics) komisyonlarının doğrultusunda "D#-S#" sistemine göre yapılmaktadır. Eğer markır genin bir parçasıysa, genin adı isimlendirmede kullanılır. Örneğin, STR markırı TH01, genomdaki tirozin hidroksilaz genini belirtir. '01' kısmı, tekrarlayan kısmın tirozin hidroksilaz geninin intron 1 kısmı içinde

olduğunu belirtir. Bazen kısaltmanın başına insan genomu olduğunu belirtmek için HUM- eki getirilebilir (10).

DNA markırı genin dışında kalmışsa kromozomal pozisyonuna göre adlandırılır. Örneğin, D5S818 ve DYS19'u ele alınırsa; 'D', DNA'yı belirtir. 5, 5. kromozomu, Y, Y kromozomunu belirtir. 'S', tek kopya sekansını belirtir. Sonda bulunan sayılar, kromozomda bulunduğu lokusu belirtir. (10)

2.5 Genotiplendirme Protokolü Sırasında Dikkat Edilecek Noktalar

Genotiplendirme protokolü biyolojik örnekten DNA izolasyonu, DNA miktar tayinini, STR lokusu için DNA çoğaltılmasını ve genetik analizörde dizin analizini içermektedir. Olay yerinde bulunan biyolojik örneklerden elde edilen DNA kontamine olmuş olabilir. Kontamine olan örnekteki insan DNA'sı sıklıkla bakteri DNA'sı da içerebilir. Bu örnekten insan DNA'sı izolasyonu ve STR analizi yapabilmek sıkıntılı olabilir çünkü STR genotipleme sistemlerinin başarısı PCR aşamasında kullanılacak olan DNA miktarına bağlıdır. Çok az miktardaki DNA'dan ancak kısmi profil elde edilebilirken, çok fazla DNA miktarı da inhibisyona neden olabilir. Adli analizcilere göre, genellikle sınırlı miktarda olan adli kanıt örneklerinden, yorumlanabilir STR profillerinin eldesi için validasyon sonucu belirlenmiş güvenilir miktar tayin yöntemleri seçilmelidir (35). Diğer bir problem olay yerinde bulunan DNA ısı ve çeşitli kimyasallara maruz kalırsa kalıp DNA'nın istenmeyen küçük parçalara bölünmesine ve STR ürünlerinde sinyal kaybına neden olabilir (36).

2.6 Genotiplendirme Protokolü:

STR bölgelerinin standardizasyonunu sağlamak için pek çok ülkede çalışmalar yapılmış ve ticari girişimler sonucu standart STR kitleri üretilmiştir. Büyük çabalar ve kapsamlı çalışmalarla hem adli hem de genel popülasyon genetiği ile ilgili büyük veritabanları oluşturulmuştur. Bunların en önemlilerinden biri 1990 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde FBI tarafından kurulan CODIS (Combined DNA Index System) veri bankasıdır. CODIS içinde FBI tarafından belirlenen 13 STR lokusu yer almaktadır. Bu lokuslar; D3S1358, vWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820, CSF1PO, THO1, TPOX, D16S539 (37).

Diğer bir önemli veritabanı ise; İngiltere’de Forensic Science Servis tarafından kurulan 10 STR lokusunu ve amelogenin içeren SGM (second- generation multiplex) Plus sistemin kullanıldığı veri tabanıdır (38). İngiltere popülasyonunda birbiriyle ilişkisi olmayan iki bireyin SGM plus STR lokuslarının analizi ile elde edilen genetik profillerinin aynı olma olasılığı 10^{-11} ’dir (39).

Ülkemizde de popülasyon genetiği ve adli kimliklendirmede STR lokuslarının kullanımına yönelik çalışmalar yapılmaktadır (63).

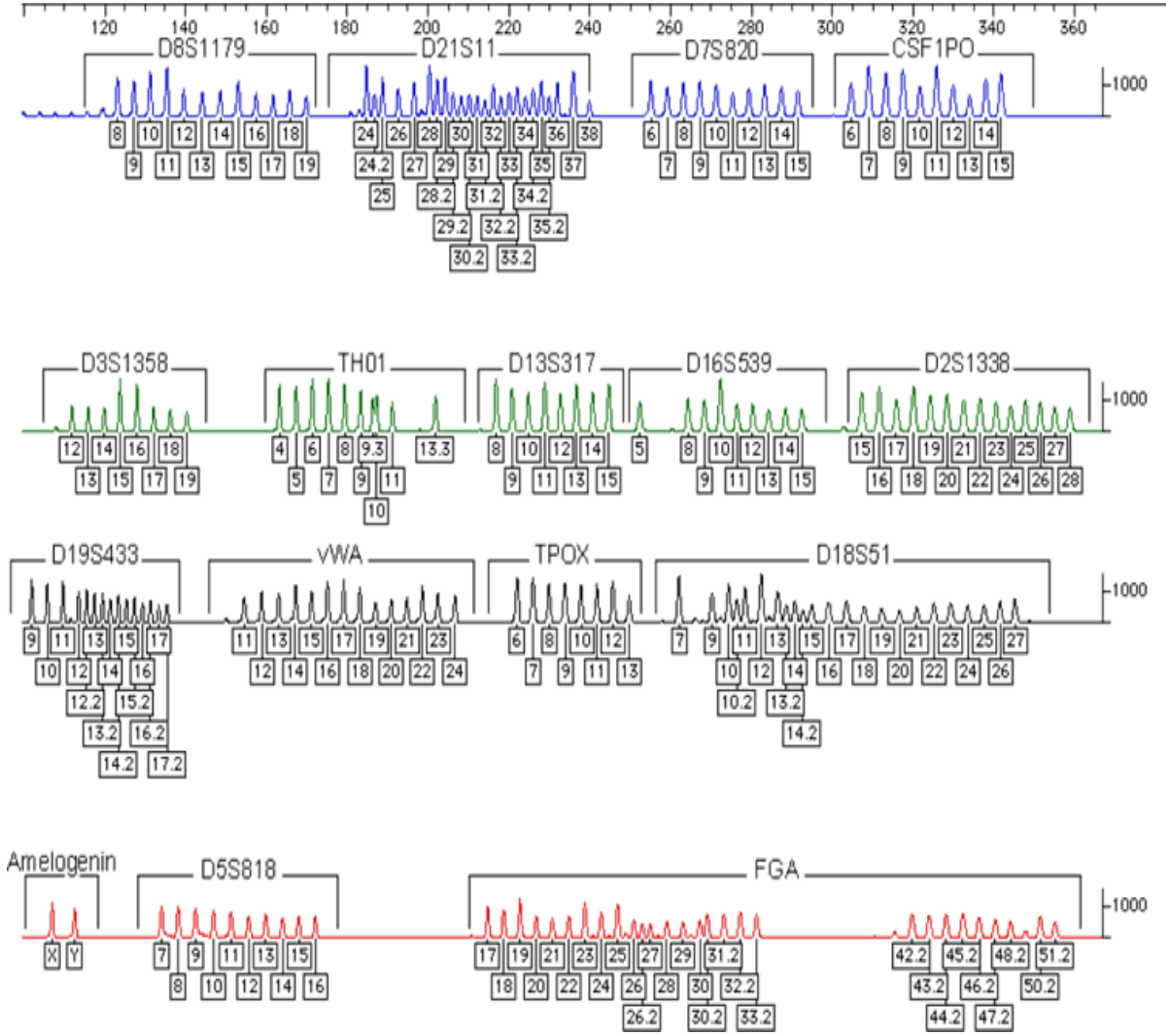
Son yıllarda adli olgularda ve nesep tayininde kullanılan ayırım gücü daha yüksek kitler geliştirilmiştir. AmpF/STR® Identifiler™ PCR Amplification (AB Applied Biosystems) ve PowerPlex® (Promega) kiti, tek bir PCR amplifikasyonunda 15 tetranükleotid STR lokusunu ve cinsiyet tanımlayıcı işaret olan amelogenin lokusunu çoğaltabilmektedir. Bu kitler ile DNA konsantrasyonu 0,5- 0,125 ng/μl arasında olan örneklerden genotip tayini yapmak mümkündür (40). Ancak üretilen ve sıklıkla kullanılan bu STR kitleri ile örnekler degrade olduğunda genotip tayini yapılamamaktadır. Çünkü bazı STR lokusları (CSF1PO, D18S51, FGA ve D2S1138) uzun PCR ürünleri oluştururlar ve bu da genotiplemede sorunlara yol açmaktadır. Bu sorunların çözümü için mini-STR lokusları geliştirilmiştir (36). Mini-STR lokusları PCR ürünlerinin kısaltılması ile degrade örneklerden genotipleme yapmayı mümkün kılmıştır. Mini-STR lokusları Dünya Ticaret Merkezi olayında da başarıyla kullanılmıştır (41). STR sistemleri adli araştırmalarda güvenilir olduklarını kanıtlamışlardır. Milyonlarca DNA profili (ulusal DNA veri bankaları) STR lokusları ile üretilmiştir (42).

2.7 AmpFISTR Identifiler Mikrosatellit/STR Lokusları

Applied Biosystems (ABI) tarafından üretilen DNA profillemeye sistemidir. Bu sistem Avrupa Adli Bilimler Enstitüleri Ağı (European Network of Forensic Science Institutes, ENFSI) ve DNA analiz yöntemleri üzerinde çalışan teknik grup (Technical Working Group on DNA Analysis Methods, TWGDAM) tarafından önerilmiştir. Yapılan çalışmalar ile sistemin güvenilirliği ve tekrarlanabilirliği test edilmiş ve onaylanmıştır (43).

Mevcut olan STR lokusları; D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, THO1, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, Amelogenin, D5S818 ve

FGA gibi yüksek derecede polimorfizim gösteren STR lokusları olup (şekil 4), günümüzde yaygın olarak; adli bilimlerde kimlik tespiti, babalık testleri ve atasal soy bağı (Y-STR), genom haritalamaları ve popülasyon çalışmaları gibi birçok konuda, STR polimorfizim uygulamalarında kullanılmaktadır (10).



Şekil 4: Yaygın olarak kullanılan STR lokusları (10)

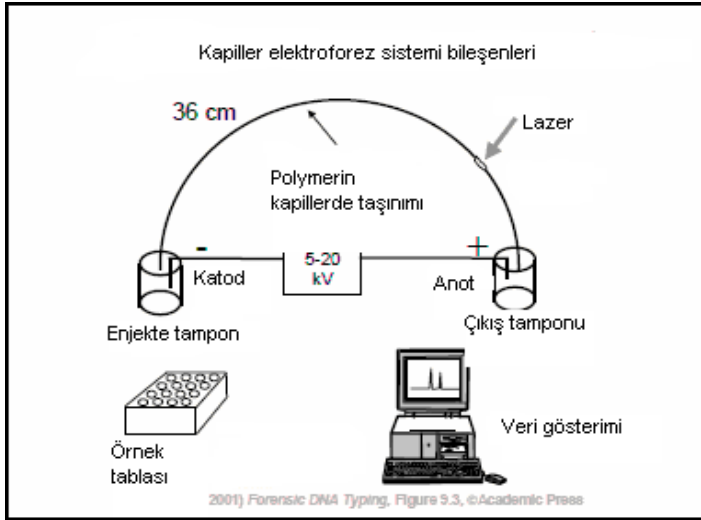
D3S1358 ve D19S433 lokusları küçük baz çiftlerine (100- 150 bp) ve düşük moleküler ağırlığa sahip olmalarından dolayı çok az miktarda olan ya da degradasyona uğramış DNA içeren adli örneklerde sonuca gidebilme olasılığını arttırdığı için kitle yer almaktadır (10).

2.8 Kapiller Elektroferez Teknolojisi:

Kapiller elektroferez (CE), elektroforetik hareket kabiliyeti, faz ayırımı ve moleküler boyuttaki farklılıklara ya da bunların bir kaçına bağlı olarak elektrokinetik ayırım yapan bir tekniktir. Bu elektrokinetik ayırım; iki ucu açık, dış yüzeyi silika ile kaplanmış, yaklaşık 25-75 µm iç çaplı ve 15-100 cm uzunluğunda, silindirik kapillerlerde yapılır. Kapiller, elektrotları ve tamponu içeren iki cam hazne arasına yerleştirilmiş olup, kapillerler jel ile dolduktan sonra çok az miktardaki örnek, kapillerin bir ucuna elektrokinetik ve hidrodinamik teknikle yüklenir. Ayırım yüksek voltaj (yaklaşık 5-30 kV, 1-150 uA) uygulayarak yaklaşık 200-500 V/cm doğru akım altında sağlanır. Bu elektrik akımı sadece molekülleri elektrikle yüklemeyi (elektroferez) aynı zamanda tüm solüsyonun hareketini sağlar (elektro-ozmos). Kapillerdeki çözünür maddenin dağılımı temel olarak difüzyon ile kapiller duvarı-örnek etkileşimi, ısı ve iletkenlikteki değişkenliğe bağlı olarak elektroforetik dağılıma dayanır. Kapiller duvarı-örnek etkileşimi, duvar iç yüzeyinin tampona eklenen dinamik maddeler ile kaplanması ile en aza indirilir. Örnekler kapillerin anot ucuna yakın yerleştirilen sensorlar ile kapiller üzerinden saptanırlar (şekil 5). Yöntemin en önemli avantajları çok az miktarda örnek gerektirmesi, ileri derecede hassas olması [LIF (laser-induced fluorescence) teknolojisi ile birleştiğinde atto-mol seviyeleri], hızlı ayırım gücü, otomatizasyon ve ek cihazlarla uyum olarak sıralanabilir (10, 44, 45, 46, 47).

Kapiller elektroferezin LIF ile desteklenmesi sonucunda bu teknik DNA fragmanlarının ayırımında en hızlı gelişen yöntem olmuştur. CE ile inorganik iyon saptanması, ilaçlar, oligonükleotidler, peptit ve protein analizleri, birçok genetik hastalıkların tanısında, adli tıpta genetik polimorfizmin saptanmasında, mutasyon ve polimorfizm analizinde, SSCP (single strand conformation polymorphism), VNTR (variable number tandem repeat), STR (short tandem repeat) analizi ve DNA dizilemesi gibi bir çok çalışmada kullanılan güvenilir bir yöntemdir (44, 46, 48).

Şekil 5: Kapiller elektroforez (CE) sistemi (10)



Bu amaçla kullanılan gen analiz cihazlarında kapiller elektroforez işleminin her basamağı otomatize olmuştur. Bu cihazlar anot ve katot kutuplar arasında uzanan bir kapiller, sıcaklığı sabit tutacak bir ısıtıcı bölge ve anot uca yakın bir bölgede lazer ışık kaynağı ile CCD kameradan oluşur. Kapillerin içine polimer dolduran bir şırınga ve her iki kutupta elektrik geçirgenliği sağlayacak tampon hazneleri bulunmaktadır. Her bir örnek için yeniden polimerle doldurulan kapiller, örnek tüpüne girdiğinde PCR ile çoğaltılmış ve denatüre edilmiş DNA fragmanlarını elektrokinetik yöntemle kapiller içerisine alır ve bu aşamadan sonra sabit voltaj ve sabit sıcaklıkta anot kutba doğru hareket eden DNA fragmanları kapillerin silika ile kaplanmamış bölgesinden geçerken lazer ışığını bağlandıkları primerin rengine göre değişik dalga boylarında yansıtarak CCD kamera tarafından algılanırlar. Uygun bilgisayar yazılımı tarafından değerlendirilen bu veriler ekranda büyüklük ve yoğunluğu ifade eden pikler şeklinde belirir (şekil 6). Bu pikler bahsedilen yazılım tarafından daha önce bu yazılıma tanıtilen floresan boyalı ve fragman büyüklüğü bilinen standartlarla karşılaştırılarak değerlendirilmektedir. Standardizasyon işleminde allelik ladder (AL)'lar kullanılır. AL bir lokusa ait yaygın allellerin çoğunu içermekle birlikte allel boyutunun standardize edilmesi için gereklidir (44, 45, 46).

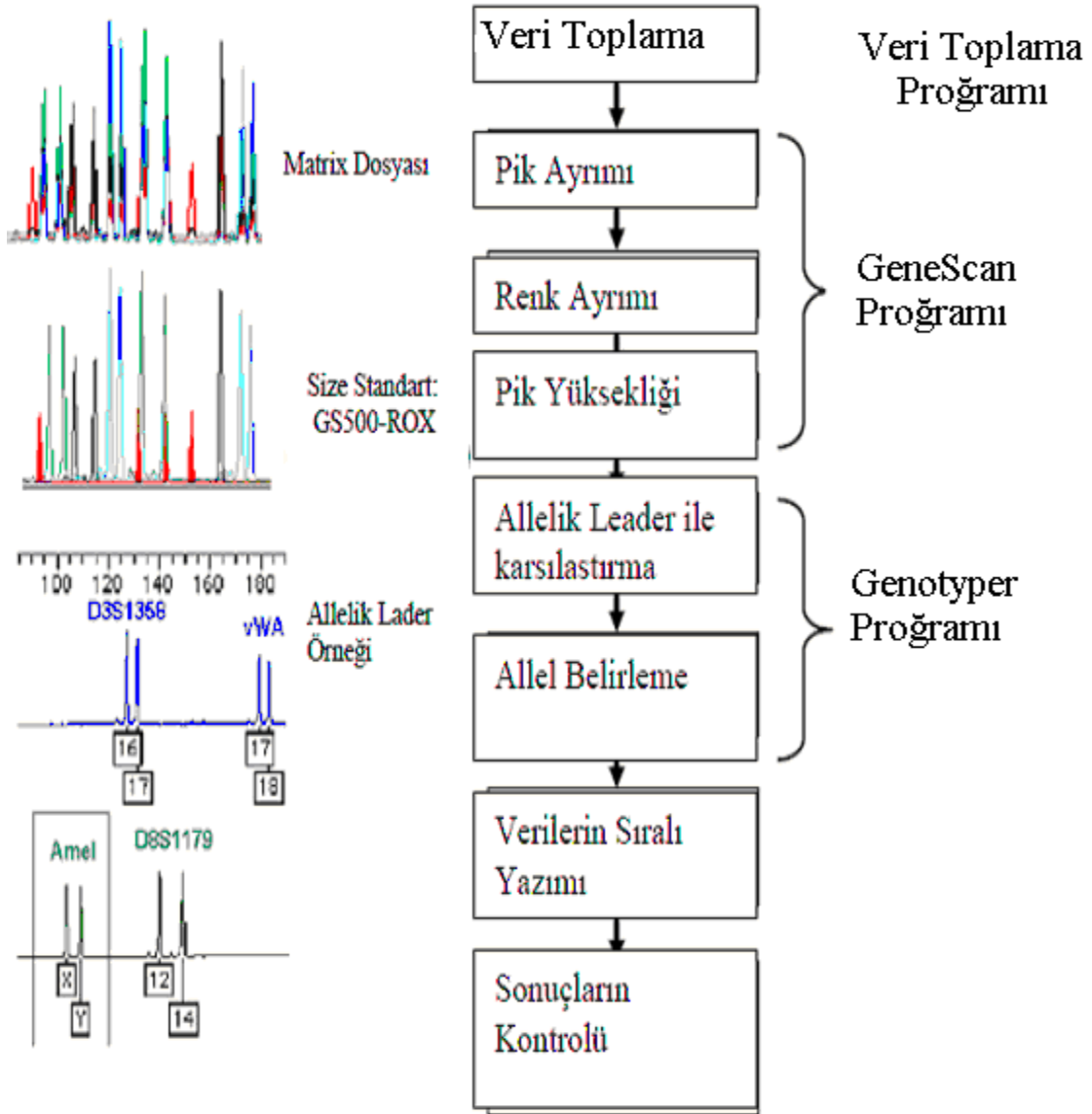


Şekil 6: ABI PRISM 310 Genetic Analyzer cihazında, AmpFISTR SEfiler PCR ürünlerinin, GeneScan Software programında elektroferogram gösterimi (49)

2.9 Mikrosatellit (STR) Lokus Allellerin Belirlenmesi:

STR lokus allelleri belirlenirken PCR örneği Formamide içerisinde çözülerek, standart değerler olan 100-139-150-160-200-300-340-350-400 bp uzunluk aralıklarında Gen Liz Size Standard (GS500) kullanılıp, kapiller elektroforezde bilinen bir boyuttaki DNA tekrar bölgelerini, istenen bir çözünürlükte düşük vizkosite sağlayıp formüle eden; Performance Optimized Polymer (POP-4)'le yürütülerek, Data collection'da analiz edilip pik değerleri çıkartılır ve bu değerler allelik ladders referans alınarak karşılaştırılır (şekil 7) (10, 50).

STR Allelerini Belirleme Basamakları



Şekil 7: STR allelerini belirleme basamakları (10)

2.10 Kimerizm

“Chimera” Yunan mitolojisinde başı aslan, vücudu keçi ve kuyruğu yılandan oluşan yaratığa verilen isimdir. Bu nedenle günümüzde farklı parçaların bir arada bulunduğu ve ortak bir bütünü oluşturduğu durumları ifade etmekte sıklıkla kullanılmaktadır (51).

Tıp literatüründe spontan veya edinsel olarak ikiden fazla genetik yapıya ait hücrelerin bir arada bulunduğu organizmalarda kimerizmden söz edilir. Spontan kimerizm ilk olarak, tek kişide farklı kan gruplarının bir arada gösterilmesi ile gündeme gelmiştir ve bunların büyük bir kısmının aynı uterusda gelişim gösteren çift yumurta ikizleri olduğu ve %8 oranında karşılaştığı gösterilmiştir. Birçok insan intrauterin dönemde anneden plasenta yolu ile veya ileri yaşamlarında karşılaşılabilecekleri tekrarlayan kan transfüzyonları ile geçen yabancı hücreler barındırarak mikrokimerizm göstermektedir. Köken alınan farklı hücre gruplarına göre farklı tanımlamalar kullanılmaktadır.

- Heterolog kimerizm: Yabancı hücre veya dokuların farklı türden bir organizmadan kaynaklanması durumudur.
- Homolog kimerizm: Yabancı hücre veya dokuların aynı türden bir organizmadan ancak farklı bir genotipten kaynaklanması durumudur.
- Isolog kimerizm: Yabancı hücre veya dokuların aynı türden bir organizmadan ve aynı genotipten (tek yumurta ikizi gibi) kaynaklanması durumudur (52).

Hematolojide kimerizm kelimesi ilk olarak deneysel olarak yapılan transplantasyonlarla birlikte kullanılmaya başlanmıştır. 1956'da, Ford ve arkadaşları çalıştıkları hayvan modellerinde nakledilen verici hücrelerinin zaman içerisinde giderek artan düzeyde saptandığını göstermişlerdir. Transplantasyon öncesinde oldukça yüksek oranda uygulanan radyoterapiyi takiben verici hücrelerinin aktarılmasından sonra saptanan bu durum "radyasyon kimerizmi" olarak adlandırılmıştır (52).

Günümüzde alıcıda sadece verici hematopoezisi ve/veya alıcının kendi hematopoezisinin devamının derecesi "hematopoetik kimerizm" olarak adlandırılmaktadır. Transplantasyon sonrası alıcı ve verici hücrelerinin oranı kimerizmin derecesini belirler. Bu derecelere göre farklı adlandırmalar gelişmiştir. Tam kimerizmde kemik iliğindeki üretimin tamamını verici hücreleri oluştururken, miks kimerizmde alıcı ve verici hücreleri bir arada üretim yapar. Miks kimerizm izlemdeki duruma göre geçici olabilirken, stabil veya progresif bir seyir gösterebilir. Miks kimerizmin saptanmasında çok farklı teknikler kullanılması nedeni ile sıklığı çok net bilinmemektedir. Günümüzde giderek daha duyarlı moleküler tekniklerin kullanılması ile sanıldığı aksine miks kimerizmin sık karşılaşılan bir durum olduğu anlaşılmıştır. Mikrokimerizm ise transplantasyonu takiben %1'den daha az hücrenin verici kaynaklı olması durumudur ve genellikle solid organ transplantasyonlarında karşılaşılr (3).

Literatürde medikolegal yönden kimerizmin önemi ile ilgili ilginç bazı örnekler vardır. Lydia Fairchild; iki çocuk doğurduğu, üçüncüsüne hamile olduğu, 2002 yılında eşinden boşanmak için dava açtığı, mahkemenin, çocukların biyolojik babasının DNA analizi ile kanıtlanmasını istediği, anne, baba ve iki çocuğun kan verdikleri, iki hafta sonra alınan sonuçta eşinin, çocukların babası olduğu, ancak kendisi ne birinin, ne de ötekinin annesi olmadığı, sonuca itiraz ettiği, testlerin bir başka laboratuvarında yinlendiği, sonucun değişmediği, çocukları doğurduğunu gösteren hastane kayıtlarının delil kabul edilmediği, ek olarak kendisinin, soybağını değiştirmek ve çocuk kaçırmakla suçlandığı, bu gelişmeler yaşanırken üçüncü çocuğunu doğurmak üzere hastaneye yattığı, mahkemenin, doğum sırasında çocuktan ve anneden kan alınarak DNA analizi yapılmasını istediği, bebeğin diğer iki çocuğun kardeşi olduğu, babanın onun da babası olduğu, Lydia'nın, bilirkişi huzurunda doğurduğu son çocuğun da annesi olmadığı, önceki suçlamalara, yasal olmayan yollarla rahim kirilayarak gelir elde etmek gibi bir yenisinin eklendiği, Lydia Fairchild'in avukatının itiraz ettiği, Lydia'nın çeşitli dokularında DNA analizi yapılmasını istediği, deri, saç, kan ve yanak içi hücrelerinin DNA'sı çocukların annesi olamayacağını gösterdiği, ama rahim içinden alınan hücrelerin her şeyi değiştirdiği, buna göre, Lydia'nın, her üç çocuğun da annesi olduğunun belirlendiği ve suçlamaların ortadan kalktığı belirtilmektedir (53).

3.GEREÇ VE YÖNTEM:

Çalışmamızda Kullanılan Malzemelerin Listesi:

1. Qiagen BioRobot M48 Robotic Workstation
2. Applied Biosystems Gold Plated 96- Well Gene Amp PCR System 9700
3. Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer
4. Qiagen MagAttract DNA Mini M48 Kit (192)
5. Qiagen Starter Pack, M48
6. Applied Biosystems Quantifiler Duo DNA Quantificatin Kit
7. Applied Biosystems AmpFLSTR Identifiler Plus PCR Amplification Kit
8. Applied Biosystems 96-Well Septa Plate
9. Applied Biosystems MicroAmp® Optical 96-Well Reaction Plate
10. Applied Biosystems 3130XL/3100 Genetic Analyzer Capillary Array 36cm
11. Applied Biosystems Gene Scann 600 Liz Size Standart
12. Applied Biosystems 310 Running Buffer 10x
13. Applied Biosystems HI- Dİ Formamide
14. Applied Biosystems POP-4 Polymer For 3130/3130xl Genetic
15. Applichem Proteinase K – Solution
16. Applichem DTT
17. Qiagen Buffer G2
18. Greiner Filter Tıp,Nature ,Sterile F.Gilson 200
19. Greiner Filter Tıp,Nature,Sterile F.Gilson P1000
20. Greiner Filter-Tıp,Natural,Sterile F.Gilson P10
21. Greiner Microcentrifuge Tube,2,0ml With Cap, 500
22. Puritan 25-1506-1PF Foam Tipped Applicators/Swabs, Polystyrene Shaft, Sterile
23. Greiner EDTA'lı vakumlu tüp
24. Vorteks
25. Thermo mixer
26. Derin dondurucu
27. 5ml'lik steril, kapaklı tüpler

Örneklerin Toplanması:

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda karaciğer transplantasyonu yapılan ve tedavi sonrası takipleri yapılan 35 hasta ile Dahiliye Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı tarafından allojenik kök hücre transplantasyonu yapılan ve tedavi sonrası takipleri yapılan 5 hasta, yazılı aydınlatılmış onam alınarak çalışmaya dahil edildi. Gönüllülerin her birinden;

- EDTA'lı tüpe 2 ml kan örneği,
- Steril pamuklu çubuk kullanılarak oral kavite mukozasından bukkal sürüntü örneği (hastalar, örnek alınmadan önce temiz su ile üç kere ağızlarını çalkaladı),
- 5-7 adet çekilerek koparılan köklü saç kılı alındı.

Tüm örnekler -20°C'de saklandı.

DNA izolasyonu, miktar belirlenmesi, amplifikasyonu ve kapiller elektroferoz işlemleri Adli Tıp Kurumu İzmir Grup Başkanlığı Biyoloji İhtisas Dairesi'nin laboratuvarında yapıldı.

Örneklerden Biorobot M48 Kullanılarak DNA İzolasyonu:

1. Kan örnekleri üzerine 200 µl G2 Buffer, 20 µl Proteinase K eklendi.
2. Bukkal sürüntü örnekleri üzerine 200 µl G2 Buffer, 20 µl Proteinase K eklendi.
3. Kıl örnekleri üzerine 100 µl G2 Buffer, 100µl ATL Buffer, 20 µl Proteinase K, 20 µl DTT(Dithiothreitol) eklendi.
4. Örnekler vorteksle karıştırıldı.
5. 56°C sıcaklık, 700 rpm çalkalama ayarlarında Thermo Mixer'de 1 saat bekletildi.
6. İnkübasyon süresi dolan örnekler 1 dakika 8000 rpm'de santrifüj edildi.
7. Örnekler, hücrelerin parçalanması, nükleik asitlerin silika kaplı MagAttract partiküllerine bağlanması, manyetik alan kullanarak kontaminantların uzaklaştırıldığı yıkama basamağı ve DNA'nın partiküllerden ayrılarak saf halde elde edilmesini sağlayan elüsyon basamaklarının otomatik olarak gerçekleştirildiği Biorobot M48 cihazına konularak izolasyon işlemi devam ettirildi.

Örneklerdeki DNA Miktarının Belirlenmesi:

Örnekten izole edilen DNA miktarı ve kalitesini belirlemek için Quantifiler Duo DNA Kantifikasyon kiti kullanıldı. İnsan DNA'sına özelleştirilmiş Quantifiler Duo PCR Reaction Mix ve Quantifiler Duo Male Primer mix kullanılarak mevcut DNA izolatının mikrolitre hacmi içerisindeki DNA miktarı nanogram cinsinden Realtime PCR yoluyla kantitatif ve gerçek zamanlı olarak belirlendi ve miktarının tayin edilmesi işlemi yapıldı.

Örneklerden PCR Yöntemiyle DNA'nın Çoğaltılması:

1. PCR Master mixi İdentifiler Plus kitine göre hazırlandı. İdentifiler Plus, 16 lokus ile çalışma olanağı sağlar. Bu lokuslar: D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, THO1, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, Amelogenin, D5S818 ve FGA'dan oluşmaktadır (Tablo 1).
2. ABI 9700 Thermal Cycler cihazının programlanması ile amplifikasyon işlemi otomatik olarak yapıldı.

Kapiller Elektroferez İşlemi:

1. 3130xl Genetik analizör cihazını yükleme için hazır hale getirdi.
2. Yükleme karışımı hazırlanarak, cihaz yükleme parametrelerine göre yükleme yapıldı ve cihaz çalıştırıldı.
3. Çıkan sonuçlar Gene Mapper ile analiz edildi. Elde edilen tüm analizlerin yazıcıdan çıktıları alındı.

Elde edilen kan, saç ve bukkal sürüntü örneklerinin DNA profil analiz sonuçları her olgu için kendi aralarında karşılaştırıldı.

Tablo 1: AmpFISTR® Identifiler® Plus Kit lokusları ve allelleri

STR lokusu	Kromozom lokasyonu	Identifiler Plus içindeki alleller Allelic Ladder	Kontrol DNA 9947A genotip
D8S1179	8	8, 9 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19	13
D21S11	21q11.2-q21	24, 24.2, 25, 26, 27, 28, 28.2, 29, 29.2, 30, 30.2, 31, 31.2, 32, 32.2, 33, 33.2, 34, 34.2, 35, 35.2, 36, 37, 38	30
D7S820	7q11.21-22	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15	10, 11
CSFIPO	5q33.3-34	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15	10, 12
D3S1358	3p	12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19	14, 15
TH01	11p15.5	4, 5, 6, 7, 8, 9, 9.3, 10, 11, 13.3	8, 9.3
D13S317	13q22-31	8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15	11
D16S539	16q24-qter	5, 8, 9, 10, 11, 12,13, 14, 15	11, 12
D2S1338	2q35-37.1	15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28	19, 23
D19S433	19q12-13.1	9, 10, 11, 12, 12.2, 13, 13.2, 14, 14.2, 15, 15.2, 16, 16.2, 17, 17.2	14, 15
vWA	12p12-pter	11,12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24	17, 18
TPOX	2p23-2per	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13	8
D18S51	18q21.3	7, 9, 10, 10.2, 11, 12, 13, 13.2, 14, 14.2, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27	15, 19
Amelogenin	X: p22.1-22.3 Y: p11.2	X, Y	X
D5S818	5q21-31	7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16	11
FGA	4q28	17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 26.2, 27, 28, 29, 30, 30.2, 31.2, 32.2, 33.2, 42.2, 43.2, 44.2, 45.2, 46.2, 47.2, 48.2, 50.2, 51.2	23, 24

Olguların; cinsiyet, hastalık, yaş, komplikasyon gelişip gelişmediği, alıcıları ile ilişkileri, transplantasyon sonrası geçen süre, örnekleri DNA profilleri arasında fark olup olmaması bilgileri SPSS 15.0 (Statistical Package for Social Science) bilgisayar programı ile değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı tarafından allo- PBSCT yapılmış 3'ü kadın, 2'si erkek toplam 5 hasta çalışmamıza gönüllü olarak katıldı. Hastaların yaş ortalaması 31.6 ± 13.18332 (minimum 18, maksimum 53 yaş) idi. Örnek alındığı sırada nakil sonrası geçen süre en az 2 ay, en fazla 30 aydı. Olguların 5'ine de malign hastalıklar nedeniyle transplantasyon yapılmıştı.

4 olguda kardeş, 1 olguda baba donör olarak kullanıldı. Olguların 2'sinde alıcı kadın, donör erkek, 2'sinde alıcı erkek, donör erkek ve 1'inde alıcı kadın, donör kadın idi. Allo-PBSCT yapılan gönüllülerin klinik bilgileri tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2: Allo PBSCT yapılan hastaların klinik bilgileri

Hasta no	Yaş	Alıcının cinsiyeti	Vericinin cinsiyeti	Vericinin kan bağı	Tanı	Nakil sonrası geçen süre (ay)	GVHD
1	18	Kadın	Erkek	Kardeşi	AML	10	Yok
2	25	Kadın	Erkek	Kardeşi	B hücreli lenfoblastik lenfoma	2	Yok
3	29	Kadın	Kadın	Kardeşi	AML	5	Yok
4	53	Erkek	Erkek	Kardeşi	AML	30	Yok
5	33	Erkek	Erkek	Babası	AML	4	Var

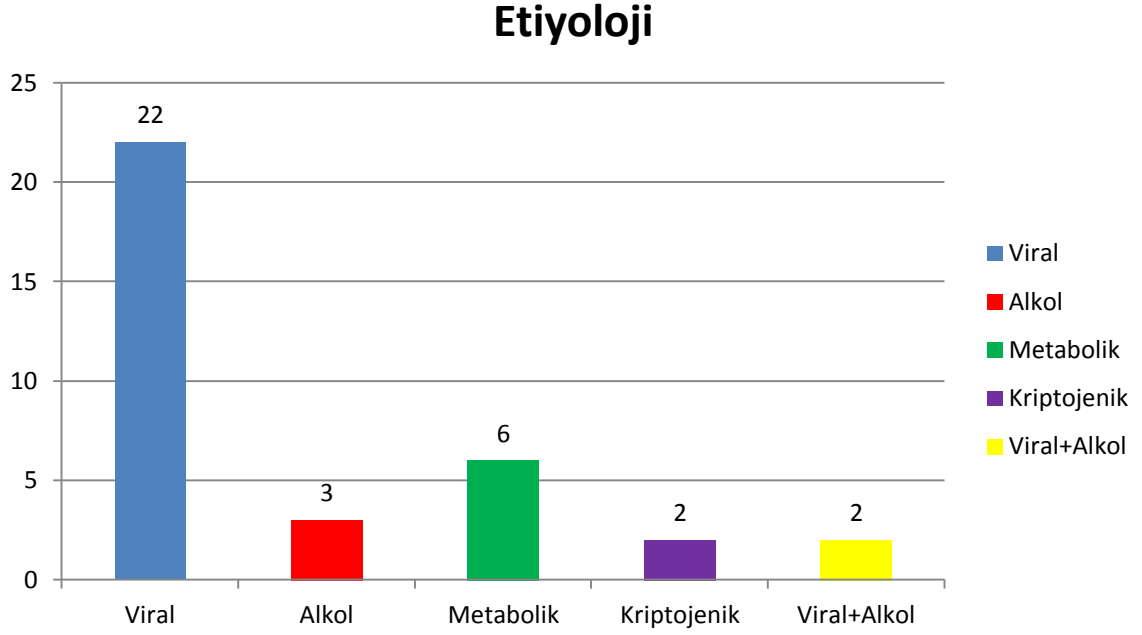
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı tarafından karaciğer nakli yapılmış 8'i kadın, 2'si erkek toplam 35 hasta çalışmamıza gönüllü olarak katıldı. Hastaların yaş ortalaması 46.3 ± 15.07544 (minimum 7, maksimum 67 yaş) idi. Örnek alındığı sırada nakil sonrası geçen süre en az 1 ay, en fazla 125 aydı (Tablo 3). Olguların 22'sine viral nedenlerle, 3'üne alkol kullanımı nedeniyle, 6'sına metabolik hastalıklar nedeniyle, 2'sine kriptojenik nedenlerle ve 2'sine hem viral hem de alkol kullanımı nedeniyle oluşan karaciğer yetmezliği sonucu karaciğer transplantasyonu yapılmıştı (Tablo 4).

16 olguda kan bağı olan akraba, 4 olguda kan bağı olmayan akraba ve 15 olguda kadavra donör olarak kullanıldı. Olguların 18'sinde alıcı erkek, donör erkek, 9'unda alıcı erkek, donör kadın, 6'sında alıcı kadın, donör erkek ve 2'sinde alıcı kadın, donör kadın idi. Karaciğer transplantasyonu yapılan gönüllülerin klinik bilgileri tablo 3'de gösterilmiştir.

Tablo 3: Karaciğer transplantasyonu yapılan hastaların klinik bigileri

Hasta no	Yaş	Alıcının cinsiyeti	Vericinin cinsiyeti	Vericinin kan bağı	Tanı	Nakil sonrası geçen süre (ay)	GVHD/ Rejeksiyon
1	58	Kadın	Erkek	Kadavra	HBV+delta	125	Yok
2	25	Erkek	Kadın	Kadavra	Wilson hst	122	Yok
3	54	Erkek	Kadın	Kızı	HBV+Alkol	111	Yok
4	34	Kadın	Erkek	Eşi	HBV	101	Yok
5	57	Erkek	Kadın	Kızı	HBV	101	Yok
6	54	Erkek	Erkek	Kadavra	HBV	93	Yok
7	59	Erkek	Erkek	Oğlu	HBV	91	Yok
8	59	Erkek	Erkek	Oğlu	Alkol	91	Yok
9	58	Erkek	Kadın	Yengesi	HBV	81	Yok
10	52	Erkek	Erkek	Kardeş	HBV+delta	71	Yok
11	54	Erkek	Erkek	Kadavra	HBV+delta	59	Yok
12	60	Kadın	Kadın	Kızı	HBV+delta	50	Yok
13	53	Erkek	Erkek	Kadavra	HBV+delta	46	Yok
14	46	Erkek	Kadın	Eşi	Kriptojenik	41	Yok
15	57	Kadın	Erkek	Kadavra	HBV+delta	41	Yok
16	47	Erkek	Erkek	Oğlu	HBV+delta	40	Yok
17	67	Erkek	Erkek	Oğlu	HCV	38	Yok
18	27	Erkek	Erkek	Oğlu	Glikojen Depo Hst.	36	Yok
19	55	Erkek	Erkek	Kardeşi	HBV	36	Yok
20	17	Erkek	Kadın	Kardeşi	Primer Hiperoksalüri	36	Akut rejeksiyon
21	26	Erkek	Kadın	Kadavra	HBV+delta	31	Yok
22	35	Erkek	Erkek	Kuzen	Hemokromatozis	30	Yok
23	19	Erkek	Erkek	Kadavra	HBV+delta	29	Yok
24	63	Kadın	Erkek	Kadavra	Fulminan Toksik Hepatit	23	Yok
25	7	Erkek	Erkek	Kadavra	Fulminan HAV	23	Akut rejeksiyon
26	52	Erkek	Kadın	Kadavra	HBV	20	Yok
27	51	Erkek	Erkek	Oğlu	HBV+delta+ Alkol	17	Yok
28	25	Kadın	Erkek	Kardeş	Biliyer darlık	10	Yok
29	43	Erkek	Erkek	Kadavra	Alkol	10	Yok
30	51	Erkek	Kadın	Kadavra	Alkol	7	Yok
31	41	Erkek	Erkek	Kardeş	HBV+delta	7	Yok
32	46	Kadın	Kadın	Kadavra	Wilson	5	Yok
33	46	Erkek	Erkek	Oğlu	HBV+delta	4	Yok
34	63	Kadın	Erkek	Kadavra	Kriptojenik	4	Yok
35	59	Erkek	Erkek	Oğlu	HCV	1	Yok

Tablo 4: Karaciğer nakli yapılan hastaların hastalık etiyojilerinin dağılımı



35'i karaciğer, 5'i kemik iliği transplantasyonu yapılmış 40 olgunun alınan kan, saç ve bukkal sürüntü örnekleri çalışılıp D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, THO1, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, Amelogenin, D5S818 ve FGA lokuslarına bakılarak sonuçlar karşılaştırıldı.

Allo- PBSCT yapılmış olguların 4'ünde kandan elde edilen DNA profilleri, saç ve bukkal sürüntü örneklerinden elde edilen DNA profilleri ile uyumsuzdu. 4 ay önce yapılan allo- PBSCT sonrası GVHD gelişmiş ve tekrar nakil planlanan 5. olgunun 3 örneğinin DNA profili aynıydı. Bu bulgu istatistiksel olarak anlamlıydı. (p: 0.025) Bulguların istatistiksel değerlendirmelerinde; kan, saç ve bukkal sürüntü örneklerinin DNA profillerindeki farklar ile hastaların yaşı, cinsiyeti, donörün cinsiyeti, hastalığın tanısı ve transplantasyon sonrası geçen süreler arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlılık göstermedi. Olguların hiç birinde mikso kimerizme ait bulgu saptanmadı. Bu 5 olgunun örneklerinin STR profil sonuçları ayrıntılı olarak tablo 5'tedir.

Tablo 5: Allo- PBSCT yapılan olguların STR profil sonuçları

Olgu Örnek STRlokusları																	Amolegenin
1		D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	VWA	TPOX	D18S51	D5S818	FGA	
	Kan	13, 14	31,2	9,12	12	17	8,9	9,12	13,14	18,19	12,14	16,18	8	14	10,11	20,25	X,Y
	Kıl	13, 14	30,31.2	12	12	16,17	8,9	12	10,11	18,19	13,15	16,18	8	14	10,11	19,25	X
Bukkal	13, 14	30,31.2	12	12	16,17	8,9	12	10,11	18,19	13,15	16,18	8	14	10,11	19,25	X	
2		D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	VWA	TPOX	D18S51	D5S818	FGA	
	Kan	14	28,30	7,8	10	15,17	6,8	10,13	11,13	20,24	12,16.2	17	8	14,17	11,12	22,23	X,Y
	Kıl	13	28,30	7,8	10,11	15,18	7,9	10,13	11,13	20,24	12	17	8,11	14,17	12,13	19,23	X
Bukkal	13	28,30	7,8	10,11	15,18	7,9	10,13	11,13	20,24	12	17	8,11	14,17	12,13	19,23	X	
3		D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	VWA	TPOX	D18S51	D5S818	FGA	
	Kan	11,13	27,31.2	11	10,11	15,17	6	11	11,12	20,21	12,13	15,18	8,12	18,20	10,12	21,25	X
	Kıl	14,16	29,31.2	9,11	12	17,18	6,9	11	12,13	17,21	13	17,18	8,11	18,20	10,13	21,25	X
Bukkal	14,16	29,31.2	9,11	12	17,18	6,9	11	12,13	17,21	13	17,18	8,11	18,20	10,13	21,25	X	
4		D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	VWA	TPOX	D18S51	D5S818	FGA	
	Kan	13, 15	30,31.2	10,12	10,11	17,19	6,7	12,13	11	19,23	12,2,16	16	9,11	13,16	12,13	20,21	X,Y
	Kıl	14, 15	29	11,13	9,10	16,17	6,9	8,12	11	20,23	13,2,16	15	8,9	13,20	12	20,21	X,Y
Bukkal	14, 15	29	11,13	9,10	16,17	6,9	8,12	11	20,23	13,2,16	15	8,9	13,20	12	20,21	X,Y	
5		D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	VWA	TPOX	D18S51	D5S818	FGA	
	Kan	15	27,30	9,11	11,12	15,16	6	12	9,10	23,25	13,15.2	16,18	8	10,13	10,11	23,25	X,Y
	Kıl	15	27,30	9,11	11,12	15,16	6	12	9,10	23,25	13,15.2	16,18	8	10,13	10,11	23,25	X,Y
Bukkal	15	27,30	9,11	11,12	15,16	6	12	9,10	23,25	13,15.2	16,18	8	10,13	10,11	23,25	X,Y	

Karaciğer transplantasyonu yapılmış 35 olgunun hepsinde alınan kan, saç ve bukkal sürüntü örneklerinin DNA profilleri aynı saptandı. Bulguların istatistiksel değerlendirmelerinde; kan, saç ve bukkal sürüntü örneklerinin DNA profillerindeki farklar ile hastaların yaşı, cinsiyeti, donörün cinsiyeti, hastalığın tanısı ve transplantasyon sonrası geçen süreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı. Bu 35 olgunun örneklerinin STR profil sonuçları ayrıntılı olarak tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6: Karaciğer transplantasyonu yapılan olguların STR profil sonuçları

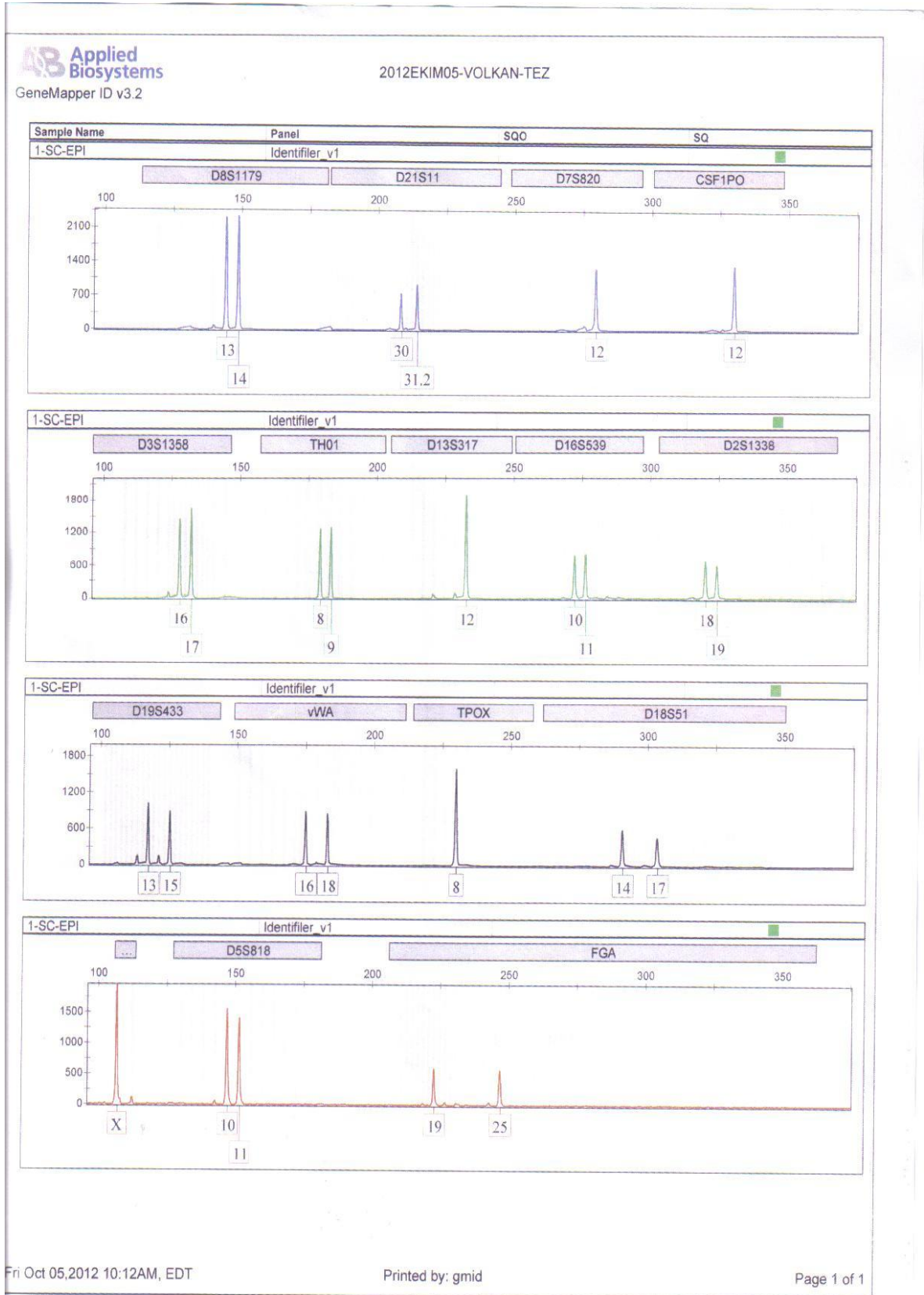
Olgu Örnek STRlokusları																	Amolegenin
1		D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	VWA	TPOX	D18S51	D5S818	FGA	
	Kan	10, 16	26,29	11,13	10,12	15,16	9,3	8,12	9,12	19,24	12,14	18,19	8,12	14,16	12	20,26	X
	Kıl	10, 16	26,29	11,13	10,12	15,16	9,3	8,12	9,12	19,24	12,14	18,19	8,12	14,16	12	20,26	X
Bukkal	10, 16	26,29	11,13	10,12	15,16	9,3	8,12	9,12	19,24	12,14	18,19	8,12	14,16	12	20,26	X	
2		D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	VWA	TPOX	D18S51	D5S818	FGA	
	Kan	14	28,30.2	11,12	10,11	15	6	10,12	10,12	16,17	13,15	17,19	8	15,17	11,13	23	X,Y
	Kıl	14	28,30.2	11,12	10,11	15	6	10,12	10,12	16,17	13,15	17,19	8	15,17	11,13	23	X,Y
Bukkal	14	28,30.2	11,12	10,11	15	6	10,12	10,12	16,17	13,15	17,19	8	15,17	11,13	23	X,Y	
3		D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	VWA	TPOX	D18S51	D5S818	FGA	
	Kan	13,14	28,33.2	9	12,13	16,18	6,9.3	10,12	10,11	17,21	14,15	14,15	8,9	14,16	11,12	20,21	X,Y
	Kıl	13,14	28,33.2	9	12,13	16,18	6,9.3	10,12	10,11	17,21	14,15	14,15	8,9	14,16	11,12	20,21	X,Y
Bukkal	13,14	28,33.2	9	12,13	16,18	6,9.3	10,12	10,11	17,21	14,15	14,15	8,9	14,16	11,12	20,21	X,Y	

Olgu Örnek STRlokusları															Amolegenin		
4		D8S1179 D21S11 D7S820 CSFIPO D3S1358 THO1 D13S317 D16S539 D2S1338 D19S433 VWA TPOX D18S51 D5S818 FGA															
	Kan	13,14	29,30	9,10	11,12	17	6,9,3	9,12	9,13	19,23	12,14	14,18	8,9	14,15	11	21,25	X
	Kil	13,14	29,30	9,10	11,12	17	6,9,3	9,12	9,13	19,23	12,14	14,18	8,9	14,15	11	21,25	X
	Bukkal	13,14	29,30	9,10	11,12	17	6,9,3	9,12	9,13	19,23	12,14	14,18	8,9	14,15	11	21,25	X
5		D8S1179 D21S11 D7S820 CSFIPO D3S1358 THO1 D13S317 D16S539 D2S1338 D19S433 VWA TPOX D18S51 D5S818 FGA															
	Kan	14,15	31,2,33.1	8,9	10,12	17,18	9	9,14	12	20,23	13,14	17	8,9	13,16	9,10	20	X,Y
	Kil	14,15	31,2,33.1	8,9	10,12	17,18	9	9,14	12	20,23	13,14	17	8,9	13,16	9,10	20	X,Y
	Bukkal	14,15	31,2,33.1	8,9	10,12	17,18	9	9,14	12	20,23	13,14	17	8,9	13,16	9,10	20	X,Y
6		D8S1179 D21S11 D7S820 CSFIPO D3S1358 THO1 D13S317 D16S539 D2S1338 D19S433 VWA TPOX D18S51 D5S818 FGA															
	Kan	13,15	29,30	11,12	9,12	17	9,9.3	13	11,12	21,23	13,16.2	17	8,12	16,17	10,11	23,25	X,Y
	Kil	13,15	29,30	11,12	9,12	17	9,9.3	13	11,12	21,23	13,16.2	17	8,12	16,17	10,11	23,25	X,Y
	Bukkal	13,15	29,30	11,12	9,12	17	9,9.3	13	11,12	21,23	13,16.2	17	8,12	16,17	10,11	23,25	X,Y
7		D8S1179 D21S11 D7S820 CSFIPO D3S1358 THO1 D13S317 D16S539 D2S1338 D19S433 VWA TPOX D18S51 D5S818 FGA															
	Kan	13,15	27,31	10	10,11	16,17	6,9,3	8,11	11	17,22	13,14	16,17	12	12,13	11,12	23,24	X,Y
	Kil	13,15	27,31	10	10,11	16,17	6,9,3	8,11	11	17,22	13,14	16,17	12	12,13	11,12	23,24	X,Y
	Bukkal	13,15	27,31	10	10,11	16,17	6,9,3	8,11	11	17,22	13,14	16,17	12	12,13	11,12	23,24	X,Y
8		D8S1179 D21S11 D7S820 CSFIPO D3S1358 THO1 D13S317 D16S539 D2S1338 D19S433 VWA TPOX D18S51 D5S818 FGA															
	Kan	11,14	30,33.2	8	10,12	15,17	9,10	8,10	11	20,23	14	17,19	8,11	12,17	9,11	22,2,23	X,Y
	Kil	11,14	30,33.2	8	10,12	15,17	9,10	8,10	11	20,23	14	17,19	8,11	12,17	9,11	22,2,23	X,Y
	Bukkal	11,14	30,33.2	8	10,12	15,17	9,10	8,10	11	20,23	14	17,19	8,11	12,17	9,11	22,2,23	X,Y
9		D8S1179 D21S11 D7S820 CSFIPO D3S1358 THO1 D13S317 D16S539 D2S1338 D19S433 VWA TPOX D18S51 D5S818 FGA															
	Kan	13,14	29,30	9,12	12	15,16	6,9	8,11	12	17,27	13,15	15,16	8	12,14	11,12	20,23	X,Y
	Kil	13,14	29,30	9,12	12	15,16	6,9	8,11	12	17,27	13,15	15,16	8	12,14	11,12	20,23	X,Y
	Bukkal	13,14	29,30	9,12	12	15,16	6,9	8,11	12	17,27	13,15	15,16	8	12,14	11,12	20,23	X,Y
10		D8S1179 D21S11 D7S820 CSFIPO D3S1358 THO1 D13S317 D16S539 D2S1338 D19S433 VWA TPOX D18S51 D5S818 FGA															
	Kan	11,13	31,32.2	8,10	12	17	9,9.3	12	12,14	19,23	13,14	15,17	9,11	13,15	11	21,22	X,Y
	Kil	11,13	31,32.2	8,10	12	17	9,9.3	12	12,14	19,23	13,14	15,17	9,11	13,15	11	21,22	X,Y
	Bukkal	11,13	31,32.2	8,10	12	17	9,9.3	12	12,14	19,23	13,14	15,17	9,11	13,15	11	21,22	X,Y
11		D8S1179 D21S11 D7S820 CSFIPO D3S1358 THO1 D13S317 D16S539 D2S1338 D19S433 VWA TPOX D18S51 D5S818 FGA															
	Kan	10,13	28,29	8,10	11	14,16	7	8,11	11,12	19,24	14,16	16,17	8,11	17,18	12,13	21,24	X,Y
	Kil	10,13	28,29	8,10	11	14,16	7	8,11	11,12	19,24	14,16	16,17	8,11	17,18	12,13	21,24	X,Y
	Bukkal	10,13	28,29	8,10	11	14,16	7	8,11	11,12	19,24	14,16	16,17	8,11	17,18	12,13	21,24	X,Y
12		D8S1179 D21S11 D7S820 CSFIPO D3S1358 THO1 D13S317 D16S539 D2S1338 D19S433 VWA TPOX D18S51 D5S818 FGA															
	Kan	13,15	30,31.2	9,11	10,12	16,18	6,8	11	10,11	17,20	14,15	14,16	10,11	12,13	11	20,21	X
	Kil	13,15	30,31.2	9,11	10,12	16,18	6,8	11	10,11	17,20	14,15	14,16	10,11	12,13	11	20,21	X
	Bukkal	13,15	30,31.2	9,11	10,12	16,18	6,8	11	10,11	17,20	14,15	14,16	10,11	12,13	11	20,21	X
13		D8S1179 D21S11 D7S820 CSFIPO D3S1358 THO1 D13S317 D16S539 D2S1338 D19S433 VWA TPOX D18S51 D5S818 FGA															
	Kan	13,15	29,32.2	9,10	11,14	15,16	6,7	10,12	11	17,20	12,13	17	8,11	17,19	10,11	22	X,Y
	Kil	13,15	29,32.2	9,10	11,14	15,16	6,7	10,12	11	17,20	12,13	17	8,11	17,19	10,11	22	X,Y
	Bukkal	13,15	29,32.2	9,10	11,14	15,16	6,7	10,12	11	17,20	12,13	17	8,11	17,19	10,11	22	X,Y
14		D8S1179 D21S11 D7S820 CSFIPO D3S1358 THO1 D13S317 D16S539 D2S1338 D19S433 VWA TPOX D18S51 D5S818 FGA															
	Kan	10,13	29,33.2	8,10	11	15,17	6,8	12	9,10	17,20	13	14	8,11	12,16	11,12	18,20	X,Y
	Kil	10,13	29,33.2	8,10	11	15,17	6,8	12	9,10	17,20	13	14	8,11	12,16	11,12	18,20	X,Y
	Bukkal	10,13	29,33.2	8,10	11	15,17	6,8	12	9,10	17,20	13	14	8,11	12,16	11,12	18,20	X,Y
15		D8S1179 D21S11 D7S820 CSFIPO D3S1358 THO1 D13S317 D16S539 D2S1338 D19S433 VWA TPOX D18S51 D5S818 FGA															
	Kan	12,14	28,29	12,14	10,11	14,18	7,9.3	9,12	9,13	22,25	12,14	14,17	10,11	14,15	9,13	22,25	X,Y
	Kil	12,14	28,29	12,14	10,11	14,18	7,9.3	9,12	9,13	22,25	12,14	14,17	10,11	14,15	9,13	22,25	X,Y
	Bukkal	12,14	28,29	12,14	10,11	14,18	7,9.3	9,12	9,13	22,25	12,14	14,17	10,11	14,15	9,13	22,25	X,Y
16		D8S1179 D21S11 D7S820 CSFIPO D3S1358 THO1 D13S317 D16S539 D2S1338 D19S433 VWA TPOX D18S51 D5S818 FGA															
	Kan	12,14	29,31.2	10,11	12,13	17	6	11,12	13	17,20	12,14	17,18	11	12,14	11,12	23	X,Y
	Kil	12,14	29,31.2	10,11	12,13	17	6	11,12	13	17,20	12,14	17,18	11	12,14	11,12	23	X,Y
	Bukkal	12,14	29,31.2	10,11	12,13	17	6	11,12	13	17,20	12,14	17,18	11	12,14	11,12	23	X,Y

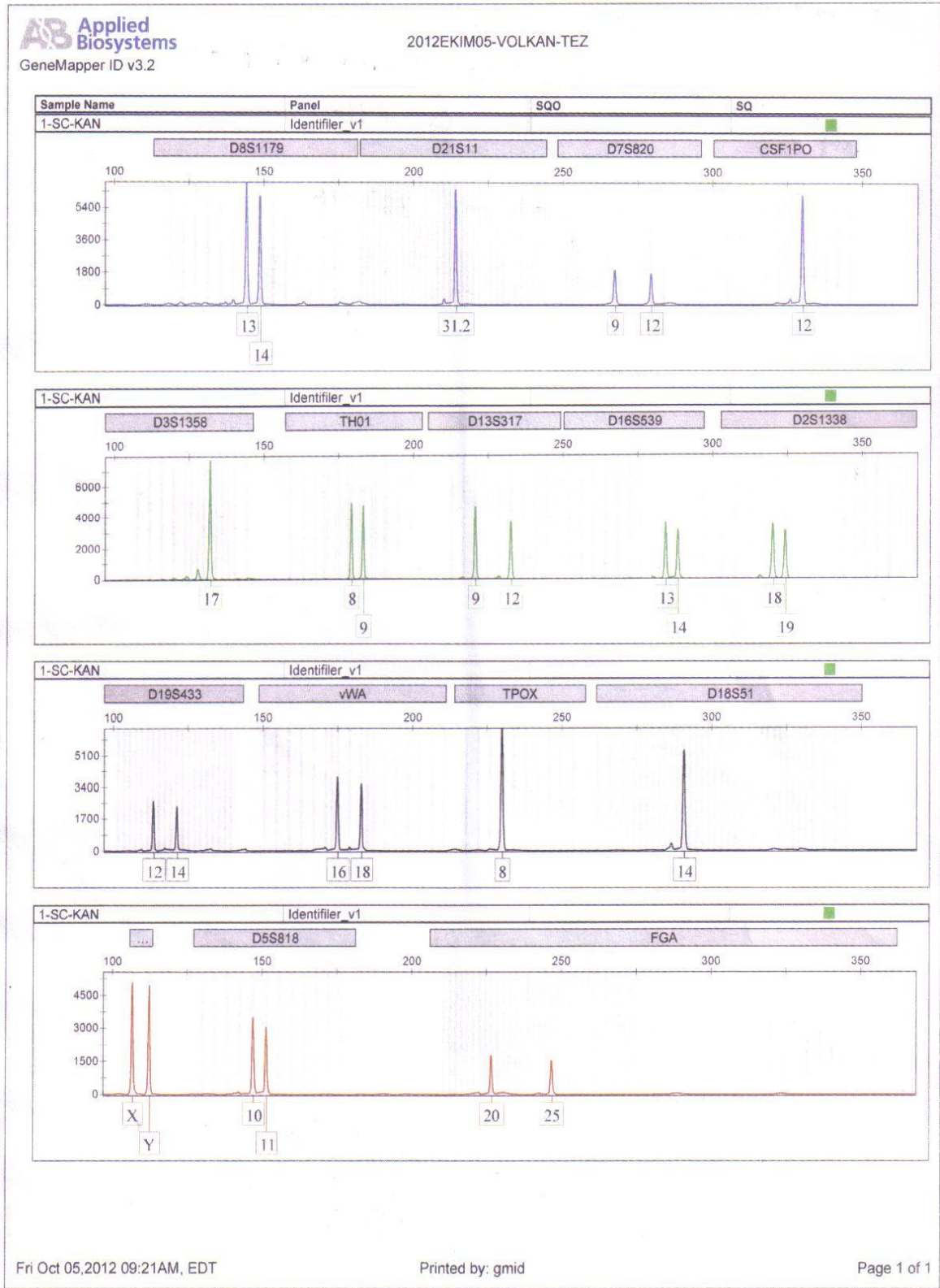
Olgu Örnek STRlokusları															Amolegenin		
17	D8S1179 D21S11 D7S820 CSFIPO D3S1358 THO1 D13S317 D16S539 D2S1338 D19S433 VWA TPOX D18S51 D5S818 FGA																
	Kan	13,14	29,30	7,10	10	17,18	6	11,12	11	17,23	14,15.2	17,19	8,10	15,17	12,13	22,24	X,Y
	Kil	13,14	29,30	7,10	10	17,18	6	11,12	11	17,23	14,15.2	17,19	8,10	15,17	12,13	22,24	X,Y
Bukkal	13,14	29,30	7,10	10	17,18	6	11,12	11	17,23	14,15.2	17,19	8,10	15,17	12,13	22,24	X,Y	
18	D8S1179 D21S11 D7S820 CSFIPO D3S1358 THO1 D13S317 D16S539 D2S1338 D19S433 VWA TPOX D18S51 D5S818 FGA																
	Kan	15,16	28,30	11,12	12,13	15,16	6,9.3	11	11,12	17	13,14	15,19	8	17,18	9,12	23	X,Y
	Kil	15,16	28,30	11,12	12,13	15,16	6,9.3	11	11,12	17	13,14	15,19	8	17,18	9,12	23	X,Y
Bukkal	15,16	28,30	11,12	12,13	15,16	6,9.3	11	11,12	17	13,14	15,19	8	17,18	9,12	23	X,Y	
19	D8S1179 D21S11 D7S820 CSFIPO D3S1358 THO1 D13S317 D16S539 D2S1338 D19S433 VWA TPOX D18S51 D5S818 FGA																
	Kan	12,14	30	10,12	10,11	15	8,9	10,12	11,13	23,25	13,14	16,18	8,11	12,13	12,13	21,26	X,Y
	Kil	12,14	30	10,12	10,11	15	8,9	10,12	11,13	23,25	13,14	16,18	8,11	12,13	12,13	21,26	X,Y
Bukkal	12,14	30	10,12	10,11	15	8,9	10,12	11,13	23,25	13,14	16,18	8,11	12,13	12,13	21,26	X,Y	
20	D8S1179 D21S11 D7S820 CSFIPO D3S1358 THO1 D13S317 D16S539 D2S1338 D19S433 VWA TPOX D18S51 D5S818 FGA																
	Kan	12,14	29,31	12	8,11	14,18	8,9	10,11	11,12	18,20	14	14,16	11	15	11	20	X,Y
	Kil	12,14	29,31	12	8,11	14,18	8,9	10,11	11,12	18,20	14	14,16	11	15	11	20	X,Y
Bukkal	12,14	29,31	12	8,11	14,18	8,9	10,11	11,12	18,20	14	14,16	11	15	11	20	X,Y	
21	D8S1179 D21S11 D7S820 CSFIPO D3S1358 THO1 D13S317 D16S539 D2S1338 D19S433 VWA TPOX D18S51 D5S818 FGA																
	Kan	10,13	29,32	8	10	17	7,8	8,11	10	17	12,15.2	16	8,11	13,16	12	21	X,Y
	Kil	10,13	29,32	8	10	17	7,8	8,11	10	17	12,15.2	16	8,11	13,16	12	21	X,Y
Bukkal	10,13	29,32	8	10	17	7,8	8,11	10	17	12,15.2	16	8,11	13,16	12	21	X,Y	
22	D8S1179 D21S11 D7S820 CSFIPO D3S1358 THO1 D13S317 D16S539 D2S1338 D19S433 VWA TPOX D18S51 D5S818 FGA																
	Kan	13	27,29	8,9	10,12	15,16	6,9.3	12,13	10,11	20,23	13,16	16,18	10	13,15	9,10	18,23	X,Y
	Kil	13	27,29	8,9	10,12	15,16	6,9.3	12,13	10,11	20,23	13,16	16,18	10	13,15	9,10	18,23	X,Y
Bukkal	13	27,29	8,9	10,12	15,16	6,9.3	12,13	10,11	20,23	13,16	16,18	10	13,15	9,10	18,23	X,Y	
23	D8S1179 D21S11 D7S820 CSFIPO D3S1358 THO1 D13S317 D16S539 D2S1338 D19S433 VWA TPOX D18S51 D5S818 FGA																
	Kan	10,14	30,32	8	10	15,17	7,8	11	10,11	17	12,15	16,17	8,11	13,16	11,12	20,21	X,Y
	Kil	10,14	30,32	8	10	15,17	7,8	11	10,11	17	12,15	16,17	8,11	13,16	11,12	20,21	X,Y
Bukkal	10,14	30,32	8	10	15,17	7,8	11	10,11	17	12,15	16,17	8,11	13,16	11,12	20,21	X,Y	
24	D8S1179 D21S11 D7S820 CSFIPO D3S1358 THO1 D13S317 D16S539 D2S1338 D19S433 VWA TPOX D18S51 D5S818 FGA																
	Kan	13,14	29	8,11	11,12	15,17	6,9	8	11	17,24	13,14.2	16	11	17	10,12	24,26	X
	Kil	13,14	29	8,11	11,12	15,17	6,9	8	11	17,24	13,14.2	16	11	17	10,12	24,26	X
Bukkal	13,14	29	8,11	11,12	15,17	6,9	8	11	17,24	13,14.2	16	11	17	10,12	24,26	X	
25	D8S1179 D21S11 D7S820 CSFIPO D3S1358 THO1 D13S317 D16S539 D2S1338 D19S433 VWA TPOX D18S51 D5S818 FGA																
	Kan	11,12	28,33	11	11,12	15,18	6,8	10,13	10,11	16,20	13,16.2	17,19	11	14,21	12	23	XY
	Kil	11,12	28,33	11	11,12	15,18	6,8	10,13	10,11	16,20	13,16.2	17,19	11	14,21	12	23	XY
Bukkal	11,12	28,33	11	11,12	15,18	6,8	10,13	10,11	16,20	13,16.2	17,19	11	14,21	12	23	XY	
26	D8S1179 D21S11 D7S820 CSFIPO D3S1358 THO1 D13S317 D16S539 D2S1338 D19S433 VWA TPOX D18S51 D5S818 FGA																
	Kan	13	28,29	9,10	11,13	15,16	6,7	10,12	11	20	13,14	15,19	9,11	17,18	12	19,23	XY
	Kil	13	28,29	9,10	11,13	15,16	6,7	10,12	11	20	13,14	15,19	9,11	17,18	12	19,23	XY
Bukkal	13	28,29	9,10	11,13	15,16	6,7	10,12	11	20	13,14	15,19	9,11	17,18	12	19,23	XY	
27	D8S1179 D21S11 D7S820 CSFIPO D3S1358 THO1 D13S317 D16S539 D2S1338 D19S433 VWA TPOX D18S51 D5S818 FGA																
	Kan	13,15	30,33.2	11,12	10,12	15,17	6,7	12,13	9,12	21,22	14,16	17,18	8	13,14	11,13	20,23	XY
	Kil	13,15	30,33.2	11,12	10,12	15,17	6,7	12,13	9,12	21,22	14,16	17,18	8	13,14	11,13	20,23	XY
Bukkal	13,15	30,33.2	11,12	10,12	15,17	6,7	12,13	9,12	21,22	14,16	17,18	8	13,14	11,13	20,23	XY	
28	D8S1179 D21S11 D7S820 CSFIPO D3S1358 THO1 D13S317 D16S539 D2S1338 D19S433 VWA TPOX D18S51 D5S818 FGA																
	Kan	11,13	29,30	8,11	11,12	16,17	6,7	8,12	11,12	18,23	13,14	17,19	8,9	15,16	13	25	X
	Kil	11,13	29,30	8,11	11,12	16,17	6,7	8,12	11,12	18,23	13,14	17,19	8,9	15,16	13	25	X
Bukkal	11,13	29,30	8,11	11,12	16,17	6,7	8,12	11,12	18,23	13,14	17,19	8,9	15,16	13	25	X	
29	D8S1179 D21S11 D7S820 CSFIPO D3S1358 THO1 D13S317 D16S539 D2S1338 D19S433 VWA TPOX D18S51 D5S818 FGA																
	Kan	13,15	29,32.2	12	9,13	15,18	8,9.3	8,11	8,12	23,24	13,16	15,17	10,11	13,18	12,13	21,22	XY
	Kil	13,15	29,32.2	12	9,13	15,18	8,9.3	8,11	8,12	23,24	13,16	15,17	10,11	13,18	12,13	21,22	XY
Bukkal	13,15	29,32.2	12	9,13	15,18	8,9.3	8,11	8,12	23,24	13,16	15,17	10,11	13,18	12,13	21,22	XY	

Olgu Örnek STRlokusları																Amolegenin	
30		D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	THO1	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	VWA	TPOX	D18S51	D5S818	FGA	
	Kan	10,16	29	10,12	9,10	15	6,8	8,12	11,12	17	13,15	16,17	11,12	13,15	12	21,24	XY
	Kil	10,16	29	10,12	9,10	15	6,8	8,12	11,12	17	13,15	16,17	11,12	13,15	12	21,24	XY
	Bukkal	10,16	29	10,12	9,10	15	6,8	8,12	11,12	17	13,15	16,17	11,12	13,15	12	21,24	XY
31		D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	THO1	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	VWA	TPOX	D18S51	D5S818	FGA	
	Kan	9,14	30,31.2	11,12	11	15,17	8	12,13	12,13	17,20	14,15	14,15	8,9	17	12,13	22,24	X
	Kil	9,14	30,31.2	11,12	11	15,17	8	12,13	12,13	17,20	14,15	14,15	8,9	17	12,13	22,24	X
	Bukkal	9,14	30,31.2	11,12	11	15,17	8	12,13	12,13	17,20	14,15	14,15	8,9	17	12,13	22,24	X
32		D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	THO1	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	VWA	TPOX	D18S51	D5S818	FGA	
	Kan	13	28,30	8,11	10,11	15,17	7,9	13,14	9,12	16,19	14,15.2	15,18	8,12	12,13	10,12	19,26	X
	Kil	13	28,30	8,11	10,11	15,17	7,9	13,14	9,12	16,19	14,15.2	15,18	8,12	12,13	10,12	19,26	X
	Bukkal	13	28,30	8,11	10,11	15,17	7,9	13,14	9,12	16,19	14,15.2	15,18	8,12	12,13	10,12	19,26	X
33		D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	THO1	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	VWA	TPOX	D18S51	D5S818	FGA	
	Kan	13,14	28,31.2	8,10	12	17,18	9,9.3	11	10,12	17,23	15,15.2	14,19	8,11	15,18	11,12	20,24	XY
	Kil	13,14	28,31.2	8,10	12	17,18	9,9.3	11	10,12	17,23	15,15.2	14,19	8,11	15,18	11,12	20,24	XY
	Bukkal	13,14	28,31.2	8,10	12	17,18	9,9.3	11	10,12	17,23	15,15.2	14,19	8,11	15,18	11,12	20,24	XY
34		D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	THO1	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	VWA	TPOX	D18S51	D5S818	FGA	
	Kan	13,14	29,30	9,11	10,12	16	8,9	8,13	10,12	18,25	14,17.2	16	8,9	12,17	11,12	22	X
	Kil	13,14	29,30	9,11	10,12	16	8,9	8,13	10,12	18,25	14,17.2	16	8,9	12,17	11,12	22	X
	Bukkal	13,14	29,30	9,11	10,12	16	8,9	8,13	10,12	18,25	14,17.2	16	8,9	12,17	11,12	22	X
35		D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	THO1	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	VWA	TPOX	D18S51	D5S818	FGA	
	Kan	12,15	30,31	11	12	16	7	12,13	12,13	19,20	13,14	16,17	8,12	13,15	11	19,20	XY
	Kil	12,15	30,31	11	12	16	7	12,13	12,13	19,20	13,14	16,17	8,12	13,15	11	19,20	XY
	Bukkal	12,15	30,31	11	12	16	7	12,13	12,13	19,20	13,14	16,17	8,12	13,15	11	19,20	XY

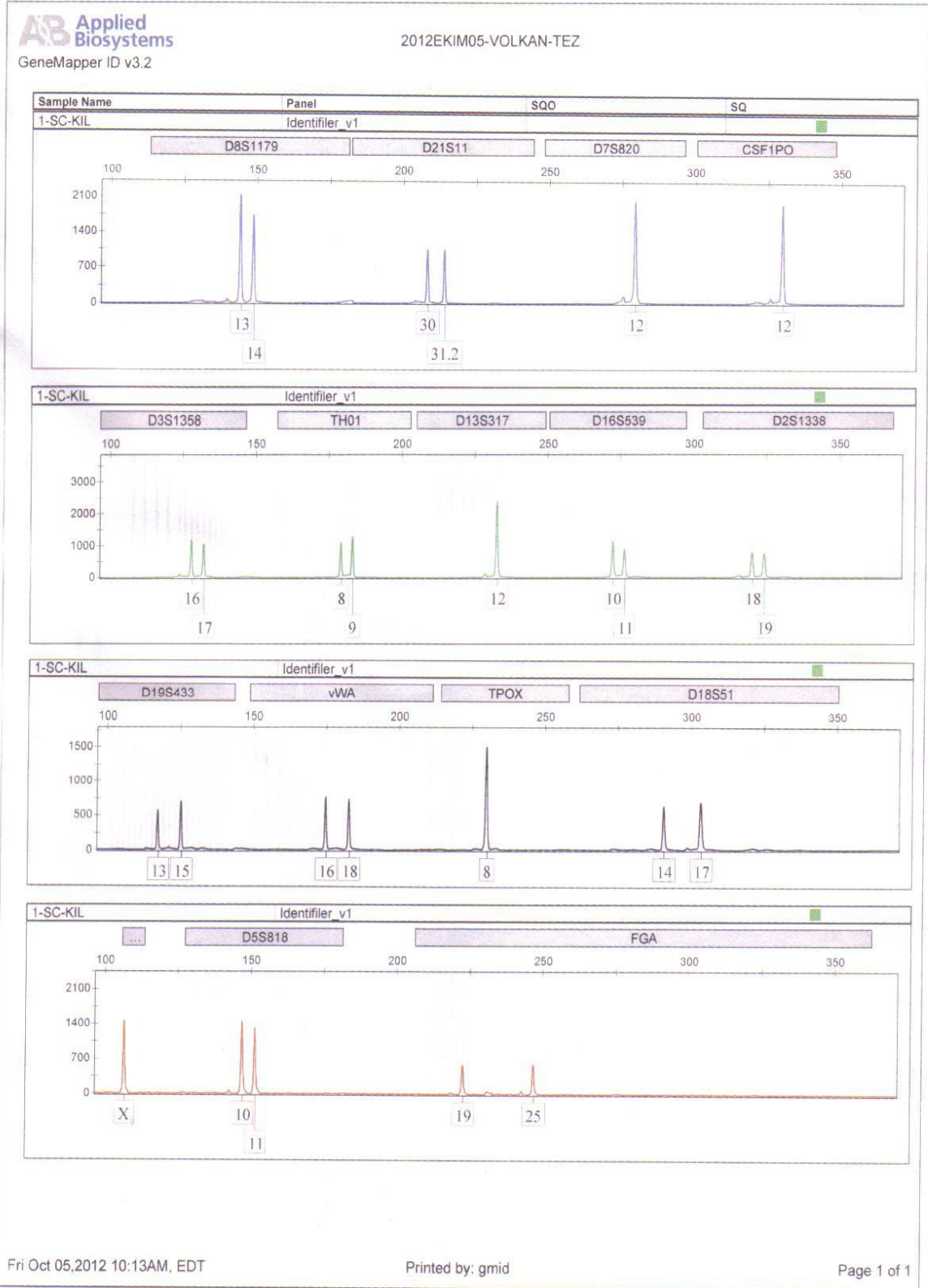
Tablo 7: Allo- PBSCT yapılmış 1. olgunun bukkal sürüntü örneği DNA profili analizi



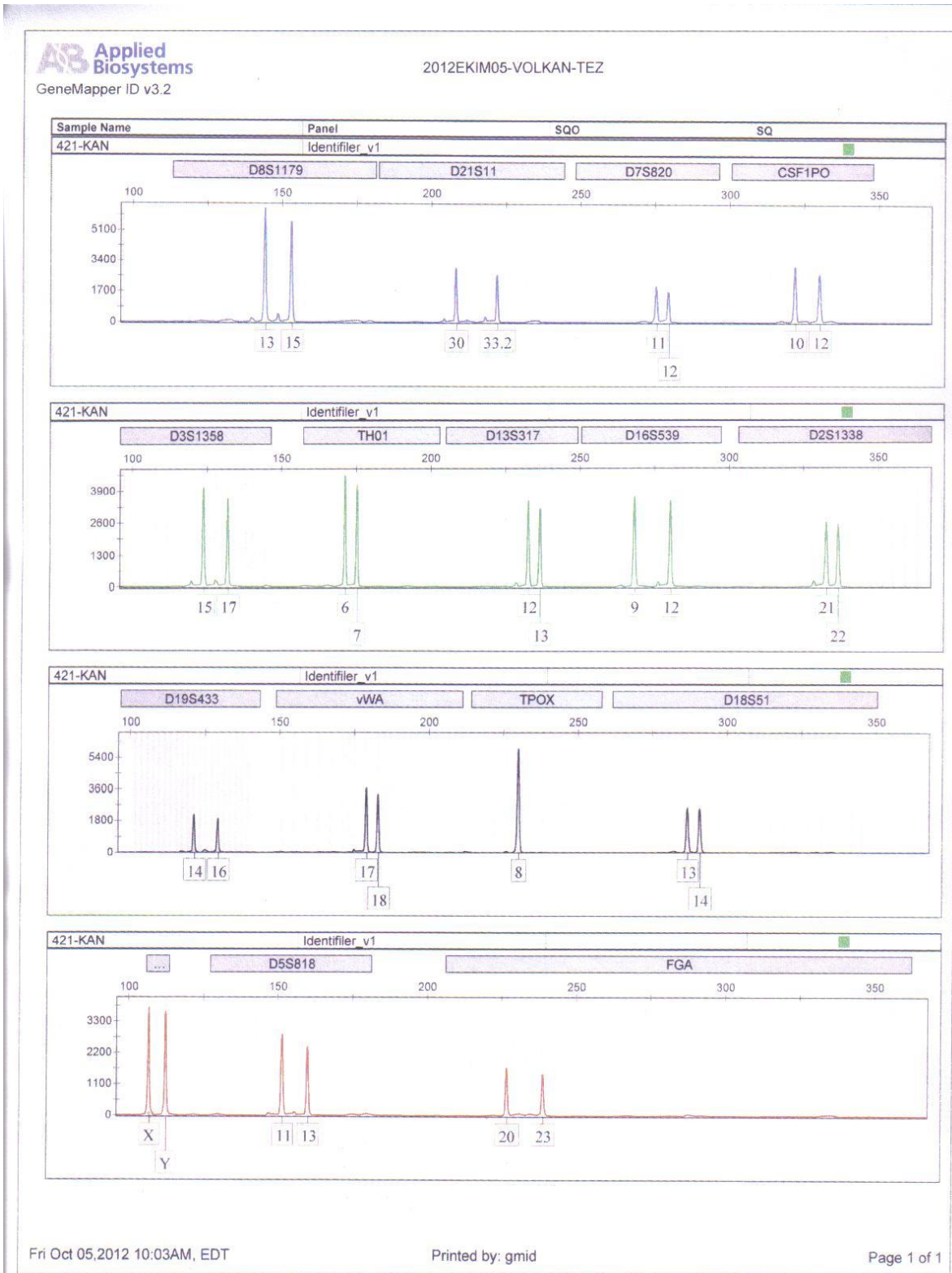
Tablo 8: Allo- PBSCT yapılmış 1. olgunun kan örneği DNA profili analizi



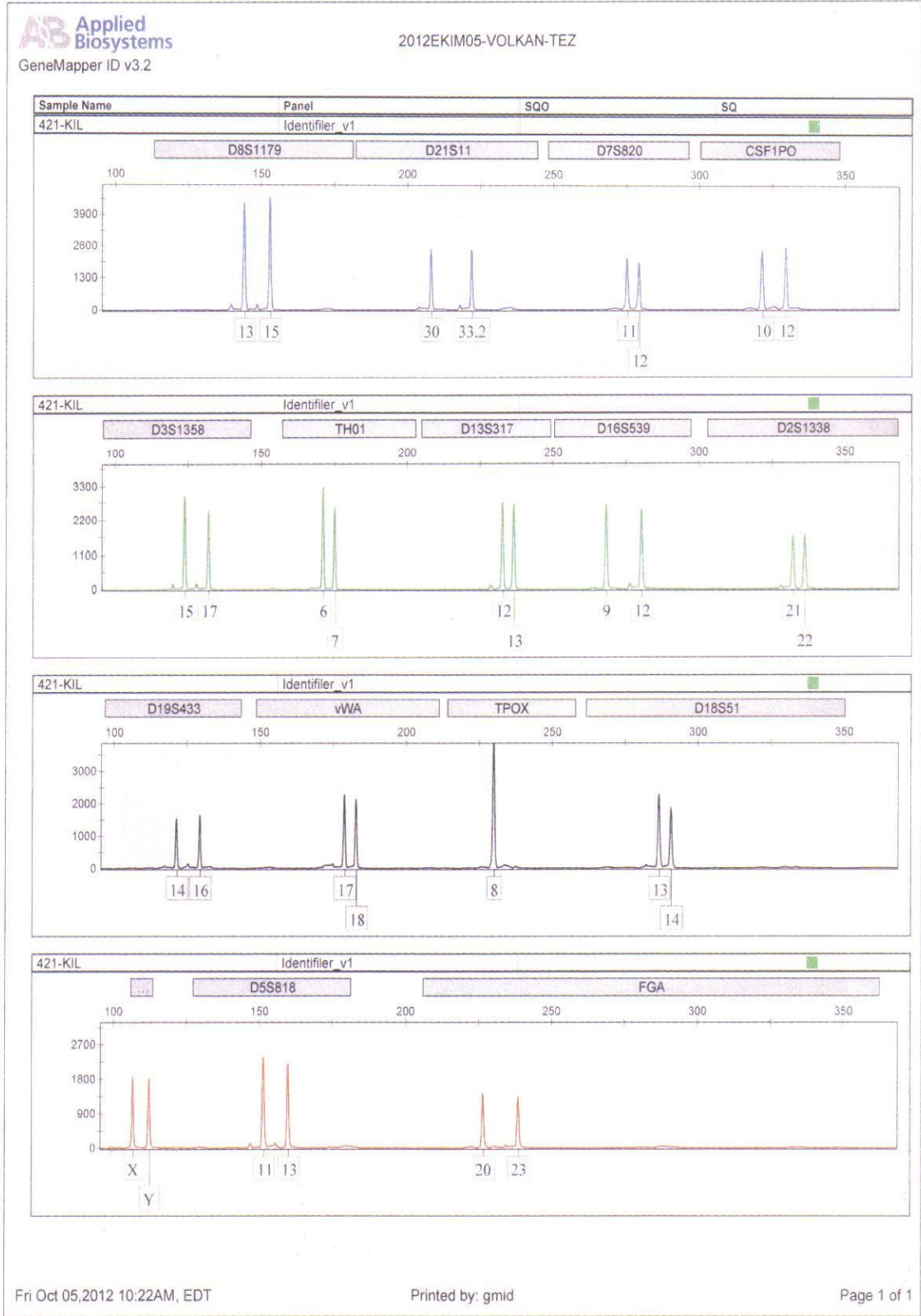
Tablo 9: Allo- PBSCT yapılmış 1. olgunun saç örneği DNA profili analizi



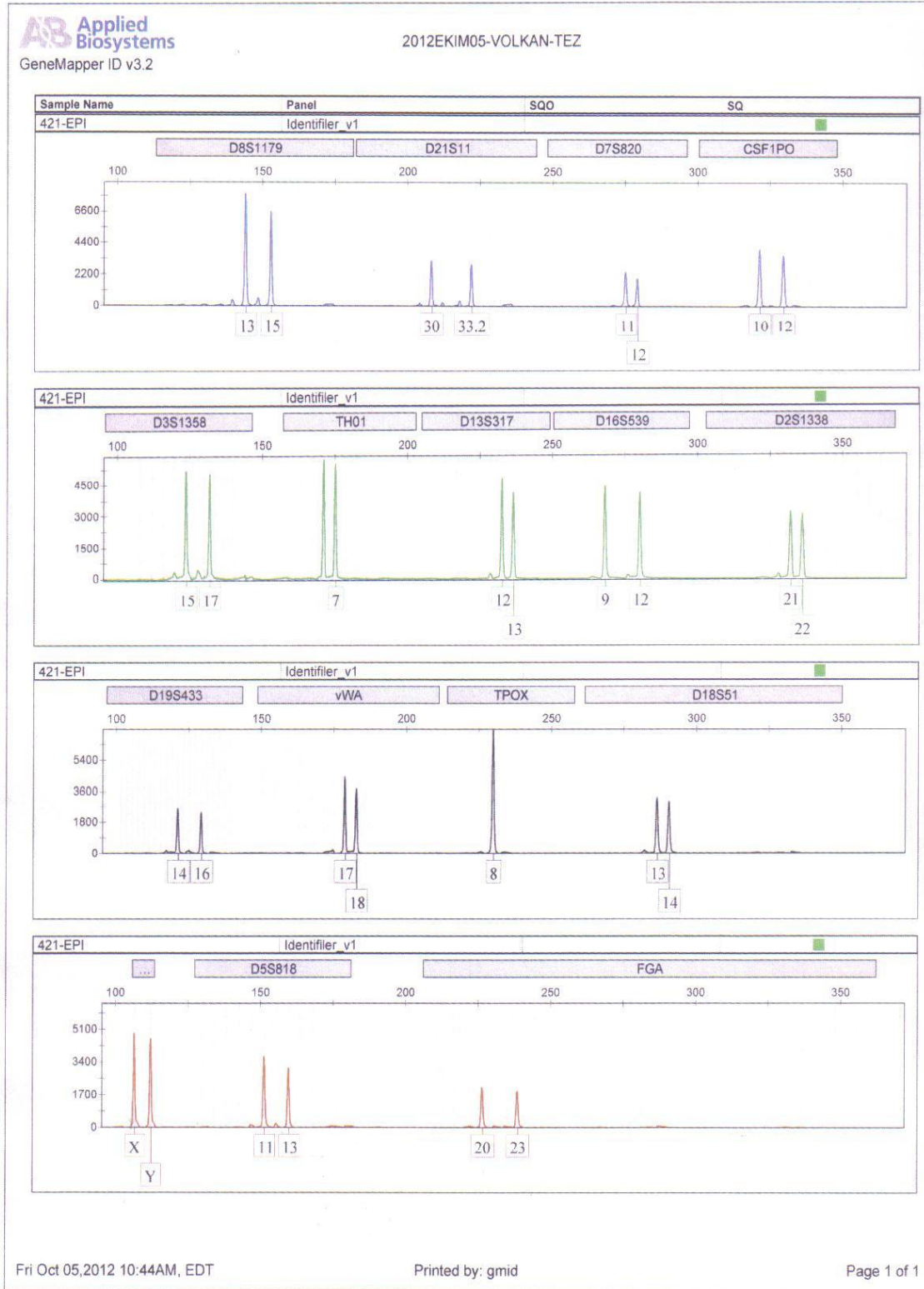
Tablo 10: Karaciğer nakli yapılmış 26. olgunun kan örneği DNA profili analizi



Tablo 11: Karaciğer nakli yapılmış 26. olgunun saç örneği DNA profili analizi



Tablo 12: Karaciğer nakli yapılmış 26. olgunun bukkal sürüntü örneği DNA profili analizi



5. TARTIŞMA

Günümüzde birçok hematolojik hastalığın tedavisinde allogenik periferik kan kök hücre transplantasyonu (allo- PBSCT) yaygın olarak kullanılmaktadır (3). Transplantasyon yapılan kişilerde adli kimliklendirmede ve babalık/akrabalık tayininde oluşacak kimerizm nedeniyle periferik kan kullanımı uygun olmamakta, daha doğru sonuç alabilmek için periferik kan yerine bukkal sürüntü örnekleri veya saç foliküllerinin kullanılmasının daha uygun olacağını göstermeyi hedefledik.

Yapılan çalışmalarda; başarılı allo- PBSCT sonrası alınan kan örneklerinin DNA profillerinin donör genotipinde olduğu, bukkal mukoza DNA profillerinin değişkenlik gösterdiği, saç örneklerinin donör genotipinden hiç etkilenmedikleri gösterilmiştir. (1, 2, 4) Çalışmamızda allo- PBSCT yapılmış 5 olgunun 4'ünde kan örneklerinin DNA profillerinin, saç ve bukkal sürüntü örneklerinin DNA profillerinden tamamen farklı olduğu gözlemlendi. Farklı olmayan tek olgunun klinik olarak son durumu araştırıldığında engrafman başarısızlığı nedeniyle transplantasyon tekrarının planlandığı öğrenildi. Bu bulgu; alıcının kendi genotipinin gösterilmesinde, saç ve bukkal sürüntü örneklerinin incelenmesinin doğruluğunu göstermiştir.

Hazırlama rejimine bağlı gelişen aplazi sonrasında, kan hücrelerinin normale dönmesi ile kan değerlerinin düzelmesine engrafman adı verilir. Engrafman, verilen hücrelerin hastanın iliğinde yerleştiğini gösterir. Başarılı bir engrafman için verilecek CD34 hücre sayısının $>5 \times 10^6$ / kg olması gerekir. Birbirini takip eden 3 gün boyunca nötrofil sayısının 500 ya da $1000/\text{mm}^3$ 'ün üzerinde olması durumundaki ilk gün nötrofil engrafmanı olarak kabul edilir. Birbirini takip eden 3 gün boyunca trombosit transfüzyon gereksinimi olmadan trombosit sayısının $20.000/\text{mm}^3$ 'ün üzerinde olması halinde engrafman tarihi olarak ilk gün kabul edilir (54). Allojenik nakil sonrası granülopoez ve eritropoezin başlaması en erken 2-4 haftada olur. Trombopoezin yeterli hale gelmesi ise genellikle daha uzun sürer ve birkaç ayı bulabilir. (55). Bizim olgularımızın nakil sonrası geçen süresi en kısa olanı 8 haftalıktı. Bu da, tüm olgularımızın donör kimerizmi için yeterli süreye ulaştığını gösteriyor.

Allo- PBSCT yapılmış olgularımızın bukkal sürüntü örnekleri DNA profilleri ile saç örnekleri DNA profilleri birbirlerinin aynısıydı. Bazı çalışmalarda, bukkal sürüntü örneklerinin miks kimerizm gösterdiği belirtilmektedir (1, 2, 4). Bukkal örneklerde hem epitelyal hücreler hem de lökositler mevcuttur. Donör lökositlerinin mukozaya göç edebileceği ve tükürükte bulunabileceği, sürüntü örneğindeki donör DNA'sının kaynağı olabileceği düşünülmektedir. Normal tükürükte lökosit sayısı 2- 13.600 hücre/ml arasında değişir ve inflamatuvar ağız içine sahip hastalarda bu sayı $1,1 \times 10^6$ /ml'ye kadar çıkabilir (56, 57). Bizim olgularımızın hiç birinde mukozit gibi oral inflamasyon bulgusu yoktu. Bukkal sürüntü örneklerindeki kimerizmi bu göç etmiş lökositlerin yüksek sayıda bulunabilmesine bağlamaktadırlar. Transplantasyon sonrası geçen sürenin, sürüntü örneklerindeki donör hücre sayısı için önemli bir faktör olduğu belirtilmektedir. Zhou ve ark. yaptığı çalışmada donör kaynaklı kimerizmin, transplantasyon sonrası 99 ve 147 aylık olgularda 3- 16 aylık olgulara göre belirgin fazla olduğunu göstermişlerdir. Tran ve ark ayrıca kemik iliği kaynaklı hücrelerin yanağa göç edebileceğini ve bukkal epitelyal hücrelere dönüşebileceğini in vivo olarak göstermişlerdir. Bu yüzden donör kaynaklı hücrelerin ağız içinde zamanla artacağı düşünülebilir. Bizim allo- PBSCT yapılmış olgularımızda transplantasyon sonrası geçen en uzun süre 30 ay idi. Olgu sayısının sınırlı olması ve transplantasyon sonrası geçen sürelerin fazla olmaması nedeniyle bukkal sürüntü örneklerimizde kimerizmin saptanamadığını düşünüyoruz.

Rovo A ve ark yaptığı bir çalışmada 115 allo PBSCT yapılmış hasta grubunda kan ve saç örneklerinin DNA profillerini karşılaştırmış ve kan örneklerinin tamamı donör genotipindeyken, saç örneklerinin tümünde alıcı genotipinin olduğunu göstermişlerdir (5). Şu ana kadar yapılmış pek çok çalışmada, allo PBSCT sonrası saç örneklerinden %100 alıcı genotipinde örnekler gösterilmiştir. Bizim olgularımızdan alınan saç örneklerinin tümünün DNA profilleri alıcıya aitti. Bu da diğer çalışmaları desteklemektedir. Diğer çalışmalar ve bulgularımız sonucunda allo PBSCT yapılmış kişilerde adli kimliklendirme ve babalık akrabalık tayini incelemelerinde saç örneklerini kullanılmasının uygun olacağı görüşünderiz.

Günümüzde allo PBSCT sonrası engrafman takibinde ve komplikasyon tanısında kanda donör kimerizminin gösterilmesi altın standart olarak kullanılmaktadır (5, 58). Bizim çalışmamızda yer alan transplantasyon başarısızlığı olan ve transplantasyon tekrarı planlanan bir olguda örneklerin üçünün de aynı genotipte olması bunu desteklemektedir.

Karaciğer transplantasyonu, son dönem karaciğer yetmezliğinin tedavisinde etkin bir yöntemdir. Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl yaklaşık 5000- 6000 hastaya karaciğer nakli yapılmaktadır (59). Türkiye'de 1988 yılından beri karaciğer transplantasyonu yapılmaktadır. Sağlık Bakanlığı verilerine göre 2011 yılında ülkemizde 900 hastaya karaciğer nakli yapılmıştır.

Akut GVHD karaciğer transplantasyonu sonrası nadir ancak ölümcül bir komplikasyondur. Sıklıkla nakil sonrası 10. gün- 6. hafta arasında görülür. Hastalığın erken döneminde ilaç reaksiyonları veya viral enfeksiyon belirtilerinden ayırımı zor olduğu için, klinik belirtilerle akut GVHD tanısı koymak güçtür (7, 60). GVHD'e neden olan hücreler T lenfositlerdir, alıcı kanında donör T lenfosit kimerizminin gösterilmesi post-transplant GVHD tanısı için önemli bir araçtır. (8, 9) Ayrıca, alıcı kanındaki donör T lenfositlerin kantitatif değerleri hastalığın takibinde ve tedaviye yanıtında önemlidir (7). Yapılan çalışmalarda, karaciğer transplantasyonu sonrası donör kimerizminin 1- 3 hafta içinde kaybolduğu, ancak GVHD varlığında bu sürenin uzadığı ve kimerizm değerlerinin %20'den fazla olduğu belirtilmektedir. (7, 61) Dauber ve ark yaptığı çalışmada, karaciğer transplantasyonu sonrası 18. haftada GVHD nedeniyle ölen hastanın, ölmeden 2 gün önce alınan periferik kanının tamamen donör genotipine sahip olduğu, bukkal sürüntü örneğinin miks genotipe sahip olduğu, saç örneğinin ise tamamen alıcı genotipinde olduğunu göstermiştir. Karaciğer transplantasyonu yapılmış hastalarda, kök hücre transplantasyonu yapılmış hastalarda olduğu gibi, alıcı DNA profillerinin, donör profillerinden etkilenmesinin adli bilimler açısından önemli olduğu belirtilmektedir. (6, 62) Literatürde karaciğer transplantasyonu sonrası, uzun dönem takipte STR analizi kullanılarak yapılmış çalışmaya rastlanmadı. Bizim çalışmamızda karaciğer transplantasyon sonrası 1 ay -125 ay süre geçmiş 35 hasta incelendi. Ve olguların kan, saç, bukkal sürüntü örnekleri DNA profilleri birbirlerinin aynısı çıktı, kimerizme rastlanmadı. DNA profillerinde fark olmaması, hastaların hiç birinde GVHD gelişmemesine bağlandı.

Domati-Saad ve ark yaptıkları çalışmada, karaciğer transplantasyonu yapılmış hastalarda, kimerizm seviyeleri ile akut rejeksiyon atakları arasında anlamlı bir ilişki olmadığını belirtmektedirler (7). Çalışmamızda akut rejeksiyon geçirmiş 2 olgunun kan, saç, bukkal sürüntü örneklerinin DNA profilleri arasında bir fark gözlenmedi.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER:

Allo- PBSCT günümüzde yaygın olarak kullanılan bir tedavi yöntemidir. Başarılı allo- PBSCT yapılmış kişilerin periferik kan DNA profillerinin donör kimerizmi gösterdiği, bukkal sürüntü örneklerinin DNA profilleri, nakil sonrası geçen süre ve örnek alımı sırasında tükürük kontaminasyonu riski nedeniyle değişkenlik gösterdiği ancak saç örneklerinin DNA profilleri, hem yapılmış diğer çalışmalarda hem de bizim çalışmamızda tamamen alıcıya ait olduğu gösterilmiştir.

Karaciğer transplantasyonu sonrası kan ve çeşitli doku örneklerinin DNA profillerinde donör kimerizmi oluşabileceği ve bunların gelişebilecek komplikasyonların, özellikle GVHD tanısı koymada ve takibinde kullanılmasının önemli olduğu belirtilmektedir. Çalışmamıza katılan 35 karaciğer transplantasyonu yapılmış hastanın kan, saç ve bukkal sürüntü örneklerinin DNA profilleri arasında bir fark olmamasının hiçbirinde GVHD olmamasına bağladık.

Adli bilimlerin her alanında olduğu gibi, adli genetikte de eksiksiz ve doğru bilgiye ulaşmak çok önemlidir. Bu nedenle adli kimliklendirme ve akrabalık/babalık tayini için alınacak örneklerde kişilerin tıbbi özgeçmişleri kesinlikle öğrenilmelidir.

Transplantasyon sonrası adli kimliklendirme ve babalık/akrabalık tayini için yapılacak DNA profilleme işlemlerinde kan ve bukkal sürüntü örneklerinin yerine saç örneklerinin kullanılmasının daha güvenilir olacağını düşünmekteyiz.

Benzer çalışmaların, daha geniş serilerle yapılarak, verilerin konfirme edilmesi gerektiği görüşündeyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Zhou Y, Li S, Zhou J, Wang L. DNA Profiling In Blood, Buccal Swabs And Hair Follicles Of Patients After Allogeneic Peripheral Blood Stem Cells Transplantation. *Legal Medicine*. 2011;13: 47–51.
2. Dauber EM, Dorner G, Mitterbauer M, Wenda S. Discrepant Results Of Samples Taken From Different Tissues Of A Single Individual. *Int Congr Ser*. 2004; 1261: 48–9.
3. Thomas ED. Bone marrow transplantation: a Review. *Semin Hematol* 1999; 36: 95–103.
4. Hong YC, Liu HM, Chen PS, Chen YJ. Hair Follicle: A Reliable Source Of Recipient Origin After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2007; 40: 871–4.
5. Rovo A, Meyer-Monard S, Heim D, Arber C. No Evidence Of Plasticity In Hair Follicles Of Recipients After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Exp Hematol*. 2005; 33: 909–11.
6. Dauber EM. Artificial Blood Chimerism And Graft-Versus-Host Disease After Liver Transplantation. *Int.Congr. Ser*. 1288 (2006) 840–842.
7. Domiati-Saad R, Klintmalm GB, Netto G, Agura ED. Acute Graft versus Host Disease After Liver Transplantation: Patterns of Lymphocyte Chimerism. *American Journal of Transplantation*. 2005; 5: 2968–2973.
8. Burt M, Jazwinska E, Lynch S. Detection Of Circulating Donor Deoxyribonucleic Acid By Microsatellite Analysis In A Liver Transplant Recipient. *Liver Transplant Surg* 1996; 2: 391–394.
9. Mazzaferro V, Andreola S, Regalia E. Confirmation Of Graftversus- Host Disease After Liver Transplantation By PCRHLA-Typing. *Transplantation* 1993; 55: 423–425.
10. Butler JM. *Forensic DNA Typing Biology, Technology, And Genetics of STR Markers* Second Edition. 2005.
11. Strachan T, Andrew R. *Human Molecular Genetics, Fourth Edition*. 2010.
12. Nussbaum R, McInnes R, Willard H. *Thompson & Thompson Genetics in Medicine, 7th Edition*. 2007.
13. Hagelberg E, Gray I.C, Jeffreys A.J. Identification Of The Skeletal Remains Of A Murder Victim By DNA Analysis. *Nature* 1991; 352: 427- 429.
14. Hodge R. *Human Genetics: Race, Population, and Disease*. 2010.

15. Jackson D, Abbey CS, Nugent D. DNA Profiling Of The D1S80 Locus A Forensic Analyses For The Undergraduate Biochemistry STR Laboratories. *Journal Of Chemical Education*. 2006; 83(5):774.
16. Botstein D, White R, Skolnick M, Davis RW. Construction Of A Genetic Linkage Map in Man Using Restriction Fragment Length Polymorphisms. *Am. J. Of Human Genet.*, 1980;32: 314-331.
17. Bozdayı AM. DNA Amplifikasyon Teknikleri Prensipler Ve Uygulamaları Notları, Ankara Üniversitesi Hepatoloji Enstitüsü, 3-6 Temmuz 2001 Yaz Kursu, Ankara.
18. Kanter T, Baird M, Shaler R, Balazs I. Analysis Of Restriction Fragment Length Polymorphisms in Deoxyribonucleic Acid Recovered From Dried Bloodstains. *Journal Of Forensic Sciences*. 1986; 31: 403-408.
19. Koops B, Schellenks M. Forensic DNA Phenotyping: Regulatory Issues. 2006.
20. Sensabaugh GF, Berghaus G, Brinkmann B, Rittner C. Genetic Typing Of Biologic Evidence Using The Polymerase Chain Reaction, Springer-Verlag. 1990; 33-40.
21. Ross MD. Polymerase Chain Reaction. *Archives Of Pathoogy And Laboratory Medicine*. 1990.
22. Altunçul H. Kemik Dokudan DNA Çekitleme Ve Tipleme Yöntemleri, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü, İstanbul. 2001.
23. Yuryev A. PCR Primer Design, *Methods in Molecular Biology* 402, Humana Press. 2007.
24. Rolfs A, Schüller I, Finckh U, Weber-Rolfs I. PCR: Clinical Diagnostics and Research Springer-Verlag. 1992; 34-40.
25. Mastana S, Papiho S. D1S80 Distribution in World Populations With New Data From The U.K. and The India Sub-continent . *Annals of Human Biology*. 2001; 28(3): 308-318.
26. Riley G.R, Schwenke PL, Lem JL, Pace AG. Forensic Case Work Using Powerplex STR Multiplex: High Sensitivity And Discrimination. *American Academy of Forensic Sciences. Annual Meeting, Orlando, Florida. Feb. 1999; 15-20.*
27. Nei M, Kumar S. *Moleculer Evolation And Phylogenetics*. Newyork: Oxford University Pres. 2000; Chapter 12.
28. James HS, Nordby JJ. *Forensic Science: An Introduction To Spesific And Investigate Techniques*, CRC Pres. 2003; 115-134.

29. Grimes EA, Noakes PJ, Dixon L, Urquhart A. Sequence Polymorphism in The Human MC1R Gene As An Indicator Of The Red Hair Phenotype. *For. Scie. Int.* 2001; 122: 124-129.
30. Edwards A, Civitello A, Hammond H, Caskey CT. DNA Typing And Genetic Mapping With Trimeric And Tetrameric Tandem Repeats. *American Journal Of Human Genetics.* 1992; 49: 746-756.
31. Sparkes R, Kimpton C, Watson S, Oldroyd N. The Validation Of A 7-Locus Multiplex STR Test For Use in Forensic Casework: Mixtures, Ageing, Degradation And Species Studies. *International Journal Of Legal Medicine.* 1997; 109: 186-194.
32. Rubinsztein DC, Amos W, Leggo J, Goodburn S. Microsatellite Evolution Evidence For Directionality And Variation In Rate Between Species. *Nature Genetics.* 1996; 10: 337-343.
33. Brinkmann B, Klintschar M, Neuhuber F, Huhne J. Mutation Rate in Human Microsatellites: Influence Of The Structure And Length Of The Tandem Repeat. *American Journal Of Human Genetics.* 1998; 62: 1408-1415.
34. D Kristt, J Stein, I Yaniv, T Klein. Assessing quantitative chimerism longitudinally: technical considerations, clinical applications and routine feasibility. *Bone Marrow Transplantation* 2007; 39: 255–268.
35. Barbisin M, Fang R, O'Shea CE, Calandro LM. Developmental Validation of the Quantifiler Duo DNA Quantification Kit For Simultaneous Quantification Of Total Human And Human Male DNA and Detection of PCR Inhibitors In Biological Samples. *J Forensic Sci* 2009; 54 (2) : 305-19.
36. Butler JM, Shen Y, McCord BR. The Development Of Reduced Size STR Amplicons As Tools For Analysis Of Degraded DNA. *J Forensic Sci.* 2003; 48 (5) : 1054-1064.
37. Butler JM. Genetics and Genomics of Core Short Tandem Repeat Loci Used in Human Identity Testing, *J Forensic Sci.* 2006; 51 (2): 253-265.
38. Tamaki K, Jeffreys A. Human Tandem Repeat Sequence in Forensic DNA Typing. *Leg. Med.* 2005; 7: 244-250.
39. Foreman A, Evett IW. Statistical Analyses To Support Forensic Interpretation For A New Ten- Locus STR Profiling System. *Int. J. Leg. Med.* 2001; 114: 147- 155
40. AmpF/STR[®] Identifiler[™] User Manual, 2001

41. Gill P, Fereday L, Morling N, Schneider PM. New Multiplex For Europe-Amendments And Clarification Of Strategic Development. *For. Sci. Int.* 2006; 163: 155-157
42. Jobling MA, Gill P. Encoded Evidence: DNA in Forensic Analysis. *Nat. Rev. Genet.* 2004; 5 (10): 739–751.
43. Cotton EA, Allsop RF, Guest JL. Validation of the AMPF1STR SGM plus system for use in forensic casework. *Forensic Science International* 2000. 112: 151-161.
44. Fanali S, Aturki Z, Desiderio C. New strategies for chiral analysis of drugs by capillary electrophoresis. *Forensic Science International.* 1998; 92: 137–155.
45. Asıcıoğlu F, Tarak-Koluacıık S, etinkaya , Akyüz F. Kapiller Elektroforez Teknolojisinin Klinik ve Adli Amalı DNA Analizlerinde Kullanımı. *Adli Tıp Dergisi.* 2002; 16: 2-4.
46. Butler JM, Buel E, Crivellente F, McCord BR. Forensic DNA Typing By Capillary Electrophoresis: Using The ABI Prism 310 and 3100 Genetic Analyzers for STR Analysis. *Electrophoresis.* 2004; 25: 1397-1412.
47. Anastos N, Barnett-Neil W, Lewis-Simon W. Capillary Electrophoresis For Forensic Drug Analysis: A Review. *Talanta.* 2005; 67: 269–279.
48. Demers DB, Kelly CM, Sozer AC. Multiplex STR Analysis by Capillary Electrophoresis, Profiles in DNA. 1998.
49. http://dnaprofile.com.mx/articulo_imagenes/image010.jpg ulaşma tarihi 10.09.2012.
50. Collins PJ, Hennessy LK, Leibelt CS, Roby RK. Developmental Validation Of A Single-Tube Amplification Of The 13 CODIS STR loci, D2S1338, D19S433, And Amelogenin: The AmpF1STR Identifiler PCR Amplification Kit. *J. Forensic Sci.* 2004; 49: 1265-1277.
51. Starzi TE. Chimerism And Tolerance İn Transplantation. *PNAS;* 2004. 101(suppl 2): 14607-14614.
52. Ford CE, Hamerton JI, Garnes DWH. Cytological Identification Of Radiation Chimeras. *Nature.* 1956. 177: 452-454.
53. Wolinsky H. A mythical beast. Increased Attention Highlights The Hidden Wonders Of Chimeras. *EMBO Rep.* 2007. 8(3): 212–214.
54. Arat M. Engrafman, Tanımı Ve Belirlenmesi Ve Kimerizm Tayini. *Kan Ve Kemik İliği Transplantasyonu Kurs Kitabı.* 2004. 107-113.

55. Bueno NT, Cheng YC, Rondon Y, Tannir NM. Rapid Induction Of Complete Donor Chimerism By The Use Of A Reduced Intensity Conditioning Regimen Composed Of Fludarabine And Melphalan In Allogeneic Stem Cell Transplantation For Metastatic Solid Tumors. *Blood*. 2003; 102: 3829-3836.
56. Waterhouse M, Themeli M. Horizontal DNA Transfer from Donor to Host Cells as an Alternative Mechanism of Epithelial Chimerism after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Biology of Blood Marrow Transplantation*. volume 17, Issue 3, 2011, Pages 319–329
57. Thiede C, Prange-Krex G, Freiberg-Richter J, Bornhäuser M. Buccal Swabs But Not Mouthwash Samples Can Be Used To Obtain Pretransplant DNA Fingerprints From Recipients Of Allogeneic Bone Marrow Transplants. *Bone Marrow Transplantation*. 2000; 25: 575–7.
58. Bensinger WI. Allogeneic Transplantation: Peripheral Blood Vs. Bone Marrow. Review. *Curr Opin Oncol*. 2012; 24(2): 191-6.
59. Saleh A, Alqahtani M. Adult Liver Transplantation In The USA. *Current Opinion in Gastroenterology*. 2011; 27: 240-247.
60. Rogulj IM. Acute Graft Versus Host Disease After Orthotopic Liver Transplantation. *Journal of Hematology & Oncology* 2012; 5: 50-58
61. Schöniger-Hekele M, Müller C, Kramer L, Dauber E. Graft versus Host Disease after Orthotopic Liver Transplantation Documented by Analysis of Short Tandem Repeat Polymorphisms. *Digestion*. 2006; 74: 169–173.
62. Dauber EM. Discrepant Results Of Samples Taken From Different Tissues Of A Single Individual. *Int.Congr. Ser.* 1261 (2004) 48–49.
63. Altun A. Çukurova Yöresinde HumvWA Lokusu Allel Frekans Dağılımı. 1999. Doktora Tezi.

(EK 1) DEÜ Girişimsel (İnvaziv) Olmayan Klinik Araştırmalar Değerlendirme Komisyonu'nun izin belgesi

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARI

ETİK KOMİSYONUN ADI	DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
AÇIK ADRES	Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2. Kat İnciraltı-İZMİR
TELEFON	0 232 412 22 54-0 232 412 22 58
FAKS	0 232 412 22 43
E-POSTA	etikkurul@deu.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	DOSYA NO:	274-GOA
	ARAŞTIRMA	UZMANLIK TEZİ <input type="checkbox"/> AKADEMİK AMAÇLI <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Transplantasyon Sonrası Hastaların Kan, Saç Ve Bukkal Sürüntü Örneklerinin DNA Profilleri
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI ve UZMANLIK ALANI	Prof.Dr.Yücel ARISOY Dr.Volkan ZEYBEK Adli Tıp A.D
	DESTEKLEYİCİ VE AÇIK ADRESİ	-
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ VE ADRESİ	-
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/> ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	Mevcut		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA İLE İLGİLİ LİTERATÜR	Mevcut		Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input checked="" type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	Mevcut		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
OLGU RAPOR FORMU	Mevcut			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>

(EK 1) DEÜ Girişimsel (İnvaziv) Olmayan Klinik Araştırmalar Değerlendirme Komisyonu'nun izin belgesi

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2011/22-07	Tarih:30.06.2011
	Prof.Dr.Yücel ARISOY'un sorumlusu Dr.Volkan Zeybek'in yürütücüsü olduğu "Transplantasyon Sonrası Hastaların Kan, Saç Ve Bukkal Sürüntü Örneklerinin DNA Profilleri" isimli klinik araştırmaya ait başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, etik açıdan çalışmanın gerçekleştirilmesinin uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.	

ETİK KURUL BİLGİLERİ

ÇALIŞMA ESASI	Dokuz Eylül Üniversitesi Etik Kurullar Yönetmeliği, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
ETİK KURUL ÜYELERİ	

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsi yet	Araştırma ile ilişkili mi?		İmza
Prof.Dr.Banu ÖNVURAL (Başkan)	Tıbbi Biyokimya	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	Kadın	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Prof.Ph.D.Besti ÜSTÜN (Başkan Yardımcısı)	Ph.D.Yüksek Hemşire	DEU Hemşirelik Yüksekokulu	Kadın	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Osman AÇIKGÖZ	Fizyoloji	DEU Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı	Erkek	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Mehtap MALKOÇ	Ph.D.Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	DEU Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Yüksekokulu	Kadın	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Prof.Ph.D.Zuhal BAHAR	Ph.D. Yüksek Hemşire, Halk Sağlığında doktora	DEU Hemşirelik Yüksekokulu	Kadın	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Nejat SARIOSMANOĞLU	Kalp Damar Cerrahisi	DEU Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı	Erkek	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Ömer Selahattin TOPALAK	İç Hastalıkları (Gastroenteroloji)	DEU Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı	Erkek	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Ece BÖBER	Pediyatrik Endokrinoloji	DEU Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	Kadın	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Hüseyin BASKIN	Mikrobiyoloji	DEU Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	Erkek	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Katılmadı
Prof.Dr.Servet AKAR	İç Hastalıkları (Romatoloji)	DEU Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı	Kadın	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	İzmitli
Doç.Dr.Mukaddes GÜNELİ	Tıbbi Farmakoloji	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Kadın	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	M.Ömür Üstün
Doç.Dr.Ayşe Aydan ÖZKÜTÜK	Mikrobiyoloji	DEU Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	Kadın	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	İzmitli
Doç.Dr.Işıl TEKMEK	Histoloji ve Embriyoloji	DEU Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı	Kadın	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	İzmitli
Prof.PhD.Meltem Kutlu GÜRSEL	Hukuk	D.E.Ü Hukuk Fakültesi İdare Hukuku Anabilim Dalı	Kadın	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	İzmitli
İhsan ÇELİKDEMİR	Sağlık mensubu olmayan üye	75. Yıl Özel İlköğretim Okulu Müdür Yrd.	Erkek	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	

(EK 2) Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi arşiv tarama izin belgesi



**DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ HASTANESİ
BAŞHEKİMLİĞİ**

30.06.2011*006307

Sayı: B.30.2.DEÜ.0.70.10.00
Konu: Hasta Dosyaları İnceleme

ADLİ TIP ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

Dr. Volkan ZEYBEK

İLGİ: 29.06.2011 tarihli dilekçeniz

İlgi dilekçenizde belirttiğiniz konuda Arşiv ve Tıbbi İstatistik Bölümünde çalışma yapmanız uygundur.
Bilgilerinize rica ederim.

**Prof. Dr. Eyüp HAZAN
Başhekim**

Adres : Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi 35340 İnciraltı/ İZMİR
Tel: +90(232) 412 23 58 Faks: +90 (232) 259 97 23 Ayrıntılı bilgi için irtibat: F.Sultan ERGÜN
e-post:sultan.ergun@deu.edu.tr Elektronik ağ : www.den.edu.tr

(EK 3) Adli Tıp Kurumu Başkanlığı izin belgesi

İbail Atıldı.
→

**T. C.
ADALET BAKANLIĞI
Adli Tıp Kurumu Başkanlığı**

Sayı : B.03.1.ATK.0.01.00.08/129
Konu: Bilimsel Kurul

22/04/2011

Sayın, Prof. Dr. Yücel ARISOY

“Kök Hücre ve Solid Organ Transplantasyonu Sonrası Hastaların Kan, Saç ve Bukkal Sürüntü Örneklerinin DNA Profilleri” isimli çalışma öneriniz 21/04/2011 tarihli Eğitim ve Bilimsel Araştırma Komisyonu toplantısında görüşülmüş ve çalışmada kullanılacak tüm sarf malzemenin Kurumumuz dışından karşılanması koşulu ile kabul edilmiştir.
Bilginize rica ederim.

Doç. Dr. C. Haluk İNCE
BAŞKAN

(EK 4) Aydınlatılmış onam formu

AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU

“Transplantasyon Sonrası Hastaların Kan, Saç Ve Bukkal Sürüntü Örneklerinin DNA Profilleri” isimli çalışmada kemik iliği ve karaciğer nakli yapılan hastalarda saç ve yanak içi sürüntü örnekleri alınarak, bu örnekler ile rutin amaçlı alınan kan örneklerinden genetik incelemeler yapılarak, sonuçlar arasında karşılaştırma yapılacaktır. Elde edilen sonuçlar kimlik bilgileri saklı tutularak bilimsel amaçlı olarak kullanılacaktır.

Saç ve yanak içi sürüntü örneklerimin alınmasına, bu örnekler ile rutin amaçlı alınan kan örneklerimde genetik incelemelerin yapılmasına, kimlik bilgilerim saklı tutularak bilimsel amaçlı olarak kullanılmasına izin veriyorum.

Araştırmacı adı soyadı, imza, tarih:

Gönüllü adı soyadı, imza, tarih:

Tanık adı soyadı, imza, tarih: