

T.C.
İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**KADAVRADAN YAPILAN BÖBREK NAKİLLERİNDE,
HASTA-VERİCİ ÇİFTLERİNİN HLA-DQ UYUMUNUN
SAPTANMASI VE NAKİL SONRASI DÖNEMDE DE
NOVO ANTİ-HLA ANTİKORLARININ ARAŞTIRILMASI**

İSMAİL TOTUR
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
DOÇ.DR.TÜLAY KILIÇARSLAN-AYNA

2017- İZMİR

T.C.
İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**KADAVRADAN YAPILAN BÖBREK NAKİLLERİNDE,
HASTA-VERİCİ ÇİFTLERİNİN HLA-DQ UYUMUNUN
SAPTANMASI VE NAKİL SONRASI DÖNEMDE DE
NOVO ANTİ-HLA ANTİKORLARININ ARAŞTIRILMASI**

İSMAİL TOTUR
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
DOÇ.DR.TÜLAY KILIÇARSLAN-AYNA

Bu tez İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından 2015-TYL-SABE-0023 Proje numarası ile Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.

2017- İZMİR

KABUL VE ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : / /

Tez Danışmanı :.....

***(Ünvanı, Adı Soyadı) (Üniversite) (İMZA)**

Üye :.....

***(Ünvanı, Adı Soyadı) (Üniversite) (İMZA)**

Üye :.....

***(Ünvanı, Adı Soyadı) (Üniversite) (İMZA)**

Üye :.....

***(Ünvanı, Adı Soyadı) (Üniversite) (İMZA)**

Üye :.....

***(Ünvanı, Adı Soyadı) (Üniversite) (İMZA)**

ONAY: Bu yüksek lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

(İMZA)

(Ünvanı, Adı Soyadı)

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Yüksek lisansım sürecinde engin bilgileriyle önümü aydınlatan, kendimi bilim ve insanlık adına geliştirmemde katkıları yüksek olan, her zaman insanlığa faydalı işleri ile kendilerini örnek aldığım, desteklerini her zaman yanımda hissettiğim, çok kıymetli ve değerli hocalarım başta tez danışmanım Doç.Dr. Tülay AYNA'ya, Prof.Dr.İbrahim PİRİM'e ve Yrd. Doç. Dr. Mustafa SOYÖZ'e; tez çalışmamda katkılarını esirgemeyen organ nakli koordinatörleri Mürvet ÇILGIN ve İmren YILDIRIM'a, tezi yazma sürecinde yardımları olan, Toprak Hamdi GÜNGÖR, Burcu GÜRBÜZ, Aslı KOÇYİĞİT, Ayşe MEMON ve İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Doku Tipleme Laboratuvarı ekibinin tamamına sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım sürecinde ve hayatımın tamamında, beni bu günlere getiren saygıdeğer Annem ve Babam başta olmak abim Ümit TOTUR'a ve tez yazım sürecinde bir anda hayatıma renk katan onun biricik oğlu Umut TOTUR'a sevgilerimi saygılarımı sunarım.

Ayrıca tezime azımsanamayacak kadar destek sağlamanın yanında manevi desteğini de her saniye yanımda hissettiren değerli Gülberat İNCE'ye teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI	ii
ÖNSÖZ	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
TABLOLAR DİZİNİ	ix
1 GİRİŞ	1
2 GENEL BİLGİ.....	2
2.1. Kronik Böbrek Yetmezliği.....	2
2.2. Böbrek Nakli.....	3
2.3. Bağışıklık Sistemi Yanıtları	5
2.3.1. Doğal İmmün Yanıtlar	6
2.3.2. Nakilde Doğal İmmün Yanıt.....	8
2.3.3. Edinsel İmmün Yanıtlar	9
2.3.4. B hücreleri ve Antikorlar	9
2.3.4.1 Anti-HLA Antikorları	11
2.3.4.2 De novo anti-HLA Antikorları.....	11
2.3.5. T Hücreleri ve Hücre İmmünite.....	13
2.4. Human Leukocyte Antigen (HLA- İnsan Lökosit Antijenleri).....	14
2.4.1. HLA Sınıf I Molekülü.....	14
2.4.2. HLA Sınıf II Molekülü	16
2.5. Nakilde Alloimmun yanıt.....	17
2.5.1. Direkt Tanıma	18
2.5.2. İndirekt Tanıma.....	19
2.6. Rejeksiyon Tipleri.....	20
2.6.1. Hiperakut Rej	20
2.6.2. Akut Rej	20
2.6.3. Kronik Rej.....	20
3 GEREÇ YÖNTEM	21
3.1. Materyal.....	21

3.2. Metod	22
3.2.2. Luminex Teknolojisi	22
3.2.1.1. Luminex SSO Boncuk Yöntemi ile HLA-DQA, DQB Tiplemesi	23
3.2.3. Luminex PRA	25
3.2.3.1. Luminex PRA Tarama	25
3.2.3.2. Luminex PRA Tanımlama	26
4 BULGULAR	28
5 TARTIŞMA	46
6 SONUÇ	52
ÖZET	53
ABSTRACT	54
KAYNAKLAR	55
ÖZGEÇMİŞ	61

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- ASH: Antijen sunan hücre
AMR: Antikor aracılı rejeksiyon
CDC: Komplemana bağımlı sitotoksisite
CREG: Çapraz reaktif grup
CRP: Kompleman regülatör protein
CTL: Sitotoksik T lenfosit
DH: Dentritik Hücre
DSA: Donöre özgü antikor
DNDSA: De novo donöre özgü antikor
F_{AB}: Antijen bağlayıcı bölge
F_C: Sabit Bölge
GFH: Glomerüler filtrasyon hızı
GİS: Gastrointestinal sistem
GVHD: Konağa karşı greftin yanıtı
HLA: İnsan lökosit antijeni
IFN: İnterferon
Ig: İmmünoglobulin
KBY: Kronik böbrek yetmezliği
KIR: Öldürücü hücre immünoglobulini benzeri reseptör
KAR: Öldürücü hücreyi aktive eden reseptör
MFI: Ortalama floresans yoğunluğu
MHC: Temel doku uyumluluk kompleksi
NK: Doğal Öldürücü hücre
PAMPs: Patojen ilişkili moleküler örgüler
PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PRA: Panel reaktif antikor
rpm: Dakikada devir sayısı

SDBY: Son dönem böbrek yetmezliği
SSO: Sekans spesifik oligonükleotid
TCR: T hücre reseptörü
Th: Yardımcı T hücre
TLR: Toll benzeri reseptör
TNF: Tümör nekroz faktörü
TREG: T regülatör hücre
V_H: Değişken bölgenin ağır zinciri
V_L: Değişken bölgenin hafif zinciri
YAG: Yttrium alüminum garnet
XM: Çaprazlama testi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: 6.Kromozomda bulunan HLA molekülü.....	15
Şekil 2: HLA Sınıf 1 ve Sınıf 2 molekülü.....	17
Şekil 3: Direkt Yol.....	18
Şekil 4: İndirekt Yol.....	19
Şekil 5: Luminex xMAP Teknolojisi.....	23
Şekil 6: HLA tarama paneli ve boncuk sistemi.....	25
Şekil 7:PRA tarama sınıf I ve II boncuklarının şematik gösterimi.....	26
Şekil 8: PRA tanımlama boncuklarının şematik gösterimi.....	27
Şekil 9: Hasta ve kadavra donör cinsiyetleri.....	32
Şekil 10: SDBY erkek hastalarda alloimmünizasyon öyküsü.....	32
Şekil 11: Böbrek nakli olan hastaların nakil öncesi ve nakil sonrası PRA sonuçları.....	37
Şekil 12: Böbrek nakli olan hastaların nakil öncesi ve nakil sonrası geç dönem PRA sonuçları.....	38
Şekil 13: Böbrek nakli olan hastaların nakil öncesi ve nakil sonrası dönemde PRA Sınıf I ve Sınıf II testlerinin pozitif ve negatif olmasına göre ortalama kreatinin değerleri.....	39
Şekil 14: H4 nolu hastanın PRA tanımlama MFI değerleri.....	40
Şekil 15: H6 nolu hastanın PRA tanımlama MFI değerleri.....	41
Şekil 16: H7 nolu hastanın PRA tanımlama MFI değerleri.....	42
Şekil 17: H22 nolu hastanın PRA tanımlama MFI değerleri.....	43
Şekil 18 : H20 nolu hastanın PRA tanımlama MFI değerleri.....	44

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1 HLA DQA ve DQB PCR ürünlerinin amplifikasyon protokolü.....	24
Tablo 2. HLA DQA ve DQB PCR ürünlerinin hibridizasyon protokolü.....	24
Tablo 3.SDBY hastaların demografik bilgileri.....	29
Tablo 4. Kadavra donörü demografik bilgileri.....	30
Tablo 5. Böbrek nakli olan hastaların alloimmünizasyon bilgileri.....	31
Tablo 6. Hasta ve kadavranın HLA-A,B,C,DR doku tipi ve aralarındaki uyum.....	33
Tablo 7. Hasta ve kadavranın HLA-DQA,DQB doku tipi ve aralarındaki uyum.....	34
Tablo 8. Erken dönem PRA testi yapılan hastaların nakil öncesi ve nakil sonrası PRA sonuçları ve kreatinin değerleri, DSA oluşumu.....	35
Tablo 9. Geç dönem PRA testi yapılan hastaların nakil öncesi ve nakil sonrası PRA sonuçları ve kreatinin değerleri, DSA oluşumu.....	36
Tablo 10. PRA pozitifliği ile GFH arasındaki ilişki	37

1 GİRİŞ

Böbrek nakli son dönem kronik böbrek yetmezliğinin kesin tedavi şeklidir. Böbrek nakli için iki farklı verici (donör) organ kaynağı olarak karşımıza çıkmaktadır. Bunlar akraba donör ve kadavra donördür.

Böbrek naklinin başarısı için immünolojik açıdan alıcı ve verici arasındaki kan grubu ve HLA uyumu, hastada DSA varlığı, ve hastanın PRA pozitifliği önemlidir. HLA molekülleri oldukça polimorfik ve immunojeniktir. Bu moleküller hücrelerin yüzeyinde eksprese olur. Bu özelliğinden dolayı da kan transfüzyonlarında, gebeliklerde ve organ nakillerinden sonra yaşanan redlerde HLA'ya karşı antikorlar gelişebilmektedir. Alloimmunizasyonla oluşan anti-HLA antikorları için genel olarak PRA ifadesi de kullanılmaktadır. Nakil öncesi hastada varolan anti-HLA antikorları donöre spesifik ise hiperakut rejeksiyonlara sebep olurken, sözkonusu antikorlar donöre spesifik olmasa bile graft sağkalımının azalmasına neden olabilmektedir. Nakil öncesinde herhangi anti-HLA antikoruna sahip olmayan böbrek nakli sonrasında kullanılan immunsupresif tedaviye rağmen anti-HLA antikorları gelişebilmektedir. Bu da kronik rejeksiyonların oluşmasında önemli bir nedendir.

Tez çalışmasında Ocak 2014 - Eylül 2016 tarihleri arasında kadavra donörden yapılan böbrek nakillerinde, 25 hasta-donör çiftine HLA-A, HLA-B, HLA-DRB1 tiplemesi yanında HLA-C, HLA-DQA1 ve HLA-DQB1 tiplemesi yapılmıştır. Bu hastalarında nakil sonrası dönemde anti-HLA antikorları PRA testleri ile araştırılmıştır. Nakil sonrası dönemde oluşan de novo anti-HLA antikorları ile rejeksiyon ve graft sağkalımının ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

2 GENEL BİLGİ

2.1. Kronik Böbrek Yetmezliği

Böbrek, kan filtrasyonu yaparak, kanın bileşenlerini, kan basıncını ve hacmini düzenleyen önemli bir organdır. Büyük çaptaki proteinler haricinde kandaki birçok molekül böbrek tarafından süzülür ve zararlı, gereksiz bileşenlerin böylece vücuttan atılması sağlanır. Geri dönüşümsüz böbrek fonksiyonlarının tam olarak yerine gelmemesi sonucu ise kronik böbrek yetmezliği (KBY) ortaya çıkmaktadır. Üç aydan daha fazla süren glomerüler filtrasyon hızının (GFH) dakikada 60 ml'den düşük olması veya GFH normal iken proteinüri, düzelmeyen idrar sediment anormallikleri, böbreğin biyopsisi ile belirlenen kalıcı anormallikler ve kreatinin, üre gibi biyokimyasal değerlerin yükselmesi KBY tanısı koyulmasına yardımcı olur (1, 2). Böbrek hasarını böbreklerin fonksiyon kapasitesini değerlendirmek için (GFH) hastanın kreatinin değeri, hasta yaşı ve cinsiyeti baz alınarak hesaplanmaktadır. KBY hastaları son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) evresine ulaştıklarında üç temel tedavi seçeneği söz konusudur. Bunlar; hemodiyaliz, periton diyaliz ve böbrek naklidir. TC. Sağlık Bakanlığı Organ, Doku ve Diyaliz Merkezleri Koordinatörlüğü Nisan 2016 verilerine göre ülkemizde toplamda 60.132 çocuk ve yetişkin SDBY hastası bulunmaktadır. Bu rakam her geçen yıl hızlı bir şekilde artmaktadır. Böbrek hastalığına en çok sebep olan etmenler, diabetes mellitus, hipertansiyon, kronik glomerulonefrit, polikistik böbrek hastalığı, hipertansif nefroskleroz ve kronik interstisyel nefrittir (3). Diyaliz, yaşam kalitesini düşürmekle birlikte, pahalı bir tedavi yöntemidir. Böbrek nakli ise immünolojik açıdan kompleks, ancak hastanın yaşam kalitesini yükselten tek tedavi şeklidir (4).

2.2. Böbrek Nakli

Böbrek nakli SDBY hastalarına uygulanan, diyalize nazaran daha konforlu bir yaşam kalitesi oluşturan ve bazı vakalarda hastanın hayatta kalabilmesinin tek yolu olarak görülmektedir. SDBY'yi tedavi etmek amacıyla yapılan böbrek naklinde, aynı türün farklı bireyleri arasında nakledilen bir solid organ söz konusu olduğundan allograft olarak adlandırılmaktadır (5).

Böbrek nakli canlıdan ve kadavradan yapılmaktadır. Ülkemizde Nisan 2016 verilerine göre 2011 yılından günümüze kadar toplamda 17.542 canlıdan nakil işlemi gerçekleşmiştir. Kadavradan yapılan nakiller ise 2011'den günümüze sadece 2.141'dir. Sadece 2016 Nisan ayındaki toplam SDBY hastasının 60.132 olduğunu düşünülürse bu rakamlar çok düşük seviyededir. Böbrek nakli başarısı için immünolojik açıdan önemli unsurlardan biri hasta ve verici (donör) arasındaki HLA uyumudur. Ayrıca donör ve hasta çiftleri arasındaki kan grupları uyumu ve hastada donöre karşı anti-HLA antikorlarının (donor spesifik antibody-DSA) belirlenmesi ve PRA (panel reaktif antikor) sonuçları nakil için önemli etkenlerdir. Nakil sonrası uygulanan immünsüpresif tedavi grafitın kabulünde önemli rol oynar (6). Uzun yıllardır immünolojik açıdan oluşan böbrek reddinde (rejeksiyon) HLA gen bölgesi tarafından kodlanan proteinlerin önemi bilinmektedir. Bu protein yapıları birbirine ne kadar benzerse rejeksiyon ihtimali o kadar azalmaktadır. Bunun yanında hastada nakil öncesinde gebelik, kan tranfüzyonu, rejeksiyonlar gibi sebeplerden dolayı HLA antijenlerine karşı antikorlar (anti HLA antikorları, Panel reaktif antikorlar) oluşabilmektedir. Bu anti-HLA antikorların DSA olup olmadığı çaprazlama (cross-match-XM) testleri ile araştırılır ve sonuçları böbrek naklinde son derece önemlidir. Bu analizlerin yapılmaması durumunda nakil başarısızlık ile sonuçlanabilmekte ve hatta hiperakut rejeksiyon görülebilmektedir (7,8,9).

Böbrek nakil işlemi öncesinde bir çok immünolojik testler yapılmaktadır. Kan grubu uyumu normal kan transfüzyonundaki kaideleri ile aynı olup nakil için önem taşımaktadır. Bu yüzden kan grubu uyumsuzluğu böbrek nakli için bir engel oluşturmaktadır. Kan grubu uyumsuzluğu olan nakilli hastaların çoğunda hiperakut veya akut rejeksiyon görülmektedir. Rejeksiyonun A ve B kan grubu antijenleri ile

vasküler endotel üzerinde reaksiyona giren immünglobulinler tarafından meydana geldiği düşünülmektedir. Bu nedenle nakil işlemlerinde ilk ve en önemli parametredir. Öncelikle aynı kan grubuna sahip hasta ve donör çiftleri tercih edilmektedir (10). Kadaverik nakil işlemlerinde ise O kan grubu bir donörden, A kan grubuna sahip bir hastaya böbrek takılması önerilmemektedir. A kan grubuna sahip bireyler A1 veya A2 alt gruba sahiptir. Bu alt gruplar bireylerde belirlenemediğinden dolayı O kan grubu bir donörden A kan grubu bir hastaya nakil yapılması riskli olabilmektedir (11,12).

Doku uyumunun belirlenmesi için hasta ve donör arasında HLA tiplemesi yapılmaktadır. HLA doku grupları serolojik veya moleküler yöntemler ile belirlenmektedir. Mikrolenfositotoksiste olarak da bilinen serolojik yöntemde, alloantiserum ile monoklonal antikorlar kullanılarak tersiyer epitoplara ve hücre yüzeyindeki HLA glikoproteinlerinin çapraz reaksiyon veren grupları tanımlanmaktadır. Ancak serolojik yöntemler, yeterli miktarda antiserum olmaması, alellerin birbirinden çok iyi bir şekilde ayırt edilememesi, antijen-antikor kompleksi ve komplemana bağımlı olması, tekrar edilebilmesinin zor olması, değerlendirmesinin ölü hücre oranları ile yapılması gibi nedenlerle yetersiz kalabilmektedir. Günümüzde moleküler teknikler ise hızlı ve güvenilir bir şekilde sonuç veren, homozigotluğu kesin olarak saptayabilen yöntemlerdir. Bu teknikler HLA alellerini DNA düzeyinde çözümleyebilmektedir (13,14).

Bu testlerin haricinde böbrek nakli açısından en önemli testler cross-match (XM) testleridir. Bu testler, hasta serumu ile donör lenfositleri arasındaki çaprazlamayı esas almaktadır (15,16). Böbrek nakli hastalarında anti-HLA antikorları yabancı HLA antijenleri ile karşılaşma sonrası oluşabilmektedir. Bu karşılaşma daha önce de belirtildiği gibi kan transfüzyonları, gebelik ve daha önceden yapılmış ve rejeksiyon ile sonuçlanmış böbrek nakilleri ile olmaktadır. Nakil öncesi hasta serumunda, anti-HLA antikorları hücreye ve boncuğa dayalı testlerle araştırılmaktadır (17,18,19). Bir hastanın serumunda anti-HLA antikorunun varlığının belirlenmesi için tarama testi yapılmaktadır ve bu antikorlar da panel reaktif antikorlar (PRA) olarak adlandırılır. Bu testler yapılmadan veya dikkate alınmadan nakil gerçekleştirilirse hiperakut rejeksiyon görülebilmektedir (20).

2.3. Başışıklık Sistemi Yanıtları

Organizma yabancı maddelerle (protein, polisakkarit, mikroorganizmalar, makro moleküller vs.) karşılaşması immün sistemin farklı bölümüyle karşılıklı ve düzenli etkileşmesi ile oluşan cevaba immün yanıt denir. İmmün yanıt, bireyleri enfeksiyon ve yabancı materyallerden korurken, böbrek nakli hastaları için büyük bir engel oluşturmaktadır (21).

İnsanları tehlikeli ajanlardan koruyan ve bu tür ajanlar ile karşılaşmadan önce de organizmada varolan koruma işlemini yapan mekanizmalar doğal immünite olarak bilinmektedir. Fiziksel bariyerler olarak bilinen mukoz ve deri membranların, kanda ve dokuda bulunan fagositik hücreler (nötrofiller, eozinofiller, makrofajlar), kompleman sistemi, akut faz proteinleri ile doğal öldürücü hücreler doğal immünitenin başlıca elemanlarıdır. Bu elemanlar yabancı materyaller arasında bir ayırım gözetmeden fonksiyon gösterirler. Daha önceden karşılaştığı ve tanıdığı yabancı madde ile tekrardan karşılaştıklarında direk şiddetli bir şekilde yanıt vermektedir. Makrofajlar tarafından salgılanan, TNF- α , IFN- β , IFN- α gibi sitokinler de doğal immünite de önemli bir rol üstlenmektedirler. Adaptif (edinsel) immün yanıt, yabancı bir materyal ile karşı karşıya geldiğinde, uyarılarak ve ona özgü gelişerek o materyal ile tekrardan karşılaşıldığında daha sert bir yanıt verilmesini sağlayan bir immün yanıt tipidir (22,23,24). Edinsel immünite iki başlık altında incelenir.

a.Humoral immünite: Yabancı materyali tanıyabilen ve onu yok edebilmek için antijen-antikor kompleksi oluşturan bir sistemdir.

b.Hücre sel immünite: Yabancı materyali tanıyabilen ve yanıt olarak T lenfositleri kullanan sistemdir.

İmmün Tanıma: İnsan vücudu spesifik ve doğal immünitenin reseptörleri aracılığı ile bağ kurabilen hemen hemen her şeye yanıt oluşturabilmektedir. Lenfositlerde bulunan reseptörler aracılığıyla tanınabilmesi antijen adı verilen moleküller tarafından sağlanmaktadır (25,26). T hücrelerin ve B hücrelerinin yüzeylerinde bulunan reseptörler, antijenin antijenik epitop bölgesi adı verilen küçük bir kısmını tanıyabilirler. İmmün cevabı etkinleştiren antijen yapılarına immünojenler denir. Bütün

antijenler ise immünojenik değildirler. Küçük yapıdaki, non-immünojenik antijenlere haptene adı verilmektedir ve immün yanıtın aktivasyonu için transport olarak adlandırılan büyük immünojenik moleküllerle kompleks oluşturmaları gerekir. Büyük protein yapısında olan antijenler transport ve haptene benzer bir epitop içerirler. Bu sebeple immünojenik etki gösterirler. Karbonhidratların immünojenik olması için proteinlere bağlanması gerekir. Antijenlerde immüniteyi artıran maddelere adjuvan denir ve büyük protein antijenleri bile daha immünojenik yapabilirler (27).

2.3.1. Doğal İmmün Yanıtlar

Doğal immün yanıt immünolojik bir hafızaya sahip değildir ve immün koruma mekanizmalarını içermektedirler. Bu sebeple, doğal immün yanıtın özelliklerinden biri, antijenle ne kadar karşılaşırsa karşılaşsın immün yanıtı değiştirmemesidir. İmmün yanıtın gelişimi sırasında özgü olamayan yanıtlardan daha önce gelişmektedir. Doğal immünite antijenle karşılaşmadığı durumda da aktiftir ve bunların koruyucu etkisi yabancı bir materyale bağlı değildir. Bu defans mekanizması bilhassa mikrobiyal patojen ile ilk temas sırasında önem teşkil eder. Doğal immünitenin defans mekanizması ve solunum sistemi epitel dokusu, GİS, ve deri ve deri salgıları, eksternal salgılardaki gastrik asit, laktoferrin gibi çözünebilen kompleksleri müsin, myeloid hücreleri ve dolaşımda önemli bir rolü olan kompleman ve kompleman komponentlerini içermektedir.

Doğal immünitenin yapısal bariyerleri.

- Deri
- Eksternal sekresyonlar; Gastrik asitler, Tükürük ve Lipidler
- Mukoza hücreleri
- Salgılanan büyük moleküler savunma materyalleri; Müsin, Lizozomal enzimler

- Kompleman sistemi (aktivasyonlara ihtiyaç duymaktadır)

Patojenlerin konağı ele geçirebilmesi için, önce vücudun dış ortam ile temasını sağlayan deri ile mukozanın epitelyal dokusunu geçmesi gerekmektedir. Mukoza epitel hücreleri patojen mikroorganizmanın etkisinden korunabilmesi için mukus tabakası ile çevrilidir. Vücut yüzeyi ise farklı dezenfektan ve antimikrobial maddelerle çevrilidir. Örneğin deride çok fazla miktarda yağ asidi bulunmaktadır ve mantarları inhibe edilbilmesinde büyük rol oynarlar. Midede bulunan hidroklorik asit ise gastrointestinal patojenleri inhibe eder; vajina epitel hücrelerinde bulunan laktik asit glikojenin bakterilerce parçalanması sonucu oluşur ve asidik bir ortam oluşturur. Mukozal salgılardaki lizozim, gram pozitif bakterilere karşı bakterisid özellik taşır; demir bağlayıcı bir protein olarak bilinen laktoferrin, bakterilerin çoğalmasında gerekli olan demiri bağlamaktadır. Deride, ağızda ve GİS’de bulunan normal flora, patojenlerin kolonizasyonunu önler (23,28).

Nötrofiller ile lökositler doğal immünitede hücresel elemanların en büyük grubu oluşturmaktadırlar. Akut inflamatuvar hadiselerde inflamasyon bölgesine ilk ulaşan hücrelerdir. Nötrofiller endotelden geçerek kemotaktik ajanlar vasıtasıyla enfeksiyon bölgesine doğru yol alırlar. Makrofajlar ise, mannoz gibi karbonhidratları tanıyabilmek için karbonhidratlara spesifik resöptörlere sahiptirler ve böylece kendinden olmayan ile kendinden olan molekülleri tanıyabilmektedir. Ayrıca makrofajlar ile nötrofiller kompleman resöptörü ve antikorlara sahiptirler. Böylece antikor, kompleman kompleksi veya her ikisi aracılığıyla mikroorganizmaların fagositozu artmaktadır. Fagositoza uğrayan mikroorganizmal ajanlar, antimikrobiyal katyonik proteinler, reaktif oksijen radikalleri ve lizozimal enzimlerle parçalanır. Doğal immünite de anahtar rol oynayan hücresel komponent, dendritik hücrelerdir. Deri bulunan Langerhans hücrelerini de kapsayan bu tip hücreler, hücre dışında bulunan antijenleri stabil ancak çok yavaş bir şekilde fagosite eder ve antijen sunan hücre (ASH) gibi davranır, antijenleri T lenfositlere sunar. Dendritik hücrelerde yüzey kısmında bulunan HLA molekülleri antijenleri sunmadan önce, proteolitik parçalanmadan geçer kısa peptidlere ayrılırlar. Makrofajlar ve nötrofillerden biraz daha farklılık gösteren eozinofiller ise aktivasyonu sonucu ekstrasellüler sıvıya katyonik proteinler ile reaktif oksijenleri salarak parazitleri inhibe olmasını sağlar.

Bazofiller ile mast hücreleri birbirine benzer fonksiyonel özellikleri vardır. Her iki hücrede yüksek hassasiyette IgE reseptörlerine sahiptir. Bu sebeple IgE antikoları ile çevrilidirler. Bu hücreler immünojenik hastalıklar olarak bilinen; astım, saman nezlesi ve egzema gibi allerjilerde rol oynamaktadırlar. Doğal öldürücüler (NK) ise enfekte ve malign hücreleri yok ederler. NK hücreleri hedefini IgG'yi bağlayan Fc reseptörleri ile veya yüzeyinde bulunan öldürmeyi uyaran (KAR) ve öldürmeyi baskılayan (KIR) reseptörleri yoluyla tanır ve yok eder. Eritrositlerin ve plateletlerin immün yanıtta çok fazla rolü yoktur, ancak kompleman reseptörleri taşırlar. Bu yüzden özellikle antijen-antikor ve kompleman elemanlarını içeren immün komplekslerin temizlenmesinde büyük bir rol alırlar (29,30).

Doğal immünolojik tepkinin çözünür faktörleri, kompleman, sitokinleri ve akut faz proteinlerini içerir. Kompleman aktivasyon, üç yoldan biriyle tetiklenebilir. Klasik yol olarak bilinen antijen-antikor kompleksi, alternatif yol ise mikrobiyal hücre duvarı ve mikrobiyal karbonhidratların plazma lektin yolundaki mannoz bağlayıcı protein ile etkileşimi ile aktif hale geçer. Akut faz proteinleri adı verilen moleküller, enfeksiyona karşı direnci artırır ve hasar görmüş dokuların onarımını teşvik eder. Bu proteinlerin plazma seviyelerinde enfeksiyona ve doku hasarına tepki olarak hızla değişir. Bazı kompleman bileşenlere ek olarak, Creative protein, serum amiloid-A ve pıhtılaşma faktörlerini içerir. Sitokinler bir başka çözünür ara ürün grubunu oluştururlar. Hem bir bağışıklık sistemi olarak hem de bağışıklık sistemi ile vücudun diğer sistemleri arasında bir mesaj vericisi olarak görev yapmaktadırlar. Haberci işlevlerine ek olarak, bazı sitokinler savunmada doğrudan rol oynamaktadır. Örneğin, virüs bulaştırılmış hücrelerden salınan interferonlar çevreleyen hücrelerde viral direnç oluşturmayı mümkün kılar (29).

2.3.2 Nakilde Doğal İmmün Yanıt

Nakledilen organdaki yabancı antijenlerden kaynaklı oluşan vital yanıt ASH'leri aktivasyonuna ve olgunlaşmasına sebep olur ve sekonder lenfoid organlara göç

etmesini tetikler (27). Doğal bağışıklık, allograft ya da herhangi bir patojenin yabancı antijenlerine karşı savunmada ilk rol alan savunma sistemidir. Doğal immün yanıtta patojen ilişkili moleküler örgüleri (PAMPs) tanıyan ve bunlara karşı doğal immün yanıtı kolaylaştıran toll-benzeri reseptörler (TLR) vardır. TLR'ler PAMPs ile etkileşime geçtiğinde bir sinyal proteini olan MyD88 aktive eder. Akabinde, NF-kB translokasyonu ile TNF- α , IL-1, 6, 8 ve 12 salınır (13). Sitokinler, dendritik hücre (DH)'lerin gelişmesini, sekonder lenfoid organlara taşınımını ve T hücre uyarılmasını sağlayan yüzey proteinlerinin (CD40, CD80 ve CD86) ifadesine olmasında rol oynar. Sekonder lenfoid organlarda, DH'ler naif T hücrelerini aktive ederek edinsel immün evreye geçişini sağlamaktadır (23,31,32).

2.3.3. Edinsel İmmün Yanıtlar

Spesifik immün yanıtın elemanları antijen ile spesifik olarak reaksiyona girerler ve bu antijenlere sonraki karşılaşmalarında daha güçlü bir cevap oluştururlar (spesifite ve hafıza özelliği). Mikroorganizmalara karşı oluşan immün yanıt, antikor olarak tanımlanan immünglobulinler (Ig) ve T lenfositler aracılığı ile gerçekleşir. Lenfosit gelişiminin erken safhalarında bir antijenin varlığına gerek yoktur, fakat bu hücreler olgun bir antijen reseptörü eksprese ettikten sonra yaşamları ve daha ileri değişimleri antijene bağımlıdır (33).

2.3.4. B hücreleri ve Antikorlar

Gelişimin en erken evrelerindeki B lenfositleri B1 hücreleri olarak adlandırılır ve B1 hücrelerinin çoğu CD5 salgılar. Bunlar doğal antikorlar olarak da adlandırılan IgM moleküllerinin kaynaklarıdır ve bu antikorların nispeten düşük afinitesi vardır. B

hücrelerinin çoğunluğu ilerleyen evrelerde CD5 molekülünü kaybeder, bunlar B2 hücreleri denir. Antijenle karşılaşmadan önce, olgun B2 hücreleri yüzeylerinde IgM ve IgD moleküllerini eksprese eder, ancak hafıza hücresi olduklarında antijen reseptörü olarak IgG, IgA veya IgE'yi dönüştürürler. B2 hücrelerinin antikor salgılayan plazma hücrelerine dönüştürülmesinin son aşaması sekonder lenfoid dokularda görülür. B hücreleri son ayrıştırma ile plazma hücrelerine döndüklerinde, yüksek seviyelerde antikor üretme ve salgılama kabiliyeti kazanırlar. B hücreleri tarafından yapılan antikorlar, birbirlerine disülfür bağı ile bağlanmış 2 özdeş ağır ve 2 özdeş hafif zincir içerir. Ağır zincirlerin sabit bölgesinin amino asit dizilimine göre IgG'ler 5 sınıf (IgG, A, M, D, E), IgG 4 alt grupları ve IgA 2 alt gruplarına ayrılır. Bu sınıflar ve alt grupların farklı işlevleri vardır. IgD dışındaki her antikor türü, dolaşımdaki veya durağan bir molekül olarak yapılabilir. Tüm Ig'ler antikor sınıfına bağlı olarak glikoproteinler ve %3-13 oranında karbonhidrat içerir. Karbonhidrat antikor yapısının sürekliliğinin temelidir. Bir antikor molekülü, laboratuvar ortamında proteolitik olarak bölünürse, iki antijen bağlama yeri (FAB) ve bir sabit bölge (FC) ayrılır. IgM, primer bağışıklık reaksiyonu sırasında yapılan ilk Ig'dir ve kompleks sistemi klasik yollardan aktive eder. IgG ikincil immün yanıt sırasında yapılır, plasentadan geçen tek Ig'dir ve hücre dışı sıvıda egemendir. IgG antikorları opsonin olarak hareket eder ve kompleman klasik bir yolla aktive eder. IgA monomerler esas olarak hücre dışı sıvılarda bulunur. Salgı IgA, bir polimerik IgA türü, esasen tükürük ve anne sütü gibi birçok dış salgılarda bulunan Ig'dir. Sekretuar IgA molekülleri mukozal yüzeylerdeki mikrobiyal ajanlara karşı özellikle etkilidir. Mukozal yüzeyde, bakteriyel toksinleri nötralize eder veya bakteri patojenlerinin veya toksinlerinin epitel hücrelerine bağlanmasını önler. IgD ve IgE, vücut sıvıları içinde yalnızca düşük konsantrasyonlarda bulunur. IgD olgun B hücresi yüzeyinde bulunur, IgE bazofil ve mast hücre reseptörlerine bağlanır ve akut alerjik reaksiyonlarda etkilidir. Antikorlar, spesifik ve spesifik olmayan immün yanıtların gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır (34,35).

2.3.4.1 Anti-HLA Antikorları

İmmüoglobülinler olarak da bilinen antikorlar ikisi ağır zincir, diğer ikisinde hafif zincir olmak üzere birbirlerine disülfid bağları ile bağlı 4 polipeptit zincirinden oluşan glikoproteinlerdir. Efektör etkiye sahip sabit bölgeler, antijen bağlanması için değişken bölgelerden oluşmaktadırlar.

IgG yapısında olan anti-HLA antikorları dört çeşit yapıdadır. IgG1, IgG3 ve IgG4 anne karnındaki bebeği korumada primer rol oynar. IgG1 ve IgG3 komplemanın aktivasyonu için önemlidir. IgG1 ve IgG3 makrofaj ve nötrofillerdeki Fc kısmına bağlanarak fagositoz işlemini tetikler.

Anti-HLA antikoru oluşmasında alloimmünizasyon öncül rol oynamaktadır. Daha önce karşılaştığı ve yabancı antijenlere karşı üretilebilirler. Gebelik, organ nakli ve kan transfüzyonu gibi durumlar anti-HLA antikoru oluşumunu tetiklemektedir. Gebelikte annede fetüs ile birlikte babadan gelen antijenlere karşı anti-HLA antikoru oluştuğu gözlenmektedir. Aynı durum organ nakli ve kan transfüzyonu olan hastalar içinde geçerlidir (36).

2.3.4.2 De novo anti-HLA Antikorları

Daha önceden anti-HLA antikoruna sahip olmayan yeni bir alloimmünizasyon ile oluşan antikorlara de novo anti-HLA antikorları denir. Yapılan çalışmalar gebeliklerde, nakilden sonraki dönemde, kan transfüzyonu sonucu, viral ve otoimmün hastalıklarda anti-HLA antikoru oluşumunda etkili olabileceğini göstermektedir (37). Antikorum sınıfı, aviditesi ve afinitesi, konağın immün durumu, immün savunmadaki hücre sunumunun tipine ve immünizasyonun gidiş yönüne göre farklılık gösterir. Multipar gebe kadıların % 15-20 de tanımlanan HLA antikorları IgG sınıfında, yüksek titrede ve afiniteye sahiptir (38,39). Kan transfüzyonu sonucunda da anti-HLA antikorları oluşabilmektedir. SDBY olan hastalar hastalığın seyri gereği anemiktir. Bu

sebeple de hastalara kan transfüzyonu ihtimali yüksektir. Kan transfüzyonlarında ülkemizde ve dünyada sadece hasta ve donör arasındaki kan grubu uyumu dikkate alınmaktadır. Kan transfüzyon sayısı arttıkça hastalarda anti HLA antikor sayısında da artış olduğu görülmektedir. Özellikle nadir HLA antijenlerine sahip hastalarda anti-HLA antikor gelişme olasılığı artmaktadır (39). Organ nakillerinde ise; nakil sonrası dönemde graftın HLA'ları spesifik antikorlar gelişebilmektedir. Bu dönemde oluşan de novo antikorların dikkatle takip edilmesi gereklidir. Özellikle böbrek nakillerinde rejekte olmuş ve/veya graftın eksplante edildiği birçok hastada de novo anti-HLA antikorları gelişebilmektedir. Nakilden sonra oluşan antikorların titresi donör ve hasta arasındaki HLA uyumsuzluğunun derecesine bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir. Genellikle nakil sonrası dönemde DSA oluşan hastalarda AMR ve graft kaybı oranı yüksektir. Ancak DSA varlığına rağmen AMR görülmediğini saptayan çalışmalar da mevcuttur. Bu graftaki sitokinler, kemokinler, düzenleyici kompleman proteinleri, kompleman proteinlerinin polimorfizmi, IgG alt sınıfı ve bu antikorların glikolizasyon özellikleri gibi farklı faktörlerin immun reaksiyonları etkilediğini düşündürmektedir. AMR'nin histolojik bulguları, endotelial inflamasyona yol açarak, klasik kompleman aktivasyonu ve efektör hücrelerin devreye girmesi ile HLA antikorları bağlayan endotel fonksiyon hasarını göstermektedir.

Nakilden sonra, IgG1 antikorları, yaklaşık % 90 HLA özgüllüğüne sahipken IgG2 / 3 / 4'ün antikorları yaklaşık % 40 veya daha düşük oranda HLA özgüllüğüne sahiptir. Bu sonuçlar, her donör HLA antijenlerinin, çoğunlukla IgG1'i kapsayan çoklu alt sınıflar tarafından tanınan poliklonal bir yanıt oluşturduğunu göstermektedir. HLA antijen-anti HLA antikor tepkilerini domine eden IgG1/3 raporlarına rağmen, DSA alt sınıfının ve klinik sonucun ilişkilendirilmesiyle ilgili farklı sonuçlar da mevcuttur. Karaciğer ve böbrek naklinde IgG3 DSA'ların, AMR ve allograft kaybı riskini artırdığı saptanırken, diğerleri DSA alt sınıfı ile ve AMR veya graft kaybı arasında korelasyon saptamamıştır (40).

HLA-DQA ve HLA-DQB diğerlerine göre daha az polimorfik olduğu bilinmektedir. Bu yüzden böbrek nakli öncesinde yapılan çalışmalarda daha az önemsenmiştir. Ancak son yıllarda de novo anti-HLA-DQB antikorlarının böbrek nakilleri sonrasında en fazla oluşan sınıf II anti-HLA antikorları olduğu saptanmıştır.

Buda Anti-HLA DQ antikorlarının organ nakillerinde önemli bir yere sahip olduğu düşündürmektedir (39).

2.3.5.. T Hücreleri ve Hücreyel İmmünite

T-lenfosit kök hücreleri sürekli olarak kemik iliğinden timusa göç ederler ve T hücrelerinin gelişimini tamamlarlar. Ergenlik döneminde kısmi pubertal dejenerasyon görülmekle birlikte, T hücreleri yaşam boyu timusta gelişmeye devam etmektedir. Her bireyin immatür T hücreleri kendi HLA moleküllerini tanır. Bu olay, timik antrenmanla zamanında olumlu ve olumsuz bir seçim yapıldıktan sonra öğrenilir. Timik korteksin kendi epitel hücreleri üzerinde HLA molekülleri ile etkileşime girme kabiliyetine sahip T hücreleri, pozitif seçim vasıtasıyla apoptoz yoluyla ortadan kaldırılır. T hücrelerinin % 95'inden fazlası bu aşamada seçilemez ve timusta öldürülür. T hücre reseptöründe CD4 ve CD8 molekülleri ile T hücre reseptör kompleksinin bir bölümünü oluşturan CD3 molekülleri özellikle önemlidir. CD4 HLA sınıf II moleküllerine bağlarken, CD8 HLA sınıf I moleküllerine bağlanır. CD4 + T hücreleri genellikle yardımcı T hücreleri (Th) olarak işlev görür ve antijeni HLA sınıf II molekülleri ile birlikte tanır. CD8 + T hücreleri genellikle sitotoksiktir ve HLA sınıf I molekülleri ile antijeniktir (36,38). Timusta T hücresi gelişiminin erken evrelerinde, olgunlaşmamış T hücreleri CD4 ve CD8'i birlikte gösterir. Timus olgunlaşması sırasında bu moleküllerden birinin ifadesi kaybolur ve yalnızca CD4 veya CD8 pozitif T hücreleri gelişir. CD4 + Th hücreleri sentezlediği sitokinlere göre 2 alt gruba ayrılır; Th1 hücreleri, sitotoksik T hücreleri ve makrofajları aktive ederek hücreyel bağışıklığa neden olan sitokinleri salgırlar. Hücreyel bağışıklık, virüsler, mikobakterler ve mantarlar gibi hücre içi enfeksiyöz ajanlara karşı korunmak için özellikle önemlidir. Th2 hücreleri, B hücreleri tarafından antikor üretimini arttıran sitokinleri üretirler (41). Humoral bağışıklık, hücre dışı patojenlere yanıt olarak özellikle önemlidir. Viral enfekte hücrelerin eliminasyonu CD8 + sitotoksik T hücreleri sağlar. Enfekte hücreler, hücre içi viral proteinlerden oluşan peptitleri yüzeylerine uygulayarak sitotoksik T hücreleri için kendilerini hedef olarak ifade eder. Bu viral peptidler, sınıf I MHC

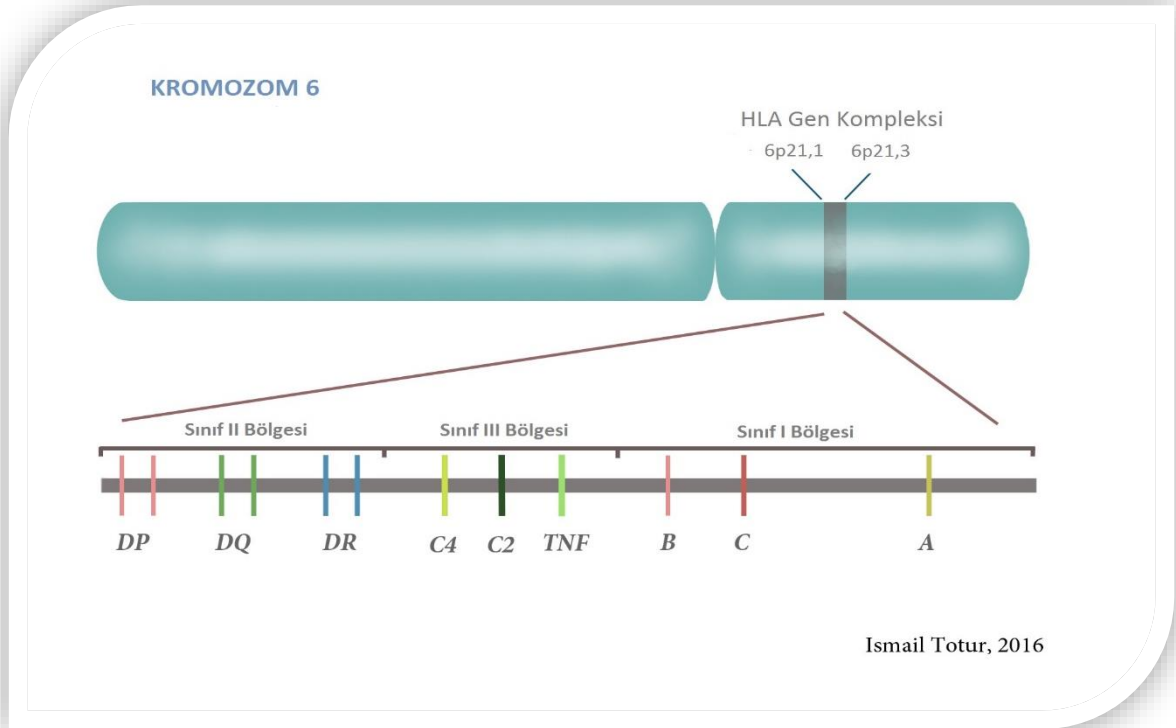
moleküllerinin peptid bağlanma yerlerine bağlıdır. Sitotoksik T hücreleri, bu viral peptit-HLA kompleksine bağlanır ve daha sonra enfekte olmuş hücreleri öldürürler. Enfekte hücreleri direkt olarak öldürmenin yanı sıra CD8 + T hücreleri, TNF-alfa ve limfotoksin de dahil olmak üzere birçok sitokini salgırlar. CD8 T hücrelerinin bir başka ürünü olan IFN-gama, komşu hücreler tarafından enfeksiyona direnç arttırarak antiviral bir etki gösterir (41, 42).

2.4. Human Leukocyte Antigen (HLA- İnsan Lökosit Antijenleri)

HLA gen bölgesi, 6. kromozomun kısa kolu üzerine yerleşmiş 200'den fazla gen içeren bu bölge 4 santimorgan uzunluğundadır ve ortalama 4 Mbp'lik alan kaplamaktadır (Şekil 1). HLA, çeşitli hücrelerin yüzeyinde eksprese olan proteinleri kodlayan gen bölgesidir. Polimorfizimin ciddi anlamda yüksek olduğu bu bölgedeki genler tarafından kodlanan proteinlerin hasta-donör çiftleri arasındaki uyumsuzluğu rejeksiyonlarda önemli olabilmektedir (43).

2.4.1. HLA Sınıf I Molekülü

HLA sınıf I molekülleri, çekirdeği olan bütün hücrelerin yüzeyinde bulunan glikoprotein yapısındaki moleküllerdir. Antijenlerin sitotoksik T hücrelerine sunmak gibi önemli bir role sahiptir. Bu bölgede fonksiyonel olarak rol alan HLA-A, HLA-B ve HLA-C'den oluşmaktadır (44). Hücre dışında bir amino grubu olan bir ağır zincir ile non-kovalent bağlı β_2 mikroglobulinden oluşan iki ayrı polipeptid zincirinden meydana gelir. Bunlardan α polipeptid zincir birbirine disülfid bağları ile bağlı 338 aminoasit uzunluğunda, 44 kD ağırlığında üç kısımdan oluşmaktadır (45).



Şekil 1. 6. kromozomda bulunan HLA molekülü

Bu molekül ekstraselüler hidrofilik bölge (1-281 rezidü), transmembran hidrofobik bölge (282-306 rezidü) ve intraselüler hidrofilik bölge (307-338 rezidü) olmak üzere üç kısımdan oluşur. Membran yüzeyinde bulunan ağır α_1 ve α_2 olmak üzere iki kısımdan oluşur. Bu moleküller peptid bağlama bölgeleridir. T hücresi üzerinde bulunan CD8 molekülü ise membran proksimalinde yer alan α_3 ile gerçekleşir (45).

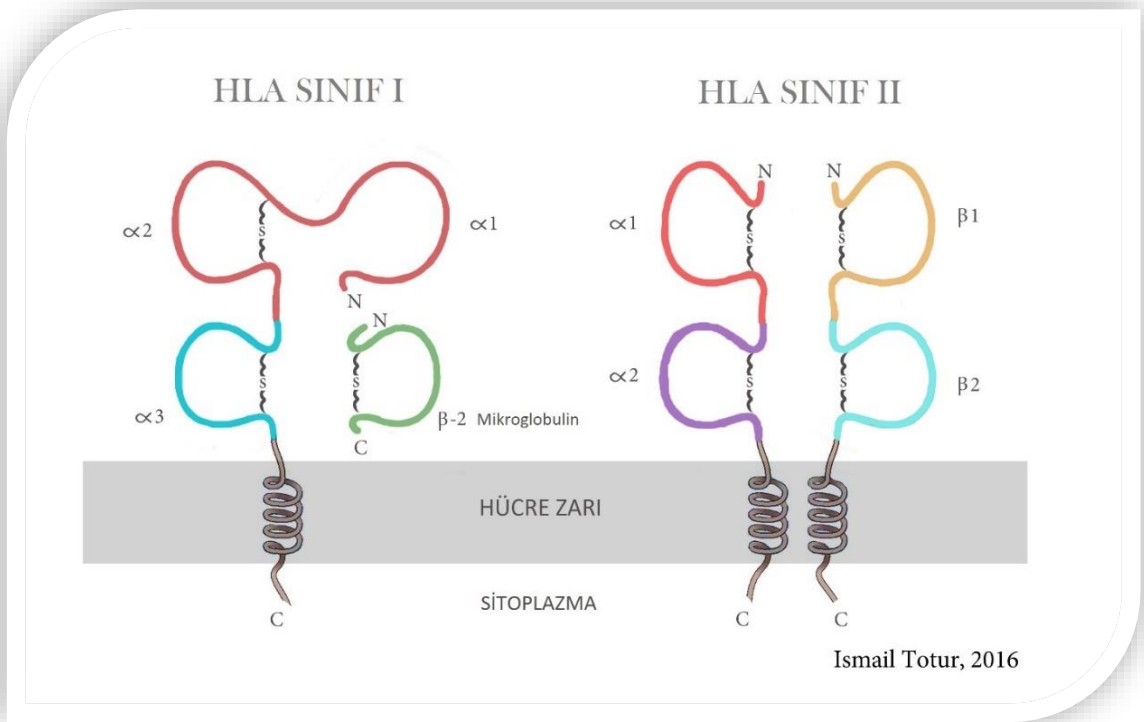
HLA Sınıf I'in ağır zincir bağlantısının stabil hale gelebilmesi ve HLA molekülünün konformasyonel bütünlüğünü sağlamak için 15. kromozomda bulunan bir gen tarafından kodlanan β_2 -mikroglobulin tarafından bulunmaktadır. 12 kDa'lık büyüklüğe sahip olan bu protein polimorfik değildir. β_2 -mikroglobulin ağır zincir-antijenik peptid etkileşimi için önemli bir yere sahiptir (45,46).

HLA sınıf I molekülünün antijen bağlama bölgeleri oldukça küçüktür. Bundan dolayı büyük doğal peptidleri tanıyamazlar. Bu yüzden antijenlerin daha küçük birimlere parçalanmaları gerekmektedir (46). HLA Sınıf I incelemelerinde genellikle ekzon 2 ve ekzon 3 incelenir (47) (Şekil 2).

2.4.2. HLA Sınıf II Molekülü

Sınıf II HLA molekülleri immün sistemle ilişkili olan, B-lenfositleri, antijen sunan hücreler (makrofajlar, dentritik hücreler, kupffer hücreleri) ve insanlarda uyarılmış T hücreleri üzerinde bulunurlar. Sınıf II HLA molekülleri; 34 kDa uzunluğunda alfa ve 29 kDa uzunluğunda beta polipeptit zincirlerinden oluşan transmembran glikoproteinlerdir. Membrana yakın olan alfa2 ve beta2 bölgeleri kendine özel immunoglobulin katlanmasına benzer bir yapı oluştururlar. Ayrıca alfa1 ve beta1 bölgeleri beta-kırmalı tabakanın üzerinde 2 alfa-heliks oluşturduğu çukurumsu bir yapı oluşturur. Alfa zinciri A, beta zinciri ise B genleri tarafından kodlanır. Bu nedenle sınıf II bölgesinde yer alan DR, DQ ve DP bölgeleri sırasıyla DRA ve DRB, DQA ve DQB, DPA ve DPB olarak ikiye ayrılırlar. DR bölgesinde alfa zinciri kodlayan tek gen varken, beta zinciri için 9 farklı bölge vardır. Sınıf II antijen ve genlerinde ortak olarak kullanılan D harfinin sebebi bu antijenlerin ilk olarak HLA-A, B ve C den sonra gösterilen antijen HLA-D olarak isimlendirilmesidir. Zamanla alloreaktif antikorların yardımı ile de HLA-DR ve DQ alt birimleri tanımlanabilmiştir. DRB genlerinin ancak % 6 kadarı kodlama yapar ve ekzon 1-6 olarak sıralanmışlardır. HLA Sınıf II incelemelerinde genellikle ekzon 2 incelenir (46,48).

HLA Sınıf II alt birimi olan HLA-DQ' nun alfa ve beta zincirini sentezleyen genler HLA-DQA1 ve HLA-DQB1 olarak adlandırılır. A1 ve B1 genleri peptid bağlayan bölgeleri kodlarken A2 ve B2 bölgeleri ise immünglobulin benzer yapıda molekülleri kodlamaktadır. HLA DQA ve HLA DQB toplamda 5 ekzonluk gen bölgesinden oluşmaktadır. Ekzon 2 en polimorfik bölgedir. HLA DQA toplamda 435bp büyüklüğünde iken HLA DQB 396bp büyüklüğündedir. HLA DQB'nin hastalıklarla ilişkili olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Genel olarak çölyak hastalığı ile ilişkisi bilinen HLA-DQ bölgesi az polimorfik olduğu için nakillarda önemi çok fazla görülmemektedir. Ancak; son zamanlarda yapılan çalışmalarda özellikle renal nakilden sonraki dönemlerde HLA-DQ anti-HLA antikor gelişimi üzerine çalışmalar önem kazanmıştır (49) (Şekil 2).



Şekil 2. HLA Sınıf I ve Sınıf II molekülleri

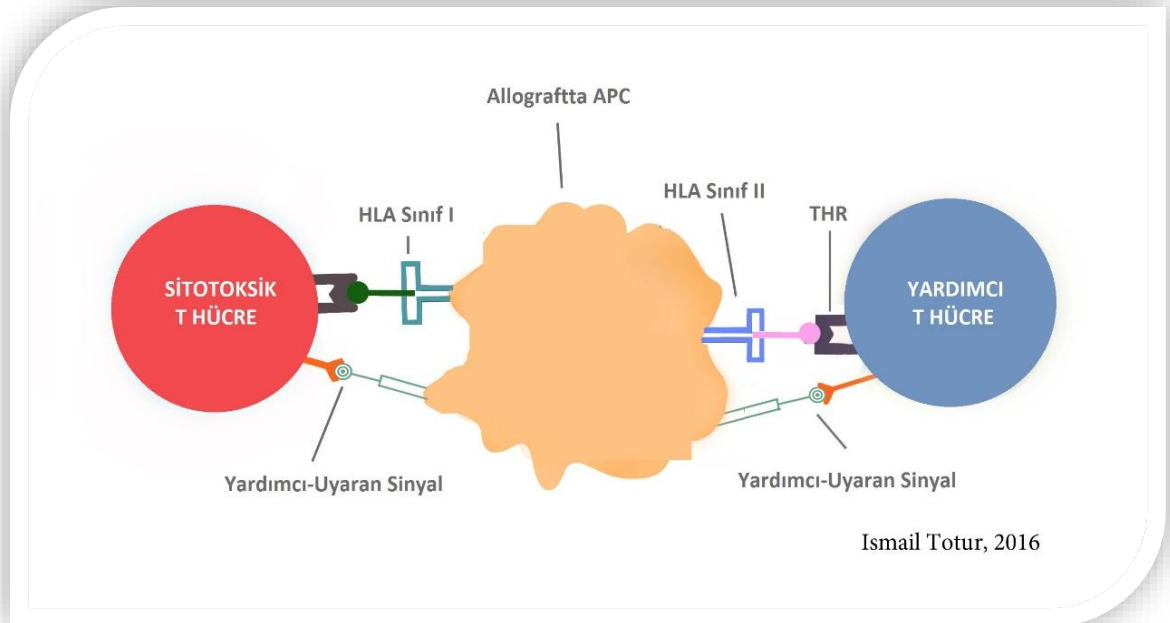
2.5. Nakilde Alloimmün Yanıt

Alloantijenlere karşı oluşan immünite şaşırtıcı derecede güçlüdür, bu reaksiyon HLA molekülleri tarafından yönlendirilir. HLA genlerinin yüksek allelik çeşitliliği

patojenlere karşı popülasyonların korunması için bir avantajdır. Fakat bu durum hücre ve organ nakli için istenmeyen bir durumdur. Transplante edile organ (allograft) alıcının T hücreleri tarafından direk ve indirek yollarla tanınır. Her iki tanınmada T hücrelerinin farklı alt sınıflarının yanı sıra B hücreleri, monositler, makrofajlar gibi immün sistem hücrelerinin aktivasyonu söz konusudur (50).

2.5.1. Direkt Tanıma

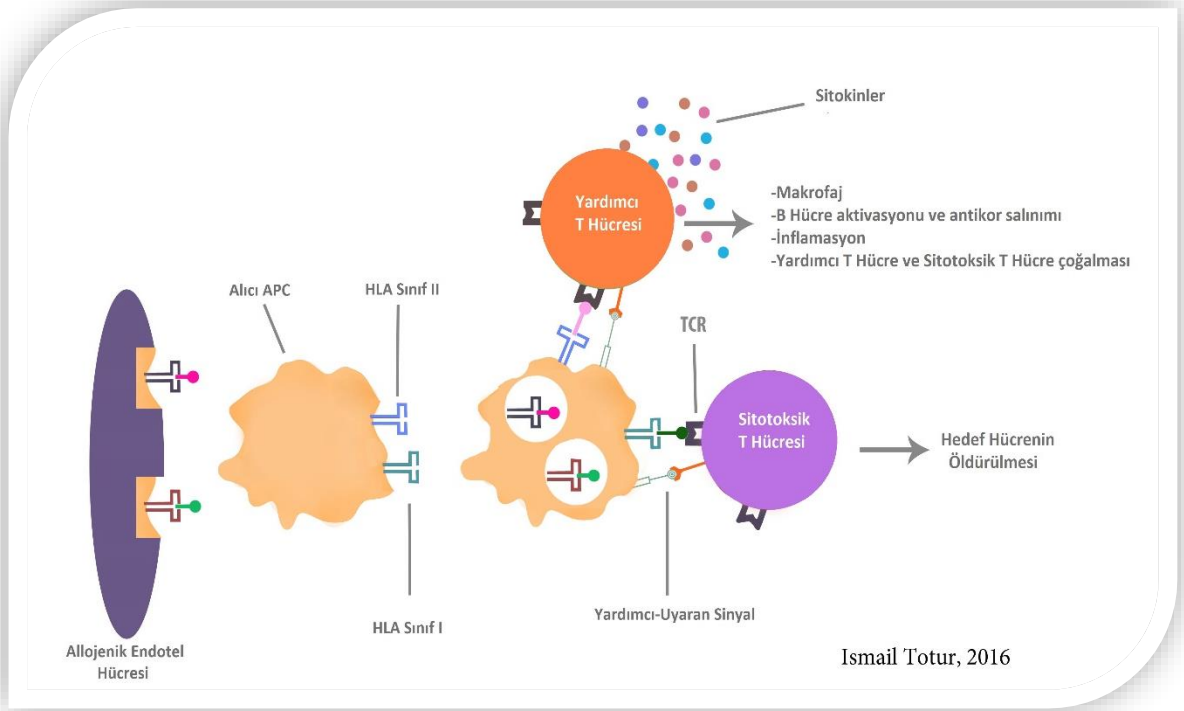
Direkt tanıma, allograft ASH'ları ve endotel hücreleri gibi diğer donör hücrelerinde eksprese olan HLA ve eşliğindeki proteinlerin alıcının T lenfositleri tarafından tanınmasına dayanır. Donör ASH'ları hastaya takılan böbreklerden lenf nodlarına göç ederler. Daha sonra HLA ile sunulan peptid ise hastanın alloreaktif T hücresi tarafından 'yabancı' olarak algılanıp T hücre aktivasyonuna yol açar (50). Bu immün reaksiyon ile oluşan efektör T hücreleri lenf nodlarında dolaşıma geçerek diğer donör hücreleri ile immün reaksiyon oluşturabilir. (Şekil 3).



Şekil 3. Direkt tanıma

2.5.2. İndirekt Tanıma

Donör hücreleri üzerindeki alloantijenler, hastanın ASH'leri tarafından tanınır, fagositoz ile alınır, işlenir ve HLA molekülü ile alıcı T lenfositlerine sunulur. Direkt tanıma daha kuvvetli bir immün yanıt oluşuyor gibi gözükse de her iki tanıma yolu ile gerçekleştirilen allotanıma allograft rejeksiyonu için yeterli olmaktadır (50) (Şekil 4).



Şekil 4. İndirekt Tanıma

Alloimmün yanıtta T lenfositler primer rol oynamaktadır. ASH'ler ile sunulan verici antijenleriyle, allospesifik T lenfositler çoğalır ve efektör hücrelere farklılaşır veya allograft üzerindeki hasarı ortadan kaldırmaya çalışan diğer hücrelere yardım eder (51). İnsanoğlunda alloimmün yanıtta sorumlu antijenler HLA olarak adlandırılan MHC proteinleri ile gerçekleşmektedir (43, 52).

2.6. Rejeksiyon Tipleri

2.6.1. Hiperakut Rejeksiyon

Hastada daha önceden tanınan antijene karşı hızlı bir şekilde antikor üretimi sonucu oluşan rejeksiyon tipidir. Nakil işlemi esnasında hastanın damarları ile böbrek damarlarının anastomozundan hemen sonra başlayan bir rejeksiyon tipi olduğu için hiperakut rejeksiyon denilmektedir. Hiperakut rejeksiyonun sebeplerinin başında anti-HLA antikorları gelmektedir. Bu yüzden nakil olacak hastanın alloimmünizasyonu iyi değerlendirilmeli hastanın panel reaktif antikor olup olmadığı araştırılmalı ve alıcı ile donör arasında yapılan CDCXM testinin negatifliğinden emin olunmalıdır. Başka bir hiperakut rejeksiyon sebebi de kan grubu uyumsuzluklarıdır. Kan transüzyonu uygulanmasındaki kaide organ naklinde de geçerlidir (10).

2.6.2. Akut Rejeksiyon

Nakilden sonra başlayan 7. gün ve 90. günlerde görülen klinikte en fazla görülen rejeksiyon tipidir. Genelde erken dönemde ortaya çıkar. Sonraki dönemde çıkan akut rejeksiyonlar geç akut rejeksiyon olarak adlandırılır ve hem tedaviye olan yanıtları hem de prognoza olan etkisi daha kötüdür (2,53).

2.6.3. Kronik Rejeksiyon

Uzun dönemde allograft yapısının kaybı ve fibrozis ile tanımlanan rejeksiyon tipidir. Allograft nefropatisi olarakta bilinmektedir. İmmünolojik sebeplerden kaynaklı kronik rejeksiyonda HLA uyumu, de novo anti-HLA oluşumu, yetersiz immüsupresyon sebep olmaktadır (2).

3 GEREÇ YÖNTEM

Tez çalışmasındaki çalışma grubunu Ocak 2014- Eylül 2016 tarihleri arasında kadavra donörden böbrek nakli yapılan 25 hasta-donör çifti oluşturmaktadır. T.C Sağlık Bakanlığı böbrek nakli bekleme listesindeki SDBY hastalarının HLA-A, HLA-B ve HLA-DR tiplene sonuçları kayıtlıdır. Bu çalışma hasta ve donörlerin HLA tiplene testleri İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Doku Tiplene Laboratuvarı'nda yapılmıştır. XM testleri de hücresel ve/veya boncuk (bead) tekniği ile yine aynı laboratuvarda yapılmıştır.

İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurul Komitesi'nin etik kurul onayı alınmıştır. Hastalar çalışma ile ilgili bilgilendirilerek ve Bilgilendirilmiş Gönüllü Onay Formu imzalatılmıştır.

3.1. Materyal

Dünyada birçok nakil merkezinde olduğu gibi ülkemizde de Sağlık Bakanlığı böbrek nakillerinde hasta ve donörlerde HLA-A, HLA-B ve HLA-DR tiplenesini esas almaktadır. Çalışma sürecinde belirtilen HLA lokuslarının tiplene yapıldıktan sonra DNA izole edilerek -20°C' de HLA-DQ tiplene için muhafaza edildi. Çalışma döneminde kadavra donörden böbrek nakli olan hastalardan HLA-DQA ve HLA-DQB doku tiplene için EDTA'lı kan alınarak DNA izolasyonu yapıldı ve HLA-DQ tiplene için -20°C' de muhafaza edildi. HLA-DQA ve HLA-DQB tiplene SSO (Sekans Spesifik Oligonükleotid) yöntemi ile Luminex cihazında çalışıldı. Bu yöntem için Lifecodes HLA-DQA1/B1 SSO Typing Kit (Immucor, Stanford, USA, LOT: 07065B) kiti kullanıldı.

Kadavra donörden nakil olan hastalardan nakil sonrası dönemde (3ay-24 ay) hastanenin rutin kontrollerine geldiklerinde PRA testi için separatör jel içeren tüplere kan alındı. Tüpler 4000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenerek serumlar ependorflara

koyularak test tarihine kadar -20°C’de saklandı. Bu serumlara Luminex metodu ile PRA tarama testi yapıldı. PRA tarama sonucu pozitif olan hastalara PRA tanımlama testi yapıldı. PRA tarama testi için Lifecodes LifeScreen Deluxe (Immucor, Germany, LOT: 3004480), PRA Sınıf I tanımlama için Lifecodes Class I ID (Immucor, Germany, LOT: 3004259) PRA Sınıf II tanımlama için ise Lifecodes Class II IDv2 (Immucor, Germany, LOT: 3004223) kullanıldı.

3.2. Metod

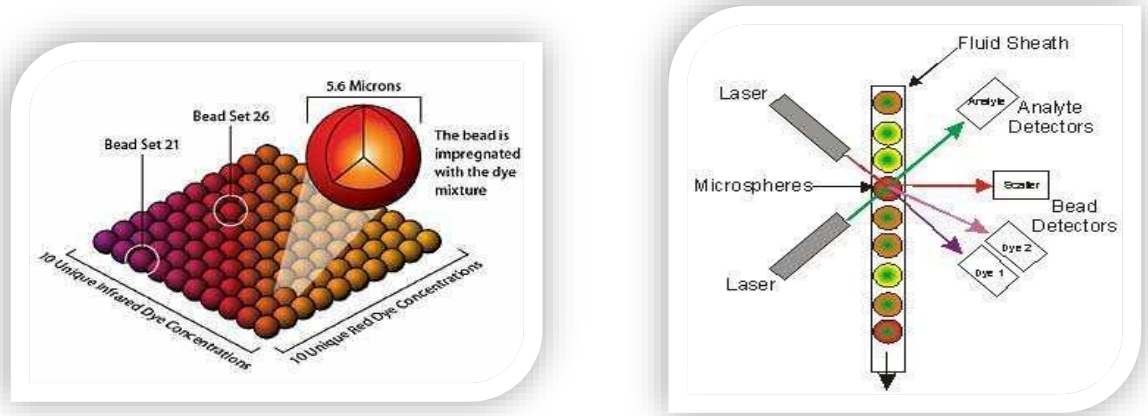
3.2.1. DNA İzolasyonu

DNA İzolasyonu işlemi ilk basamaktı ve bu çalışmada EZ1 DNA Blood 200µl Kit ve QIAGEN Geno marka ve modelli DNA İzolasyon cihazı kullanıldı. DNA izolasyonundan sonra nanodropta DNA konsantrasyonu ve saflığı ölçüldü. Konsantrasyonu <50 ng/µl ve saflığı 1.70 ile 2.00 arasında olan örnekler PCR-SSO (Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Sekans Spesifik oligonükleotid) çalışmasına alındı.

3.2.2. Luminex Teknolojisi

Luminex xMAP Teknolojisi (Austin, TX) tarafından geliştirilen, 5,6 µm büyüklüğünde polistren mikroboncuklara dayalı, multipleks, flow sitometrik analiz yöntemidir (20). Bu mikroboncukların içi spektral olarak farklı iki florokromla boyalıdır. Bu florokromların her birinden hassas miktarda kullanılarak, spesifik spektral özelliklerde 100 farklı boncuk seti oluşturulmuştur. Her boncuk seti yüzeyinde farklı bir HLA antijeni taşır. Boncuk setleri spektral özellikleriyle ayrıldığı için, tek bir reaksiyon kuyusunda 100 farklı analiti ölçülebilir. Üçüncü bir florokrom reporter moleküle bağlıdır ve boncuğun yüzeyindeki biyomoleküler etkileşimi ölçer. Mikroboncuklar, hızla akan bir sıvı nehrinden tek tek geçer ve luminex analiz cihazındaki (Floroanalizör) iki farklı lazer tarafından tanınır. 635 nm'lik 10mW kırmızı diodlazer mikroboncuktaki iki florokromu uyarır. 532 nm 13mW'luk yttrium alüminum garnet (YAG) lazeri ise mikroboncunun yüzeyine tutunmuş olan reporter florokromu uyarır (R-fikoeritrin, Alexa 532, Cy3).

Yüksek hızlı dijital sinyal toplanır, mikroboncuga dayalı olarak sınıflandırma yapılır ve yüzeydeki reaksiyonu ölçülür (Şekil 5). Saniyede 1000 mikroboncuk analiz edilebilmektedir (21).



Şekil 5. Luminex xMAP Teknolojisi

3.2.1.1. Luminex SSO Boncuk Yöntemi ile HLA-DQA, DQB Tiplemesi

Lifecodes HLA SSO Typing Kit (Immucor, ABD) ile uygulanan bu yöntem her bir lokus için farklı kitlelerle çalışma yapılmasını sağlamaktadır. Üretici firmanın belirlediği yöntem esas alınarak çalışma gerçekleştirilmektedir. Kitlerin içerisinde lokusa spesifik olarak belirlenmiş olan master mix ile probe mix bulunmaktadır. HLA DQA/B doku çalışması için tek bir kitede hem HLA-DQA hemde HLA-DQB doku tiplemesi yapılabilmektedir. Bu yöntemin ilk aşaması HLA-DQA ve HLA-DQB bölgeleri PCR yöntemiyle çoğaltma esasına dayalıdır.

Her örnek için 4 µl DNA, PCR tüplerine pipetlendi ve reaktifler hesaplanarak HLA-DQA/B karışımı (mix) hazırlandı. Bir hasta için 6 µl master mix, 10 µl dH₂O ve 0,2 µl taq polymeraz olan karışım 16 µl DNA üzerine eklendi. Thermal cycler cihazı kullanım talimatına uygun bir şekilde çalıştırıldı. Sıcaklık, süre döngü sayıları aşağıda belirtilen protokole göre çalışıldı (Tablo 1).

Tablo 1. HLA-DQA ve DQB PCR ürünlerinin amplifikasyon protokolü

Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü sayısı
95	5 dakika	1
95	30 saniye	8
60	45 saniye	
72	45 saniye	
95	30 saniye	32
63	45 saniye	
72	45 saniye	
72	15 dakika	1
4	5 dakika	1

PCR basamağından sonra hibridizasyon basamağına geçildi. 5 µl PCR ürünü Costar Plate'e aktarıldı. HLA-DQA/B Bead mix (Probe Mix) ısı bloğunda 55°C'de 7 dakika ısıtıldı ve 15 saniye boyunca sonike edildikten sonra 15 saniye vortekslendi. 15 µl HLA-DQA/B Bead Mix (Probe Mix) ilgili testin tüm kuyularına dağıtıldı. Tüm kuyulara bead mix dağıtıldıktan sonra plate üzeri seal ile kapatıldı ve thermal cycler cihazına konuldu Tablo 2'de ise HLA-DQA ve DQB hibridizasyon protokolü görülmektedir.

Tablo 2. HLA-DQA ve DQB PCR ürünlerinin hibridizasyon protokolü

Sıcaklık (°C)	Süre
97	5 dakika
47	30 dakika
56	10 dakika
56	10 dakika

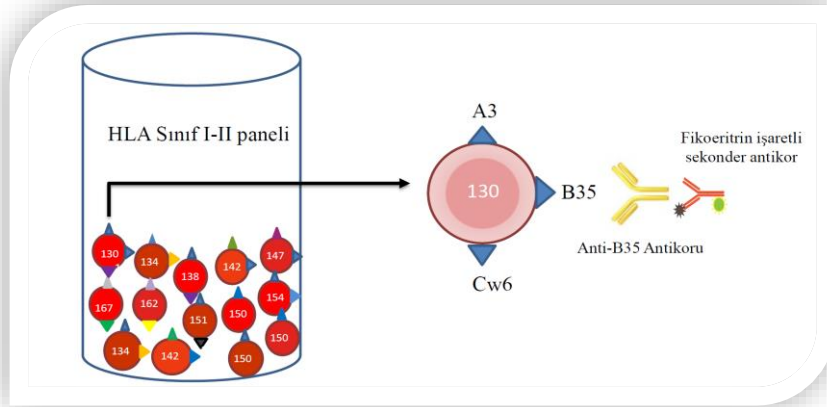
İlk 56°C'lik protokolün 3/4 aşamasına gelindiğinde her kuyu için "170 µl Dilution solution + 0,85 µl Streptavidin" solüsyon hazırlandı. Son 56°C'lik protokolün 4/4

aşaması biter bitmez thermal cycler kapağı açıldı, seal çıkarıldı ve 56°C de bekletilirken streptavidin solüsyonu konuldu. Solüsyon eklendikten sonra hemen Luminex cihazında Luminex cihazı kullanım talimatına göre MatchIT programı allel veritabanı versiyon 3.21 ile sonuçların analizi yapıldı

3.2.3. Luminex PRA

3.2.3.1. Luminex PRA Tarama

Luminex PRA tarama testi transplantasyon öncesi ve sonrasında anti-HLA antikor taraması için kullanılan bir yöntemdir. PRA tarama boncukları, HLA sınıf I ve II glikoproteinlerine karşı üretilmiş IgG antikorlarını tespit etmek için tasarlanmıştır. Farklı bireylerden elde edilmiş HLA sınıf I ve II glikoproteinleri konjuge edilerek saflaştırılmış ve luminex boncuklarına tutturulmuşlardır (Şekil 6-7).

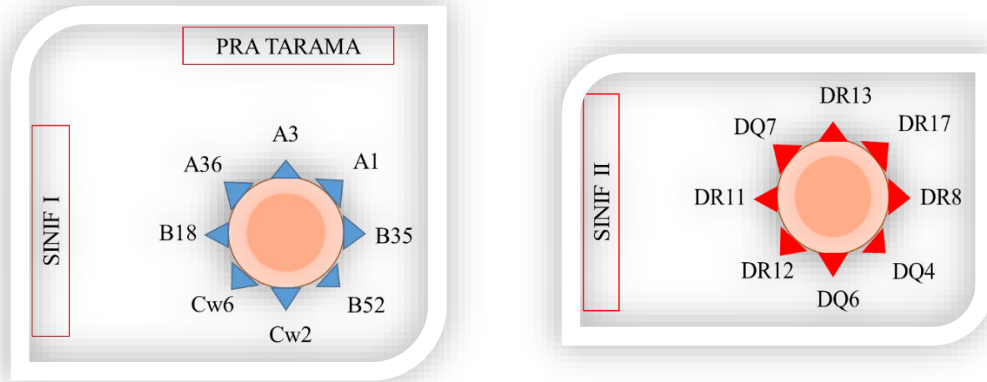


Şekil 6. PRA tarama paneli ve boncuk sistemi

Sınıf I için 7 (C1-01, C1-02, C1-03, C1-04, C1-05, C1-06, C1-07) Sınıf II için ise 5 boncuk (C2-01, C2-02, C2-03, C2-04, C2-05) grubu bulunmaktadır. C1-01 ve C2-01 boncukları dışındaki tüm boncukların üzerinde birden fazla donörden elde edilen sınıf I ve sınıf II antijenleri bulunmaktadır. C1-01 boncuğu, 100 Kafkas, 100 Afrika-Amerikalı ve 100 İspanyol kökenli kan donöründen elde edilen sınıf I glikoproteinleri ile kaplıdır. C2-01 boncuğunda, DR1, DR4, DR7, DR8, DR10, DR11, DR12, DR13, DR14, DR15, DR16, DR17, DR18, DR103, DR51, DR53 antijenleri

bulunmaktadır. Lota özgü olarak boncukların üzerindeki antijenler farklılık gösterebilir.

Testin prensibi az miktarda serum örneği ile boncukların inkübe edilmesine dayanmaktadır. Sensitize olan boncuklar bağlanmamış antikorları uzaklaştırmak için yıkanır. Fikoeritrine bağlı anti-human IgG antikor eklenerek ikinci bir inkübasyona kaldırılır. Seyreltilen test örneği Luminex cihazında analiz edilir. Negatif kontrol boncuklarından elde edilen sinyalle, tüm boncuklardan elde edilen sinyaller karşılaştırılarak örneğin antikor içerip içermediği belirlenir. MFI değerleri 2000'in üzerinde olan boncuk kümelerine bakılır ve MFI değerinin yüksek olmasına neden olan antikor tespit edilir.

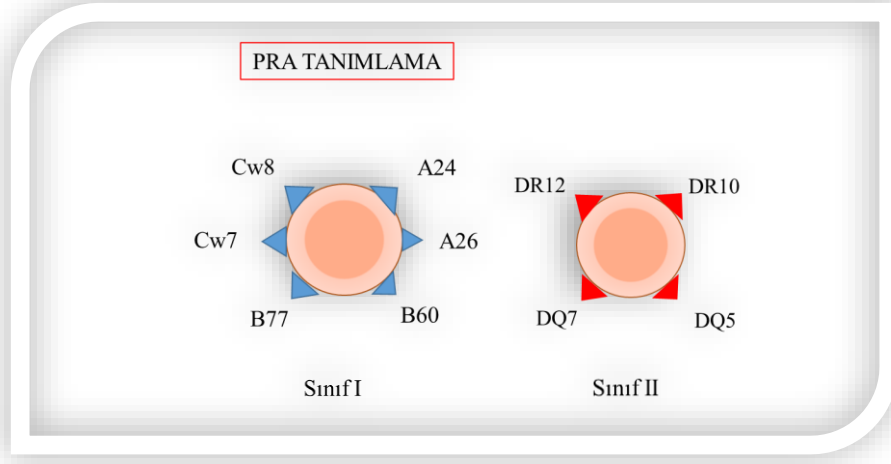


Şekil 7. PRA tarama sınıf I ve II boncuklarının şematik gösterimi

3.2.3.2.Luminex PRA Tanımlama

Testin prensip ve uygulandığı PRA tarama testi ile aynıdır. Sınıf I tanımlama için 50, Sınıf II tanımlama için ise 42 boncuk bulunur. Her bir boncuğun üzerinde tek bir donörden saflaştırılan HLA antijenleri tutturulmuştur (Şekil 8).

İki veya daha fazla değer pozitif olarak belirlenmişse pozitif, üç veya daha fazlası negatif olarak belirlenmişse negatif değer sonuç olarak belirlenir.



Şekil 8. PRA tanımlama sınıf I ve II boncuklarının şematik gösterimi

3.3.İstatiksel Analizler

Yapılan istatikler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) programının 21.00 veritabanı ile Windows 10 bilgisayar ortamında yapıldı. GFH ile PRA arasındaki ilişki Pearson Ki-kare testi ile PRA ile kreatinin değeri arasındaki ilişki ise Pearson korelasyon testi ile yapıldı. Anlamlı değer $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Bu çalışmada Ocak 2014-Eylül 2016 arası İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Doku Tipleme Laboratuvarı'na İzmir Bozyaka Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi ve İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Organ Nakli Koordinatörlüğü tarafından gönderilen kadavra donör ve hastalardan çalışma grubu oluşturulmuştur. Çalışma grubu demografik bilgileri Tablo 3 ve 4' de gösterilmiştir.

Kadavra donörlerin %48'i (n=12) erkek, %52'si (n=13) kadın bağışçıdır. Donörlerin yaş ortalaması 35 ± 32 'dir. Hastaların ise %52'si (n=13) erkek,%48'i (n=12) kadındır (Şekil 9). Hastaların yaş ortalaması da 34 ± 25 'dir. Beyin ölümü gerçekleşmiş kadavra donörlerin bağışçı olduktan sonra ölçülen kreatinin değerlerinin ortalaması ise $1,97 \pm 1,89$ 'dur.

Tablo 5'de çalışmaya dahil ettiğimiz hastaların alloimmunizasyon bilgileri görülmektedir. Toplam kan transfüzyon bilgisi ve son transfüzyon tarih ve miktarı, kadın hastalar için gebelik bilgileri (doğum, abortüs, düşük, kürtaj) ve önceki transplantasyon ve rejeksiyon bilgileri mevcuttur. Şekil 10'da ise tüm hastaların alloimmünizasyon oranı gösterilmiştir.

25 hasta ve donör çiftine CDCXM testi ve bu teste ek olarak 6'sına FCXM testi, 19'una Luminex DSA testi çalışılmıştır. Tüm cross match sonuçları negatif olarak değerlendirilmiştir.

Cross match sonuçları negatif olan ve kadaverik donörden böbrek nakli olan hastalardan nakil sonrası dönemde, anti-HLA antikor ve donöre özgü HLA antikor oluşup oluşmadığını araştırmak için PRA testleri yapıldı. Nakil sonrası dönem erken dönem (nakil sonrası 0- 3 ay) ve geç dönem (nakil sonrası 3-24 ay) olmak üzere 2 gruba ayrıldı. Yedi hasta erken dönem, 18 hasta ise geç dönem serumu kullanılarak PRA tarama testi yapıldı. PRA tarama testi pozitif olan serumlarda oluşan anti-HLA antikorunun özgüllüğünü belirlemek için PRA tanımlama testleri yapıldı.

Hastaların %40'ı A Rh(+), %32'si 0 Rh (+), %16'sı B Rh (+), %8'i A Rh(-), %4'ü AB Rh(+)'tir. Donörlerin ise %48'i A Rh (+), %28'i 0 Rh (+), %16'sı B Rh (+), %4'ü AB Rh (-) ve %4'ü de 0 Rh (-)'tir. Çalışma grubunda hasta-donör kan grupları birebir uyumludur.

Tablo 3. SDBY hastaların demografik bilgileri

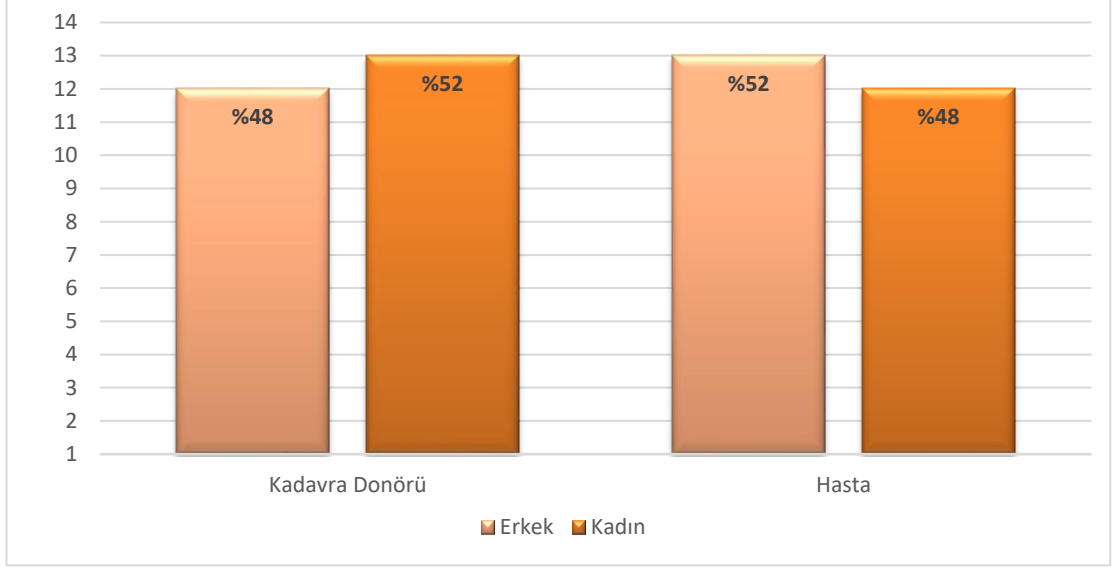
No	Yaş/ Cinsiyet	Kan grubu	Diyaliz tipi	Diyaliz süresi (ay)
H1	44/K	A Rh(-)	HD	84
H2	52/E	A Rh (+)	PD	36
H3	48/K	A Rh (+)	HD	48
H4	40/E	B Rh (+)	HD	168
H5	28/K	0 Rh (+)	HD	180
H6	42/E	A Rh (+)	HD	120
H7	34/K	B Rh (+)	HD	78
H8	62/E	0 Rh (+)	PD	6
H9	57/K	A Rh (+)	HD	144
H10	42/E	A Rh (+)	HD	10
H11	59/K	B Rh (+)	HD	108
H12	57/K	A Rh (+)	HD	118
H13	9/K	0 Rh (+)	HD	1 ay
H14	41/K	A Rh (+)	HD	140
H15	51/E	0 Rh (+)	HD	131
H16	17/E	A Rh (-)	HD	58
H17	54/E	A Rh (+)	HD	140
H18	46/E	A Rh (+)	HD	72
H19	51/E	0 Rh (+)	HD	101
H20	59/E	0 Rh (+)	HD	126
H21	38/K	0 Rh (+)	HD	82
H22	32/K	A Rh (+)	HD	79
H23	53/E	0 Rh (+)	HD	61
H24	33/K	B Rh (+)	HD	66
H25	52/E	AB Rh (+)	HD	72

Tablo 4. Kadavra donörü demografik bilgileri

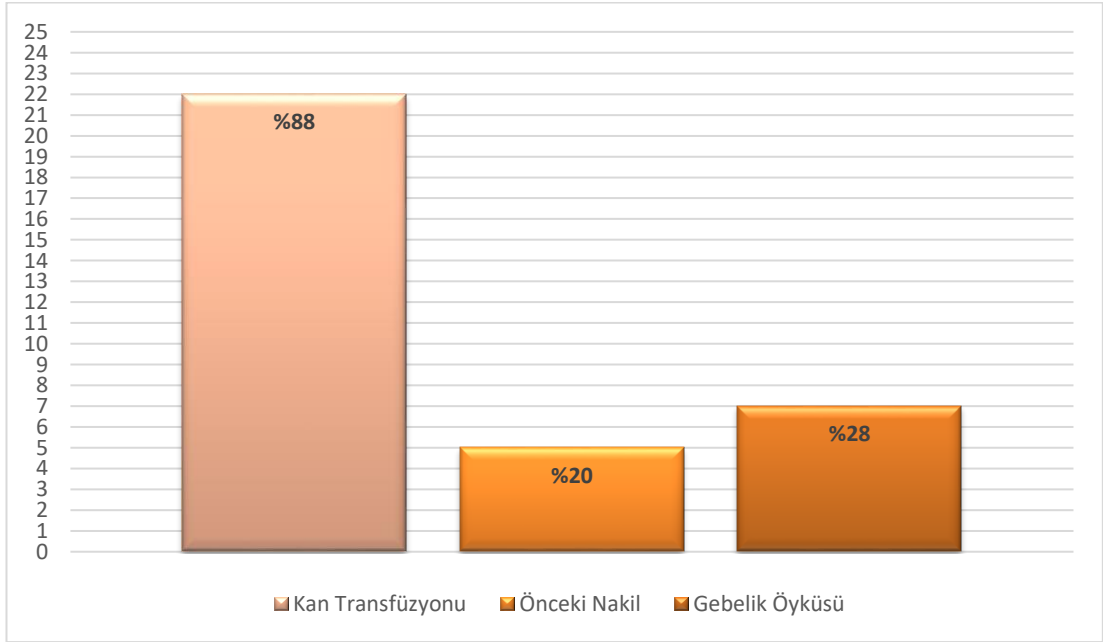
No	Yaş/ Cinsiyet	Kan grubu	Kreatinin	Ölüm Sebebi
D1	50/E	A Rh(+)	0,79	SAK
D2	43/K	A Rh(+)	1,1	Kafa Travması
D3	50/E	A Rh(+)	1,52	Trafik Kazası
D4	48/E	B Rh(+)	0,82	ASR
D5	51/K	0 Rh(+)	1,3	İCH
D6	36/K	A Rh(+)	0,4	Beyin TM
D7	48/E	B Rh(+)	1,7	İntrakranial Hematom
D8	53/K	0 Rh(+)	0,9	SAK
D9	59/E	A Rh(+)	1,7	İntrakranial Hemaroji
D10	50/K	A Rh(+)	0,65	SAK
D11	46/K	B Rh(+)	0,9	Anevrizma
D12	59/K	A Rh(+)	1,3	SH
D13	3/K	0 Rh(+)	0,8	SAK
D14	46/E	A Rh(+)	0,8	SAK
D15	38/E	0 Rh(-)	1,1	Kardiyak Arrest
D16	46/E	A Rh(+)	0,8	SAK
D17	36/K	A Rh(+)	0,4	Beyin TM
D18	39/K	A Rh (+)	0,9	Kafa Travması
D19	20/E	0 Rh (+)	1,2	İntrakranial Kanama
D20	56/E	0 Rh(+)	0,98	Post CPR Enselpati
D21	51/K	0 Rh(+)	1	SAK
D22	53/E	A Rh(+)	1,2	Hipoksik Ansefolopati
D23	51/K	0 Rh(+)	3,86	İntraserebral Hemotom
D24	56/K	B Rh(+)	1,26	Subdural Hemotom
D25	67/E	AB Rh(-)	1,01	İskemik İnfarkt

Tablo 5 Böbrek nakli olan hastaların alloimmunizasyon bilgileri

No	Nakil Öncesi Toplam Kan Transfüzyonu (Ünite)	Son Kan Transfüzyonu Tarihi/Miktarı (Ünite)	GEBELİK			Önceki Nakil Tarihi	Önceki Rej. Tarihi
			A	D	K		
H1	3	2014/2	0	4	0	0	0
H2	2	2014/1	0	0	0	0	0
H3	2	2015/2	1	3	0	0	0
H4	0	2016/2	0	0	0	0	0
H5	2	2016/2	0	0	0	0	0
H6	2	2016/2	0	0	0	2006	2008
H7	3	2009/3	0	0	0	2011	2016
H8	0	0	0	0	0	0	0
H9	1	2013/1	0	2	4	0	0
H10	2	2015/2	0	0	0	0	0
H11	2	?	4	3	2	0	0
H12	2	2009/2	0	4	0	2009	2015
H13	1	?	0	0	0	0	0
H14	3	2010/2	0	0	0	0	0
H15	2	2015/2	0	0	0	2009	2015
H16	2	?	0	0	0	0	0
H17	0	0	0	0	0	0	0
H18	2	2012/2	0	0	0	0	0
H19	2	?	0	0	0	0	0
H20	1	2015/1	0	0	0	0	0
H21	1	2016/1	0	0	0	2010	2012
H22	3	2012/3	1	0	1	0	0
H23	2	1980/2	0	0	0	0	0
H24	3	2009/3	0	0	0	0	0
H25	1	2016/1	0	4	0	0	0



Şekil 9. Hasta ve kadavra donör cinsiyetleri



Şekil 10. Hastalarda alloimmünizasyon oranları

Tablo 6’da hasta-donör çiftlerinin HLA-A, B, C, DRB1 tiplene sonuçları ve uyum derecesi görülmektedir. Tablo 7’de ise tez kapsamında çalıştığımız HLA-DQA,DQB tiplene sonuçları ve uyum derecesi görülmektedir.

Tablo 6. Hasta ve kadavranın HLA-A, B, C, DR doku tipi ve uyum derecesi

Nakil kodu	HLA-A*	HLA-A*	HLA-B*	HLA-B*	HLA-C*	HLA-C*	HLA-DRB1*	HLA-DRB1*	UYUM
D1	24		07	49	07		03	11	1A,1DR
H1	02	24	51		16	14	11	15	
D2	24		27	51	15		11		1B,2DR
H2	02	66	50	51	17	06	11	01	
D3	03	24	35	38	04		13		1B,1C,1DR
H3	01	02	35	44	02	04	13	16	
D4	03	32	35	44	16	04	04	14	1C,1DR
H4	02	24	18	75	12	01	04	16	
D5	02	32	40	51	15	02	11	16	1A,1DR
H5	02	02	60	60	03	04	11	15	
D6	03	29	07	44	16	07	07	15	1DR
H6	02	02	13	15	14	06	12	07	
D7	02	24	35	51	15	04	13	14	1A,1B,1DR
H7	02	25	08	51	07	16	03	14	
D8	02	24	39	51	14	07	13	11	1A,1B,2DR
H8	03	24	15	51	15	04	11	13	
D9	03	24	13	35	04	06	07	11	1B,1C
H9	01	31	35		03	04	01	14	
D10	02		35	51	14	04	04	14	1C,1DR
H10	29	68	27	58	03	14	04	4	
D11	02	24	35	51	15		11		1A,1DR
H11	02	2	44	55	01	05	11	13	
D12	02	26	13	40	12	06	07		1A,1DR
H12	02	24	18	51	14	07	07	13	
D13	11	29	07	51	14	07	11	15	1C,1DR
H13	03	32	08	49	07		03	11	
D14	02	03	13	44	16	06	04	07	1A,1DR
H14	02	33	65	51	01	08	04		
D15	11	68	35	44	14	04	11	15	1B,1C,1DR
H15	02	24	35	51	03	04	11	01	
D16	02	03	13	44	16	06	04	07	2DR
H16	30	69	49	49	07	02	04	07	
D17	03	29	07	44	07	02	07	15	1C, 1DR
H17	11	30	42	52	07		03	15	
D18	02	24	51	51	14	16	10	14	1B,1DR
H18	26	29	51	38	12	15	07	14	
D19	02	23	44	57	05	6	04	11	1A,1C,1DR
H19	02	02	08	50	06		04	03	
D20	24	26	40	56	01	07	04	11	1A,1DR
H20	24	29	37	58	03	06	04	10	
D21	23	32	49	55	03	07	11		1DR
H21	24	24	35	49	14	07	11	14	
D22	02	11	49	51	14	07	10	15	1A,1B,1C,1DR
H22	02	31	18	51	07		11	15	
D23	11	23	14	15	07	08	16	11	1C,1DR
H23	02	24	18	01	02	07	11	01	
D24	01	02	50	52	12	06	08	15	1B,1C,1DR
H24	11	29	40	52	12	02	15	16	
D25	01	24	40	58	03	07	04	13	1A,1C
H25	03	24	08	44	16	07	03	04	

Tablo 7. Hasta ve kadavranın HLA-DQA,DQB doku tipi ve uyum derecesi

Nakil kodu	HLA-DQA1*	HLA-DQA1*	HLA-DQB1*	HLA-DQB1*	UYUM
D1	05		02	03	1DQA
H1	01	05	06		
D2	05		03		2DQA
H2	05		03		2DQB
D3	01		06		
H3	01	05	03	05	1DQA
D4	01	03	03	05	2DQA
H4	01	03	03	05	2DQB
D5	01	05	03	05	1DQA
H5	05		03		1DQB
D6	01	02	02	06	1DQA,
H6	02	05	02	03	1DQB
D7	01	05	03	05	1DQA
H7	05	03	03	05	2DQB
D8	05		03		1DQA
H8	01	05	06		
D9	02	05	02	03	1DQA
H9	01	05	03	05	1DQB
D10	01	03	03	05	1DQB
H10	02		03		
D11	01	05	03	05	2DQA
H11	01	05	03	06	1DQB
D12	02		02		1DQA
H12	01	02	02	06	1DQB
D13	01	05	03	06	1DQA
H13	05		02	03	1DQB
D14	02	03	02	03	1DQA
H14	03	03	04	03	1DQB
D15	01	05	03	06	1DQA
H15	05		03		1DQB
D16	02	03	02	03	2DQA
H16	02	03	02	03	2DQB
D17	01	02	02	06	1DQA
H17	01	05	02	06	2DQB
D18	01	01	05	05	1DQA
H18	01	02	03	05	1DQB
D19	03	05	03	03	2DQA
H19	03	05	03	05	1DQB
D20	03	05	03	03	1DQA
H20	01	05	03	05	1DQB
D21	05		03		1DQA
H21	05	03	06	03	1DQB
D22	01	01	05	06	1DQA
H22	01	05	03	05	1DQB
D23	01	05	03	05	1DQA
H23	05		03		1DQB
D24	01	06	03	06	1DQA
H24	01		05	06	1DQB
D25	01	03	03	06	1DQA
H25	03	05	02	03	1DQB

Çalışma grubumuzdaki hasta ve kadavra donör çiftlerindeki HLA-DQA ve HLA-DQB allellere bakıldığında en fazla DQA*01, DQA*05, DQB*03, DQB*06 rastlanmıştır.

Tablo 8’de erken dönem PRA testi yapılan hastaların, nakil öncesi ve sonrası PRA sonuçları ve DSA özelliği görülmektedir. Hastaların %14,3’ünde (n:1) nakil öncesi dönemde sınıf I ve II PRA sonucu pozitif iken nakil sonrası dönemde de Sınıf I ve II PRA sonucu %14,3 pozitifiti.

Tablo 8. Erken dönem PRA testi yapılan hastaların nakil öncesi ve nakil sonrası PRA sonuçları ve kreatinin değerleri, DSA oluşumu

No	N.Ö PRA-I	N.Ö PRA-II	N.S PRA-I	N.S PRA-II	DSA	Son Kreatinin
H5	0	0	0	0	0	0,97
H20	0	DQ2	0	DQ2	0	2,3
H21	0	0	0	0	0	1
H22	A3,B81, A25	0	A3,B81, A25	0	0	1,9
H23	0	0	0	0	0	2,75
H24	0	0	0	0	0	3
H25	0	0	0	0	0	1,8

N.Ö: Nakil Öncesi N.S:Nakil Sonrası

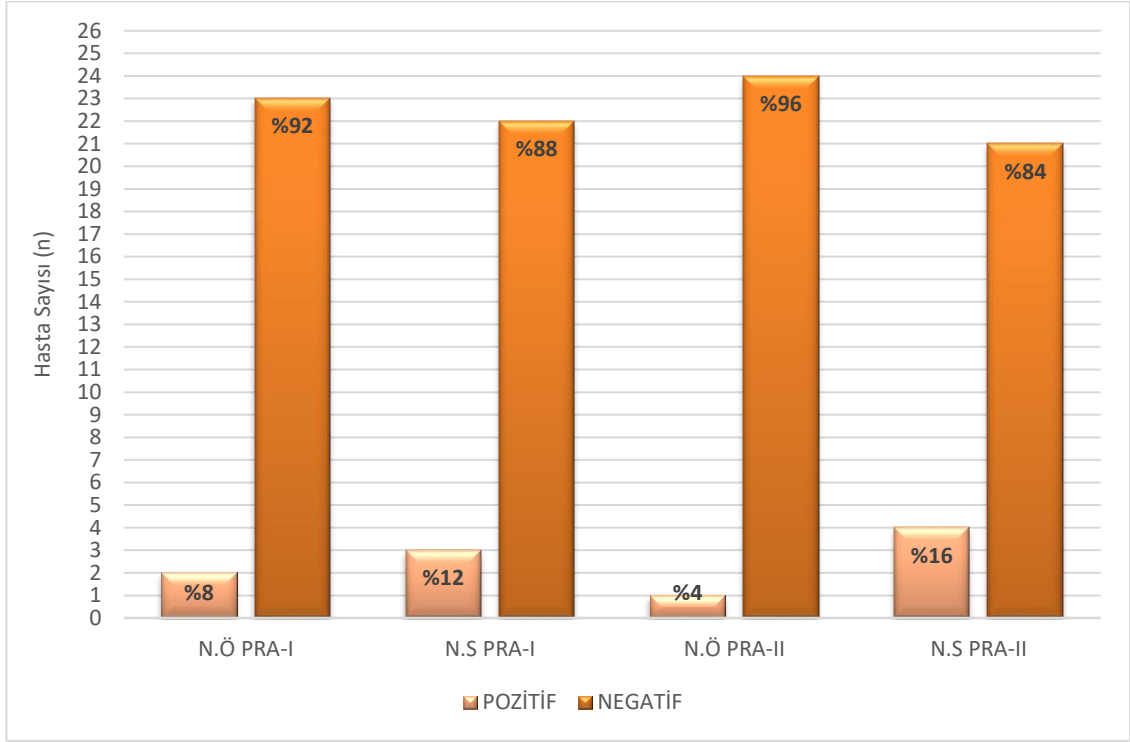
Tablo 9’de ise geç dönem PRA testi yapılan hastaların, nakil öncesi ve sonrası PRA sonuçları ile DSA özelliği görülmektedir. Bu grupta hastaların %5,5’inde (n:1) nakil öncesi dönemde sadece sınıf I PRA sonucu pozitif iken, nakil sonrası dönemde Sınıf I PRA oranı %11,1 (n:2) ve II PRA sonucu %20 (n:3) olarak saptanmıştır. Nakil öncesinde tüm hastaların Sınıf II PRA sonuçları negatifken, nakil sonrasında %16,6’ında (n:3) pozitiflik görülmüştür (Şekil 12). Geç dönem PRA yapılan hasta grubunda nakil sonrası oluşan anti-HLA antikoları %16,6’sı (n:3) DNDSA olmayan anti-HLA

antikorlara sahipken, %5,5 (n:1) DNDSA'idi. DNDSA gelişen H7 numaralı hasta beşinci ayda rejeksiyon nedeniyle böreğini kaybetmiştir.

Tablo 9. Geç dönem PRA testi yapılan hastaların nakil öncesi ve nakil sonrası PRA sonuçları ve kreatinin değerleri, DSA oluşumu.

No	N.Ö PRA-I	N.Ö PRA-II	N.S PRA-I	N.S PRA-II	DSA	Son Kreatinin
H1	0	0	0	0	0	2
H2	0	0	0	0	0	1,2
H3	0	0	0	0	0	
H4	0	0	0	DR1,DR10,DR15,DR 16	0	1,25
H6	A24,A23	0	A24,A23	DR4,DR9,DQ8		1,36
H7	0	0	A1,A24,A23, CW4,CW16	DR11,DR7,DQ9, DQ7,DR13,DR11	CW4,A24, A2	2,80
H8	0	0	0	0	0	1,7
H9	0	0	0	0	0	1,3
H10	0	0	0	0	0	1,2
H11	0	0	0	0	0	2,1
H12	0	0	0	0	0	1,6
H13	0	0	0	0	0	0,7
H14	0	0	0	0	0	0,9
H15	0	0	0	0	0	1,9
H16	0	0	0	0	0	1,7
H17	0	0	0	0	0	1,2
H18	0	0	0	0	0	1,2
H19	0	0	0	0	0	2

Böbrek nakli olan tüm hastaların (n=25) nakil öncesi ve nakil sonrası dönem PRA sonuçları incelendiğinde nakil öncesi dönemde %8'inde (n=2) PRA-I pozitifliği, %4'ünde PRA-II pozitifliği görüldü. Nakil sonrası dönemde ise PRA-I %12'ye (n=3), PRA-II %16'ya (n=4) yükseldiği gözlemlendi (Şekil 11).

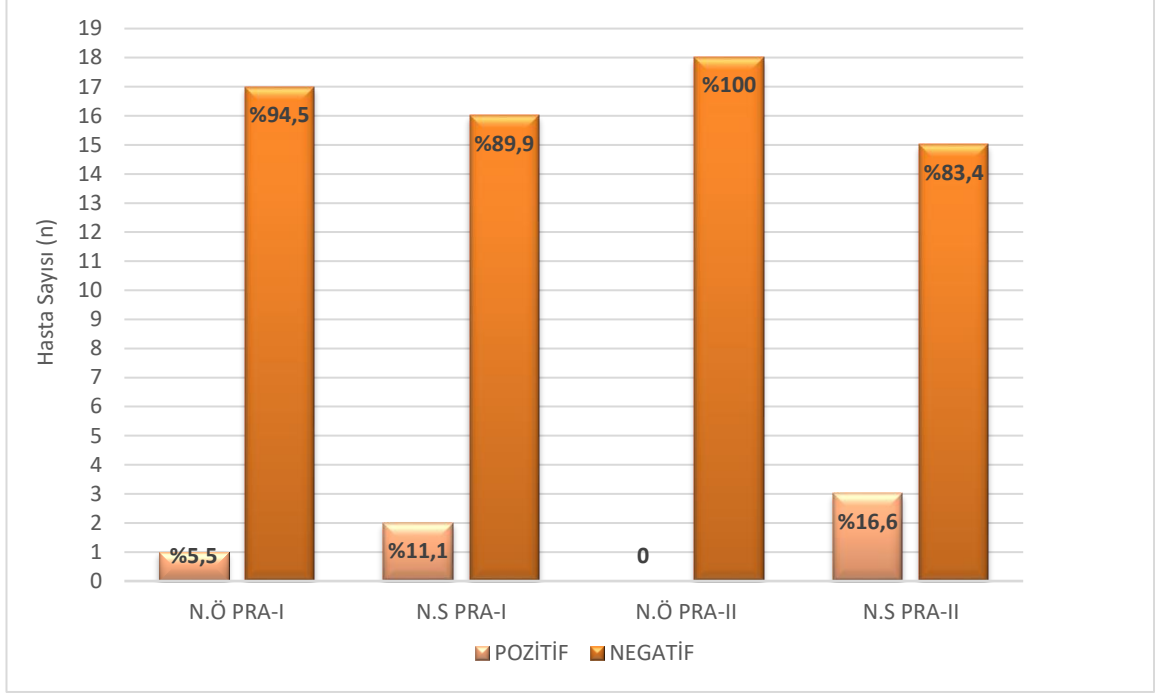


Şekil 11. Böbrek nakli olan hastaların nakil öncesi ve nakil sonrası PRA sonuçları

Tablo 10. PRA pozitifliği ile GFH arasındaki ilişki

	GFH	p	Φ
PRA Pozitif	75,96±20,2	>.05	0,065
PRA Negatif	70,1±46,4		

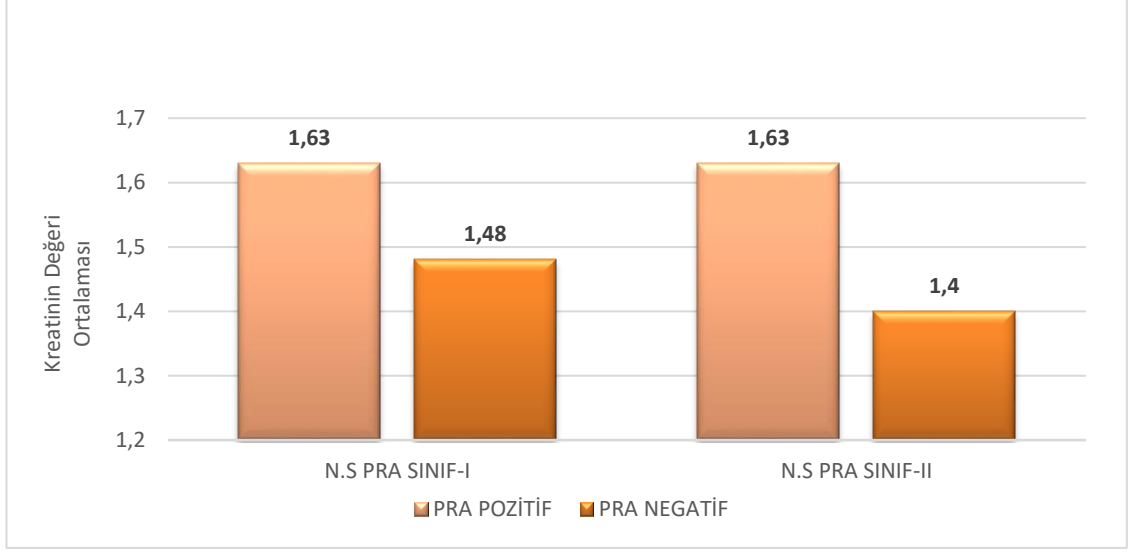
(Φ=Phi değeri 1'e yaklaştıkça yeterli düzeyde hasta sayısının olduğunu gösterir. P<0,05 değeri anlamlıdır.)



Şekil 12. Böbrek nakli olan hastaların nakil öncesi ve nakil sonrası geç dönem PRA sonuçları

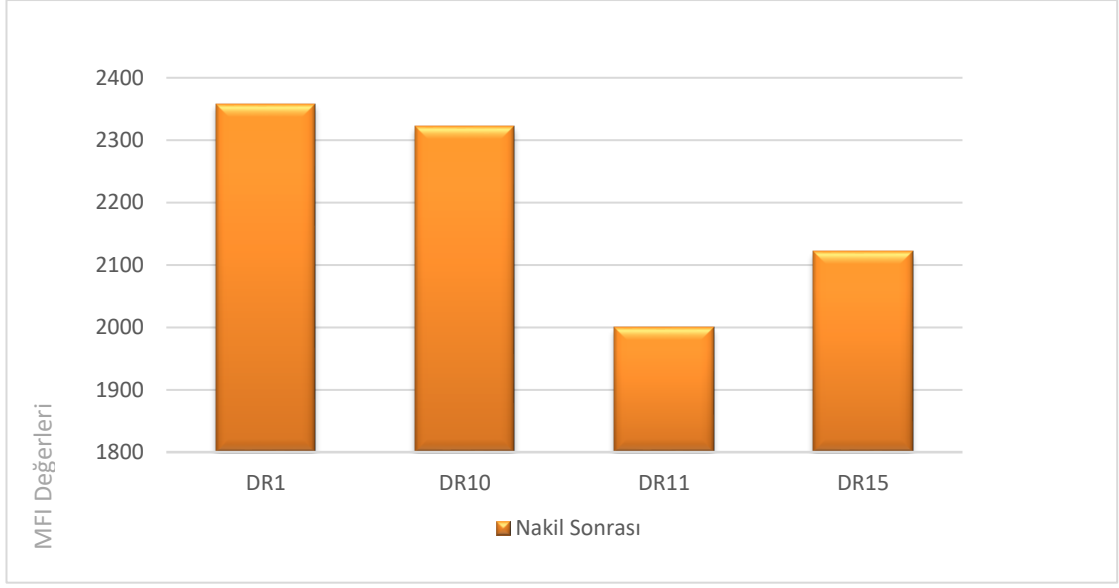
PRA pozitif ve negatif hastaların, son kreatinin değerleri esas alınarak GFH sonuçları hesaplandığında, istatistiksel olarak anlamsız sonuç elde edilmiştir (Tablo 10).

Ayrıca nakil sonrası dönemde PRA sonuçları pozitif ve negatif olan hastaların kreatinin değerlerine karşılaştırıldığında da sonuçları pozitif olan hastaların kreatinin değerleri ile PRA sonuçları negatif olan hastaların kreatinin değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı sonuçlar saptanmamıştır ($p>0,05$) (Şekil 13).



Şekil 13. Böbrek nakli olan hastaların nakil öncesi ve sonrası dönemde PRA Sınıf-I ve Sınıf-II testlerinin pozitif ve negatif olmasına göre ortalama kreatinin değerleri

PRA pozitifliği olan ve PRA tanımlama testi çalışılan H4, H6, H7, H20 ve H22 numaralı hastaların nakil öncesi ve sonrası dönemdeki MFI değerleri karşılaştırılmıştır.



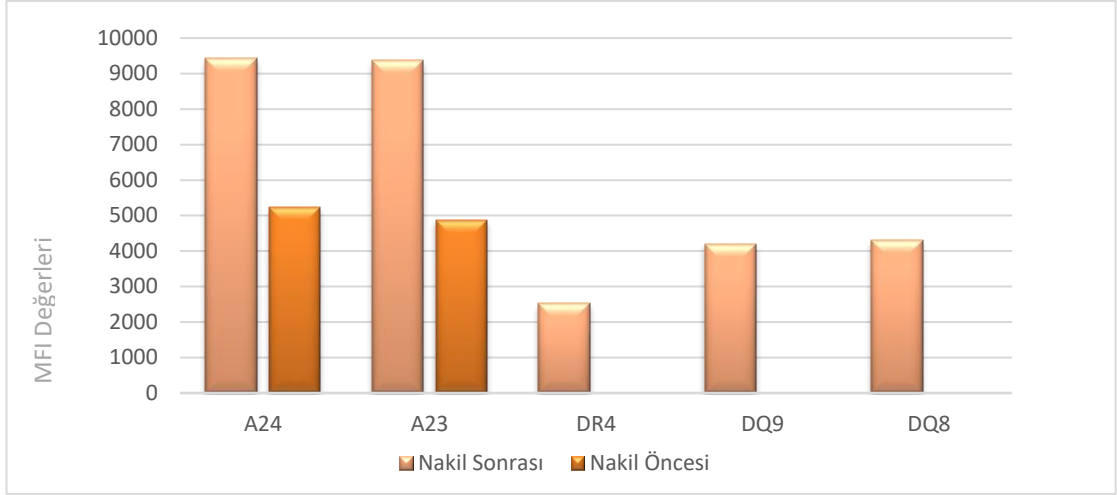
Şekil 14. H4 nolu hastanın PRA tanımlama MFI değerleri

Alloimmünizasyon Öyküsü

- Herhangi bir alloimmünizasyon öyküsü yoktur.

Hasta grubumuzda bulunan H4 numaralı hastada nakil sonrası geç dönem serumunda (10. ay) HLA Sınıf-II'de DNDSA olmayan anti-HLA antikorlarına rastlanmıştır (Şekil 14). Bu hastanın nakil öncesi dönemde hiçbir alloimmünizasyonu bulunmamaktadır. Ancak nakil sonrası 1.ayda 2 ünite kan transfüzyonu yapılmıştır. Aşağıda hasta ve kadavra donörün HLA-DR,DQ doku tipi görülmektedir (Şekil 14).

No	HLA-DRB1*	HLA-DRB1*	HLA-DQA1*	HLA-DQA1*	HLA-DQB1*	HLA-DQB1*	UYUM
D4	04	14	01	03	03	05	IDR 2DQA,2DQB
H4	04	16	01	03	03	05	



Şekil 15. H6 nolu hastanın PRA tanımlama MFI değerleri

Alloimmünizasyon Öyküsü

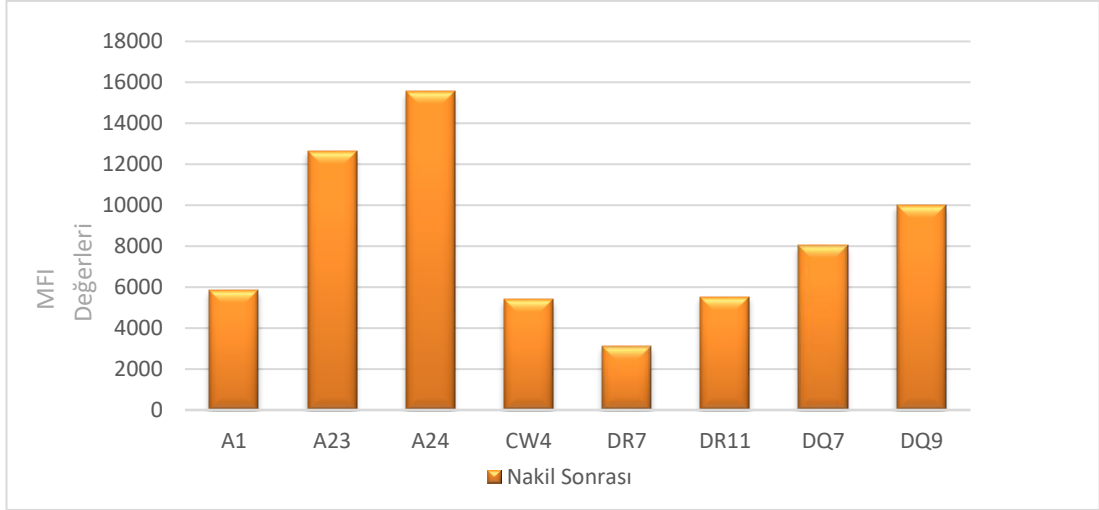
- PRA testinden 6 ay önce 2 ünite kan transfüzyonu yapılmıştır.
- 2006'da kadavradan nakil olmuş ve 2008'de rejeksiyon geçirmiştir.

H6 numaralı hastada nakil öncesi bakılan PRA testinde önceki alloimmünizasyondan kaynaklı olduğu düşünülen HLA Sınıf-I'de anti-HLA-A23 ve anti-HLA-A24'e rastlanmıştır. Nakil sonrası dönemde ise hastada Sınıf-II'de DR4, DR9 ve DQ8'e karşı bir de novo anti-HLA antikorlarına rastlanmıştır (Şekil 15).

No	HLA-A*	HLA-A*	HLA-B*	HLA-B*	HLA-C*	HLA-C*
D6	03	29	07	44	16	07
H6	02	02	13	15	14	06

UYUM
1DR,1DQA,
1DQB

No	HLA-DRB1*	HLA-DRB1*	HLA-DQA1*	HLA-DQA1*	HLA-DQB1*	HLA-DQB1*
D6	07	15	02	01	02	06
H6	07	12	02	05	02	03



Şekil 16. H7 nolu hastanın PRA tanımlama MFI değerleri

Alloimmünizasyon Öyküsü

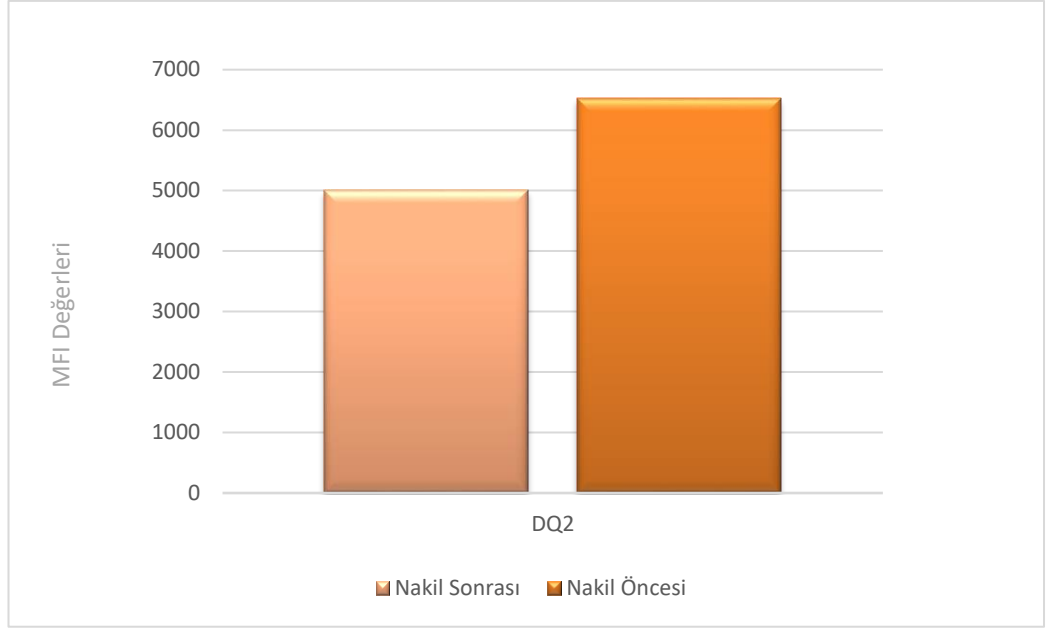
- PRA testinden 7 yıl önce 3 ünite kan transfüzyonu yapılmıştır.
- 2011’de annesinden nakil olmuş, 2015 yılında rejeksiyon geçirmiştir.

Nakil öncesi dönemde herhangi bir anti-HLA antikorunu bulunmayan H7 nolu hasta nakil sonrası 5.ayda rejeksiyon geçirerek böbreğini kaybetmiştir. Hastanın daha öncesinde annesinden nakil olduğu 4 yıl sonra rejeksiyon geçirdiği bilinmektedir. Bu hastada nakil sonrası 4.ayda A24, Cw4’e karşı de novo DSA anti-HLA antikorlarına saptanmıştır. Hastada ayrıca DNDSA olmayan anti-HLA antikorları da geliştiği tespit edilmiştir (Şekil 16).

No	HLA-A*	HLA-A*	HLA-B*	HLA-B*	HLA-C*	HLA-C*
D7	02	24	35	51	15	04
H7	02	25	08	51	07	16

No	HLA-DRB1*	HLA-DRB1*	HLA-DQA1*	HLA-DQA1*	HLA-DQB1*	HLA-DQB1*
D7	13	14	01	05	03	05
H7	03	14	05	03	03	05

UYUM
1A,1B,1DR, 1DQA,2DQB



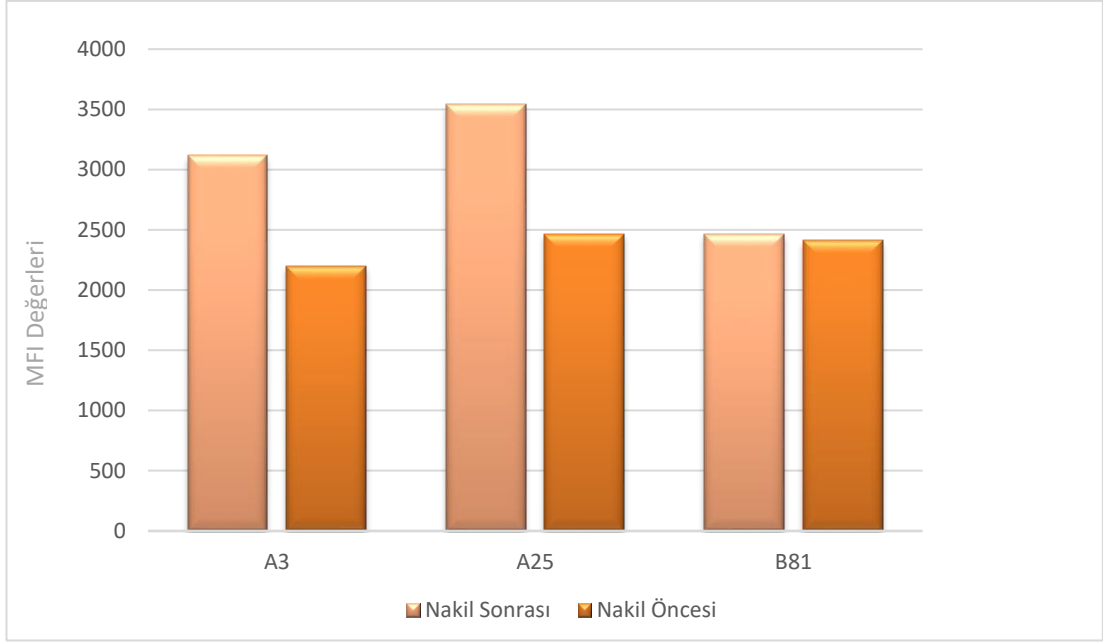
Şekil 17. H20 nolu hastanın PRA tanımlama MFI değerleri

Alloimmünizasyon Öyküsü

- PRA testinden 1 yıl önce 1 ünite kan transfüzyonu yapılmıştır.

Nakilden 1 yıl önce kan bankasından 1 ünite tam kan takılan H20 numaralı hastanın, nakilden önce ve sonra DQ2'ye karşı bir anti HLA antikoru olduğu tespit edilmiştir (Şekil 17).

No	HLA-DRB1*	HLA-DRB1*	HLA-DQA1*	HLA-DQA1*	HLA-DQB1*	HLA-DQB1*	UYUM
D20	04	11	03	05	03	03	IDR
H20	04	10	01	05	03	05	1DQA,1DQB



Şekil 18. H22 nolu hastanın PRA tanımlama MFI değerleri

Alloimmünizasyon Öyküsü

- PRA testinden 4 yıl önce 3 ünite kan transfüzyonu yapılmıştır.
- 1 abortus, 1 kürtaj olmak üzere 2 gebelik öyküsü vardır.

Nakil öncesi dönemde A3, A25 ve B81 anti-HLA antikorları saptanan H22 numaralı hastanın 1 abortus, 1 kürtaj ve nakilden 3 yıl önce 3 ünite ERT kan transfüzyon öyküsü vardır (Şekil 18).

No	HLA-A *	HLA-A*	HLA-B*	HLA-B*	HLA-C*	HLA-C*	UYUM
D22	02	11	49	51	14	07	1A,1B,
H22	02	31	18	51	07		1C

Çalışma grubundaki hastalardan %12'si (n=3) tanesi kardiyak ve septik şoktan dolayı kaybedilmiş ve %4'ünde (n=1) de novo DSA oluşumu gözlemlenmiş hasta rejeksiyon geçirerek böbreğini kaybetmiştir. Nakilden bir ay sonra hasta sağkalım %88 (n=22), graft sağkalımı ise %100'dür (n=25). Nakilden sonraki 1 ay ve 12 aylık dilimde ise herhangi bir hasta kaybedilmemiş ancak, bir hasta 5. ayda rejeksiyon geçirmiş ve graft sağkalım oranı %96 (n=24) olarak değişmiştir.

5 TARTIŞMA

İmmün sistem patojenlere karşı antikor üreterek savunma mekanizmasını oluşturmakta ve insanı zararlı ve yabancı moleküller olan antijenlere karşı korumaktadır. Bu durumda, antijenik epitoplar immün sistem hücrelerine HLA moleküllerinin oluğunda tanıtılmaktadır. HLA genlerinin yüksek allelik çeşitliliği patojenlere karşı popülasyonların korunması için bir avantajdır. HLA'nın, kendinden olan ve olmayanı ayırt edebilme özelliği solid organ nakillerinde hastaya dezavantaj sağlamaktadır. Çünkü, nakledilen organlarda eksprese edilen HLA ve beraberindeki moleküller hasta immün sistemi tarafından tanınmakta hücreyel yolla ve humoral yolla grafte zarar vermektedir. (53).

Humoral yolun aktivasyonu sonucu oluşan antikorlar birçok farklı efektör fonksiyonlar aracılığıyla graft hasarı ve graft kaybına sebep olur. Bu AMR olarak bilinir. AMR graft disfonksiyonunun nedeni olarak ortaya çıkar ve güncel tedavilere cevapsızlık oluşur. Antikorlardan kaynaklı rejeksiyon hiperakut, akut ve kronik şekilde olabilmektedir. Hiperakut rejeksiyon hastanın donör greftine karşı yüksek titrede var olan donöre spesifik antikorlardan kaynaklanır ve hızlı bir şekilde graft kaybına sebep olmaktadır. Akut rejeksiyon, birkaç gün içerisinde gerçekleşir ve önceden donöre spesifik olan tespit edilemeyen ve nakil sonrası oluşan DNDSA aracılı olmaktadır. Bunu yanında biyopside genellikle endotelial hücre büyümesi, glomerul ve peritübüler kapillere nötrofil infiltrasyonu ve CD4 T hücre gelişimi ile karakterizedir. Nakil sonrası dönemde de graft HLA antijenlerine spesifik antikor gelişebilir. Böyle bir durumda kronik rejeksiyon riskinin arttığı çalışmalarda gösterilmiştir. Kronik rejeksiyonda ise glomerüler mezengiyal genişleme, kapiller duplikasyonu ve ayrılması, intersitisyel fibröz/tübüler atrofi ve arterde kalınlaşma ile karakterizedir (54).

Anti-HLA antikorlarının varlığı iki tip reaksiyonla sonlanmaktadır. Ya C1q kompleman proteini aracılığıyla kompleman yolağının aktive olması yada antikorun Fc bölgesine spesifik reseptör taşıyan hücrelerin salgıladıkları moleküller aracılığıyla

graftın haraplanmaktadır. Nakil sonrası dönemde DNDSA gelişen hastaların küçük bir grubunda rejeksiyonun klinik ve patolojik bulguları saptanmamaktadır. Bu durum akomidasyon olarak adlandırılır. Genel düşünce rejeksiyon açısından bu sessiz evrenin daha sonraki dönemlerde alevlenerek alloimmün reaksiyonların başlayacağı yönündedir (63).

Dünyada böbrek nakli bekleme listesindeki adayların %30'undan fazlası HLA antikorlarına sahiptir (65). Böbrek nakli olan SDBY hastalarının %8-25'inde nakilden sonra DNDSA gelişir. Nakil öncesi duyarlılaşmış hastaların yarısı ve de novo DSA'lı hastaların 1/3'ü nakilden sonraki ilk bir yıl içinde AMR gelişebilir. Donör HLA antijenlerine karşı antikor cevapları güncel immunsupresif rejimlerle kontrol edilemez. Böylece AMR herhangi bir zamanda oluşabilir (40). Wiebe ve arkadaşları yaptığı çalışmada nakil öncesi PRA'sı negatif olan 315 böbrek nakli hastasının 4,6±3 yıl izleminde %15'inde nakil sonrası oluşan de novo anti-HLA antikoruna saptamıştır. De novo DSA pozitif olan hastalarda ortalama 10 yıllık böbrek sağ kalımı oranı daha düşük olduğu belirtilmiştir. Saito ve arkadaşlarının bir çalışmasında hasta ve verici arasında crossmatch testi yapılmış ve negatif çıkanlara PRA testi çalışılmış, bu hastaların nakil öncesi dönemde %20'si anti-HLA antikoruna saptanmıştır (66). Pirm ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise 444 alloimmünizasyon öyküsü olan kadın hastanın PRA sonuçları incelenmiş, bu hastaların %50,5'inde PRA-I pozitif, %42,6'sında PRA-II pozitif, %40,8'inde hem PRA-I hem de PRA-II pozitif olarak saptamışlardır (67). Bizim çalışmamızda XM sonuçları negatif olan hasta ve donör çiftleri nakil öncesi ve nakil sonrası PRA'larına bakıldı. Nakil öncesi dönemde hastaların %12'sinin (n=3) PRA pozitifliği bulunurken, nakil sonrası dönemde bu oran %20'dir (n=5). Nakil öncesi dönemde PRA Sınıf-I pozitifliği %8 (n=2), PRA Sınıf-II pozitifliği %4 (n=1)'dir. Hastaların nakil sonrası PRA Sınıf-I pozitifliği %12 (n=3), PRA Sınıf-II pozitifliği ise %16 (n=4) olarak tespit edilmiştir. Bu hastaların PRA testini nakil öncesi ve sonrası olarak kıyaslandığında nakil öncesi dönemde olmayan ancak nakil sonrası dönemde tespit edilen anti-HLA antikoruna PRA Sınıf-I'de %4 (n=1), PRA Sınıf-II'de %12 (n=3) olarak tespit edildi. Nakil öncesi dönemde PRA pozitifliği görülen hastaların tamamında nakil sonrası dönemde de aynı antikorların varlığına saptandı.

Hasta grubumuza baktığımızda %28 (n=7)'nin erken dönem PRA sonuçları değerlendirildiğinde nakil öncesi ile PRA pozitiflik oranlarının aynı olduğu görüldü. H20 ve H22 numaralı hastalarda gözlemlenen bu pozitifliklerin MFI değerleri arasında da önemli bir fark bulunmamıştır (Şekil 19,20). Ancak uzun dönemde PRA çalışılan hastalarda antikor gelişen hasta ve antikor oranlarında artış olduğu görülmüştür.

Dünyada birçok transplantasyon merkezinde olduğu gibi ülkemizde de nakil öncesinde donör ve alıcıya HLA-A, B ve DRB1 tiplemesi yapılmaktadır. Ancak son dönemde yapılan çalışmalarda HLA-C, DRB3, DRB4, DRB5 ve DQ tiplemesinin de önemi üzerinde durulmaktadır. Nakil sonrası dönemde de en fazla sınıf I antikor olarak, anti-HLA-A antikorlarının ve sınıf II antikorlardan da anti-HLA-DQ antikorların oluştuğunu saptayan çalışmalar yayınlanmaktadır. HLA-A tiplemesi standart çalışmalarda yapıldığından tez çalışmasında hasta ve donörlere, HLA-DQ tiplemesini de ekleyerek nakil sonrası dönemde oluşan antikorların DSA özelliğini inceledik. Bu kapsamda toplam 50 kişinin (25 hasta-donör çifti) HLA-DQA ve HLA-DQB tiplemesi yapıldı ve en fazla DQA*01, DQA*05, DQB*03, DQB*06 rastlanmıştır. Türk popülasyonunda DQA*01, DQA*05, DQB*03 ve DQB*06 en çok rastlanan allel gruplarıdır (68). Bizim çalışmamızdaki DQA ve DQB allelerinin literatür ile uyumlu olduğu görülmektedir.

Hasta ve kadavra donörleri arasındaki HLA-DQA ve HLA-DQB uyumlarına bakıldığında %12'sinde (n=3) tam uyum saptandı. Bu hastaların nakil öncesi dönemde PRA pozitifliği gözlemlenmezken, nakil sonrası dönemde %33,3'ünde (n=1) PRA Sınıf-II'de HLA-DR'ye bağlı bir pozitiflik olduğu saptandı. Geri kalan 2 hastada ise herhangi bir PRA pozitifliği gözlemlenmemiştir.

Hastaların %92'si nakil öncesi dönemde hemodiyalize girerken %8'i peritondiyalize girmiştir. Rejeksiyon öyküsü yaşayan bir hasta olmuş, o da hemodiyaliz grubuna dönmüştür. Nakil öncesinde alınan diyaliz tedavisinin tipinin nakil sonrasında greft ömrü üzerindeki etkisi ile alakalı çalışmalar yapılmış ve diyaliz tipinin etkisinin olmadığı belirtilmiştir (55).

Kan transfüzyonu, gebelik ve transplantasyon öyküsü alloimmünizasyonu oluşturan etkenlerdir. Alloimmünizasyon ise solid organ transplantasyonlarında

greftin sağkalımı oranıyla ilişkilidir ve bununla alakalı birçok çalışma yapılmıştır. Pirim ve arkadaşları gebelerin anti-HLA antikor üretme yüzdelerine göre araştırmışlar, %54'ünün panel reaktif antikor tarama sonucu pozitif olarak değerlendirilmiştir (38). Bu çalışmadaki hastaların %20'sinin (n=5) daha önce nakil geçmişi varken, %92'sinin (n=23) kan transfüzyonu öyküsü, %28'inin de (n=7) gebelik öyküsü olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda nakil öncesi ve/veya sonrası, PRA pozitifliği olan hastaların ikisi kan transfüzyonuna, ikisi kan transfüzyonu ve nakil, bir tanesi de kan transfüzyonu ile gebelik öyküsüne sahipti.

Böbrek nakillerinde, hastada grefte karşı herhangi bir anti-HLA antikorunun olup olmadığının tespiti yapılmaktadır. McClelland ve Terasaki tarafından geliştirilen lenfositotoksinite çapraz uyuma CDCXM yöntemi, alıcı HLA'larına karşı DSA'ların hassas olarak saptanması için kullanılmaktadır (40). DSA alt sınıfı ve CDCXM sonuçları her zaman birbiriyle ilişkili değildir. Bu yüzden boncuk yöntemi ile geliştirilen PRA testi ek olarak çalışılmaktadır.

DNDSA'lar böbrek sağ kalımı ile yakından ilişkilidir. Raymond ve arkadaşları nakil öncesi PRA negatif olan 245 böbrek nakli olan hastada yapılan çalışmada transplantasyon sonrası 1, 4 ve 12. aylarda oluşan DNDSA'ları incelemişlerdir. 1. ay sonunda %8,2, 4. Ayda %8,5 ve 1.yılın sonunda %8,2 DNDSA oluşumu gözlemlenmiş ve bunların %2,4'ü HLA Sınıf-I, %6,5 ise HLA Sınıf II olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda DNDSA oluşan hastalarda rejeksiyon riski daha yüksek olduğu saptanmıştır (56). Bizim çalışmamızda nakil sonrası erken dönemde DNDSA oluşumunda değişiklik olmazken, geç dönemde 5. ayda de novo PRA DNDSA olmayan anti HLA antikorları gelişmiştir. Geç dönem grubundaki hastaların %11,1'inde (n=2), sınıf II de novo anti-HLA antikorları gelişmiştir. Sınıf I DNDSA ve sınıf II de novo anti-HLA antikorları gelişen bir hasta rejeksiyon nedeniyle böbreğini kaybetmiştir (Tablo 9).

Lim WH. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada böbrek nakli için 788 kadavra donörü ve hastadan HLA-DQ uyumu olmayanlar ve bir veya iki HLA-DQ uyumu olanlar olarak iki grupta araştırma yapılmıştır. HLA-DQ uyumu olmayan nakiller ile bir veya iki HLA-DQ uyumlu olan böbrek nakillerine, rejeksiyon riskinin daha fazla olduğunu saptamışlardır (58). Birkaç çalışma, HLA-DQ eşleşmesinin allograft sağ

kalım üzerine etkisini ele almıştır. Bushell ve arkadaşlarının küçük bir HLA-DR eşleşmiş ve bulunan 62 hastadan oluşan bir kohort çalışmasında 25 HLA-DQ uyuşmayan hastayı karşılaştırmış, sonucu bağımsız bularak HLA-DQ uyumunun graft sağkalımı ile arasında etkisi olmadığı kanaatine varmıştır (59). Ancak bu rapor ile çelişkili başka bir HLA-DQ çalışması ise Hsia ve meslektaşları tarafından yapılmıştır. 63 hastanın sonuçlarını kıyaslayarak ve HLA-DQ uyumunun sağ kalıma fayda sağladığını bulmuşlardır (60). En büyük çalışma 1997'de Freedman ve arkadaşları tarafından yürütülmüştür (61). Serolojik olarak tiplendirilmiş 12.050 kadavra nakli sonuçları analiz edilmiştir. Bağımsız HLA-DQ uyuşmazlığının hiçbir etkisi bulunamamıştır. Bununla birlikte, HLA-DR uyuşmazlığı da dahil olmak üzere, kötü sonuç ile ilişkili olduğu bilinen diğer faktörlere göre ayarlandığında, HLA-DQ lokusunda bağımsız eşlemenin genel bir yararı olmadığını belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda hasta ve kadavra donörleri arasındaki HLA-DQA ve HLA-DQB uyumlarına bakıldığında %12'sinde (n=3) tam uyum saptandı. Bu hastaların nakil öncesi dönemde PRA pozitifliği gözlemlenmezken, nakil sonrası dönemde %33,3'ünde (n=1) PRA Sınıf-II'de HLA-DR'ye bağlı bir pozitiflik olduğu saptandı. Geri kalan 2 hastada ise herhangi bir PRA pozitifliği gözlemlenmedi. Bizim çalışmamızda de novo anti-HLA sınıf II antikoru gelişen 3 hastadan 2'sinde anti-HLA DQ antikoru gelişmiştir.

De-novo DQ-DSA'nın rolünü belirlemek için Lee H. ve arkadaşlarının transplantasyondan önce 155 hasta üzerinde bir çalışma yapmışlardır (62). DSA sonuçlarına göre Yalnızca DQ, non-DQ, DQ olmayan ve DSA olmayan olmak üzere 4 grup halinde sınıflandırmışlardır. Toplam hasta grubunda de novo DSA 79 (% 30.0) hastada pozitif ve DQ-DSA (% 64.6) en sık olduğu görülmüştür. Nonsensitize alt grupta, 45 (% 29.0) hastada de novo DSA tespit edilmiş ve DQ-DSA en yaygın olarak belirtilmiştir. (% 73.3). AMR genel insidansı% 17.9 olan çalışmalarında B-DSA, DR-DSA ve DQ-DSA AMR ile ilişkili ancak, kronik AMR için yapılan analizde, hem toplam hem de duyarsızlaştırılmış alt grupta yalnızca DQ-DSA önem gösterdiğini bulmuşlardır. Bu bulgular, hastalığa yakalanmayan hastalarda DQ-DSA'nın saptanmasının, kronik AMR ve geç allograft başarısızlığının gelişimi ile anlamlı derecede ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Çalışma, böbrek naklinde immünolojik riskin tanımlanmasında HLA-DQ yazımı ve eşleştirmenin önemini vurgulamaktadır.

Bizim hastalarımızda ise nakil öncesi dönemde PRA Sınıf-II'ye bakıldığında hastaların %4'ünde (n=1) HLA-DQ pozitifliği gözlemlendi. Nakil sonrası dönemde de aynı antikorla karşılaşılmıştır. Nakil öncesi dönemde PRA sonuçları negatif olup nakil sonrası dönemde de novo anti-HLA-DQ oluşumu %8,3 (n=2) olarak tespit edildi. Bu hastaların kadavra ile arasındaki HLA-DQ uyumuna bakıldığında ise H-6'da 1DQA,1DQB, H7'de ise 1DQA, 2DQB uyumu olduğu görüldü ve donöre özgü bir anti-HLA-DQ antikor oluşumu tespit edildi.

Böbrek nakillerinde hasta ile donör arasındaki HLA doku tipi uyumu büyük önem taşımaktadır. Bizim çalışmamızda en fazla uyum 1A,1B,1C,1DR,1DQA,1DQB'dir (H22). Bu hastanın daha önceden 1 nakil öyküsü, 1 abortusu ve 3 kan transfüzyonu vardır ve nakil öncesi dönemde PRA Sınıf-I pozitif saptanmıştır. Ancak nakil sonrası dönemde, nakil öncesi dönemde gözlemlenen antikorlar dışında herhangi bir anti-HLA antikor gözlemlenmemiştir.

6 SONUÇ VE ÖNERİLER

Nakil sonrası dönemde anti-HLA antikor oluşumu, de novo DSA oluşumu, HLA-DQ uyumu ve anti HLA-DQ antikor oluşumunun böbrek sağ kalımındaki önemi hakkında birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda özellikle de novo DSA ve non-DSA oluşumunun organ reddiyle arasında beklendiği gibi anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Bizim çalışmamız da bunu desteklemektedir. Ayrıca, yapılan çalışmalarda HLA-DQ uyumu ve anti HLA-DQ araştırmaları anlamlı sonuç vermiş fakat HLA-DQ araştırmaları HLA-DQB ile sınırlandırılmıştır. Bizim çalışmamız da dünyada ilk defa hasta ve kadavra donör arasındaki DQA ve DQB uyumları ayrı ayrı bakılmıştır. Anti HLA antikorlarının tespiti için yapılan panel reaktif antikor tarama testlerinin sadece HLA-DQB'yi tespit etmesi HLA-DQA'yı tespit edememesi de novo DSA oluşumunda DQA'nın rolünü belirleyememizin sebebidir. Birçok farklı birimden yapılmış nakillerden elde edilen verilerle bir havuz oluşturulup hasta sayısı arttırılarak daha kapsamlı bir çalışmaya ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

ÖZET

Kadavradan Yapılan Böbrek Nakillerinde, Hasta-Verici Çiftlerinin HLA-DQ Uyumunun Saptanması ve Nakil Sonrası Dönemde De Novo Anti-HLA Antikorlarının Araştırılması

Böbrek nakli son dönem kronik böbrek yetmezliğinde kesin tedavi şeklidir. Böbrek nakillerinin başarısı için alıcı ve verici çiftlerinin arasındaki kan grubu ve HLA uyumu, DSA varlığı ve PRA pozitifliği önemlidir. Çalışmamızda Ocak 2014 -Eylül 2016 tarihleri arasında 25 hasta-kadavra vericisi çiftini kapsamaktadır. Alıcı-donor çiftlerinin HLA doku tiplemesi (HLA-A, B, C, DRB1, DQA1, DQB1) Luminex-SSO yöntemi yapılmıştır. Hastaların nakil öncesi, nakil sonrası dönemlerde oluşan anti-HLA antikorlarının Luminex-PRA yöntemi ile araştırılarak, sonuçların graft sağkalımı ile ilişkisi değerlendirilmiştir.

Nakil öncesi dönemde hastaların %12'sinde (n=3) PRA pozitifliği görülürken, nakil sonrası dönemde bu oran %20'ye (n=5) yükseldiği görüldü. Nakil sonrası dönemde PRA Sınıf-I'de %4 (n=1), PRA Sınıf-II'de %12 (n=3) DNDSA olmayan anti-HLA antikorları tespit edildi. Bir hastada DNDSA gelişmiştir. Bu antikorlar sınıf I DNDSA özelliğindedir. Bu hasta nakil sonrası beşinci ayda graftını kaybetmiştir.

Çalışmamızda hasta ve kadavra çiftlerinde en fazla görülen HLA-DQA, DQB allelleri sırasıyla DQA*01, DQB*03, DQA*05 ve DQB*06'dir. Nakil sonrası dönemde oluşan Sınıf-II de novo anti-HLA antikorlarının %66,6'sı (n=2) anti-HLA DQ olduğu görüldü. Her iki hastada fonksiyonel graftları ile yaşamlarını sürdürmektedir.

PRA pozitif ve negatif hasta gruplarının GFH değerleri karşılaştırıldığında iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişkiye saptanmamıştır. Hasta gruplarının uzun dönem takiplerinin yapılarak, anti-HLA antikorlarının graft üzerindeki etkisi izlenmesinin faydalı olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: Böbrek Nakli, De Novo Anti-HLA, DSA

ABSTRACT

Detection of HLA-DQ Compatibility of Recipient-Donor Couples in Renal Transplants From Deceased Donor and Investigation of De Novo Antibodies After Transplantation

Kidney transplantation is the certain treatment for end-stage chronic kidney failure. Blood group and HLA tissue type compatibility, DSA presence, and PRA positivity between recipient and donor are important for the success of kidney transplants. In this study, totally 25 recipient-deceased donor couples who applied to our laboratory in January 2014-September 2016 were included. HLA tissue typings of the couples (HLA-A,B,C,DRB1,DQA1,DQB1) were performed by Luminex-SSO method. Pre- and post-transplant anti-HLA antibodies were investigated by Luminex-PRA method and the association of the results with graft survival were assessed.

PRA positivity was found in 12% (n = 3) of the patients in the pre-transplant period, but it increased to 20% (n = 5) in post-transplant period. Non-DNDSA anti-HLA antibodies were detected in 4% (n = 1) of PRA Class-I and 12% (n = 3) of PRA Class-II post-transplantation period. One patient developed DNDSA. These antibodies are in class I DNDSA. This patient lost graft in the fifth month after transplantation.

The most common HLA-DQA and DQB alleles in our study were DQA * 01, DQB * 03, DQA * 05 and DQB * 06, respectively. In post-transplant period, 66.6% (n = 2) of Class-II de novo anti-HLA antibodies were anti-HLA DQ. Both patients continue their life with functional grafts.

When the GFR values of the PRA positive and negative patient groups were compared, no statistically significant relation was found between the two groups. We think that it will be useful to monitor the effect of anti-HLA antibodies on grafts by making long term follow-ups of patient groups.

Keywords: Kidney Transplantation, De Novo Anti-HLA, DSA

KAYNAKLAR

1. Cyganek A, Nowaczyk M, Sanko-Rosmer J et al. The effect of pregnancy on humoral rejection in patients after vascularized organ transplantation. *Journal of Reproductive immunology* 2015; 112:115-119.
2. Titiz Mİ. Renal Transplantasyona Pratik Yaklaşım. İstanbul, Bölüm 1: 2004;11-12.
3. Akoğlu E, Süleymanlar G. Kronik Böbrek Yetersizliği, Temel İç Hastalıkları, Ankara: Güneş Kitapevi, 1996;769-776.
4. Gülay H. Böbrek Nakline Hazırlık, *Aktüel Tıp Dergisi*, 1996;1:42.
5. Bray RA, Nickerson PW, Kerman RH, Gebel HM. Evolution of HLA antibody detection. *Immunologic Research* 2004; 29(1): 41-53.
6. Girardi G, Prohaszka Z, Bulla R, Tedesco F, Scherjon S. Complement activation in animal and human pregnancies as a model for immunological recognition. *Molecular Immunology* 2011; 48: 1621-1630.
7. Peakman M, Vergani D. Transplantation, *Basic and Clinical Immunology*, 1997;147-160.
8. Cetrulo CL Jr, Drijkoningen T, Sachs DH. Tolerance induction via mixed chimerism in vascularized composite allotransplantation: is it time for clinical application?. *Curr Opin Organ Transplant*. 2015 Dec;2016):602-7.
9. Stites DP, Terr AI, Parslow TG. *Clinical Transplantation, basic and Clinical Immunology*, Eighth edition, 1994;237-255.
10. Kahan BD, Ponticelli C. *Principles and Practice of Renal Transplantation*, 2001;41-80.
11. Çarın M. Transplantasyon İmmünolojisi, *Aktüel Tıp Dergisi*, 1996;1:33-37.

12. Bremier ME, Samuelson BE. The specific distribution of glycolipid-based blood group A antigens in human kidney related to A1/A2, lewis, and secretor status of single individuals. *Transplantation*, 1986;42:88.
 13. Actor JK. *Immunology and Microbiology* (2nd ed), Elsevier Saunders, Philadelphia, 2012: 33-38.
 14. Paul WE. *Fundamental Immunology* (6th ed), Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2008: 152-153.
 15. Zachary AA, Leffell MS. *Transplantation immunology, methods and protocols*, Second Ed. Humana Press 2014: 257-284.
 16. Ryan J, Fitzpatrick D, Susan L. Complement-Dependent Cytotoxicity Crossmatch. *Transplantation Immunology* 2013:257-283.
 17. Zeevi A, Girnita A, Duquesnoy R . HLA antibody analysis: sensitivity, specificity, and clinical significance in solid organ transplantation.. *Immunol Res.* 2006; 36(1-3):255-64.
-
18. Patel R, Terasaki PI. Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation. *N Engl J Med* 1969;280(14):735–739.
 19. Redondo-Pachón D, Pascual J, Pérez-Sáez MJ. Impact of preformed and de novo anti-HLA DP antibodies in renal allograft survival. *Transplant Immunology.* 2016;34:1–7.
 20. Cohen D, Colvin RB, Daha MR, Drachenberg CB, Haas M, Nickleit V, Salmon JE, Sis B, Zhao MH, Bruijn JA, Bajema IM. Pros and Cons for c4d as a Biomarker. *Kidney int.* 2012;81(7):628-639.
 21. Abbas AK, Lichtman A.H. *Cellular and Molecular Immunology*, Fifth Edition. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005:1-15.
 22. Roitt I, Brostoff J. Antibodies. In *Immunology* 6th edition, Spain Mosby , 2001, pp 65-85.
 23. Abbas AK, Lichtman AH. *Basic immunology: functions and disorders of the immune system.* 2nd ed. Philadelphia, PA: W.B Saunders Co, Updated edition 2006-2007.
 24. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity *Cell* 2006; 124: 783-80.

25. Fleisher TA. Immune Function. *Pediatrics in Review* 1997 ; 18 (10): 351-6.
26. Mills J. Stites DP, Terr AI, Parslow TG . Mechanisms of immunity to infection. *Medical Immunology*, ninth edition. Connecticut : Appleton and Lange, 1997 : 678-83.
27. Kuby J. Generation of B cell and T cell responses. *Immunology*, third edition.1997;555-571.
28. Hamid R. The cell as a bridge between innate and adaptive immune systems: implications for the kidney. *Kidney International*, 2002;61:1935-1946.
29. Goldsby RA, Kindt TJ, Kuby J, Osborne BA. *Immunology* (5th ed), W. H. Freeman & Company, 2002: 2-53.
30. Doan T, Melvold R, Viselli S, Waltenbaugh C. *İmmünoloji, Nobel Tıp Kitabevleri*, İstanbul, 2014: 11-13.
31. Marinaki S, Skalioti C, Boletis J .Glomerular Diseases and Renal Transplantation: Pathogenic Pathways and Evolution of Therapeutic Interventions. *Transplant Proc.* 2017 Mar
32. Banas B, Barat A, Mampaso F, De Lema GP. Introduction: The immune system. *Renal transplant Rejection. A Practical Guide.* 2007;9-17.
33. Charles AJ, Paul T, Mark W, Donald JC. The recognition of antigen. Fourth Edition New York, 1999; 79-163.
34. Abbas A.K, Lichtman A.H. *Cellular and Molecular Immunology Fifth Edition.* Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005;16-39.
35. Francis D.M.A, Dumble L.J, Bowes L, Clunie GJA, Macdonald IM. Adverse Influence of Recipient Lymphoid Resistance to In Vitro Immunosuppression on the Outcome of Kidney Transplants, Transplantation. 1988; 46: 853-857.
36. Holgersson SS. HLA-specific alloantibodies and renal graft outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 897-904. 12.
37. Zheng J. *Recent Advances in Research on the Human Placenta*, Intech, Rijeka, 2012: 211-232.

38. Pirim İ, Öncel G Z, Eyerci N, Eroğlu A; Validation of Anti-HLA Antibodies in Serum of Blood Transfused or Organ Transplanted Patients. *Eurasian J Med* 2007;39:181-184.
39. Kraal G, Mebius RE. High endothelial venules: lymphocyte traffic control and controlled traffic. *Adv Immunol* 1997; 65: 347-395.
40. Thomas KA, Valenzuela NM, Reed EF. The Perfect Storm: HLA Antibodies, Complement, FcγRs and Endothelium in Transplant Rejection. *Trends Mol Med*. 2015 May; 21(5): 319–329.
41. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Shimizu J, Yamazaki S, Sakihama T, Itoh M, Kuniyasu Y, Nomura T, Toda M, Takahashi T. Immunologic tolerance maintained by CD25+CD4+ regulatory T cells: their common role in controlling autoimmunity, tumor immunity and transplantation tolerance. *Immunological Review* 2001;182: 18-32.
42. Sakaguchi S. Regulatory T cells *Springer Semin Immunopathol* 2006; 28:1-2.
43. Trowsdale J, Campbell RD. The 12th International MHC map genetic diversity of HLA, 1997; 8.
44. Kubly J. Major histocompatibility complex. *Immunology* third edition, 1997; 224–240.
45. Abbas AK., Lichtman AH., Pober JS.: The Major histocompatibility complex. *Cellular and molecular immunology*, second edition, 1994; 104-114.
46. Stites DP, Terr AI., Parslow TG. Antigen presentation and The Major Histocompatibility Complex. *Basic and Clinical Immunology*, eighth edition. 1994;58-65.
47. Steven MGE, Peter P, Linda BD. *The HLA Facts Book*. Academic Press; 2000
48. Kelly AP, Monaco JJ, Cho S, Trowsdale JA. New human HLA class II locus, DM, 1991; 353571: -573.
49. Greenberg A. *Primer on Kidney Disease: Fourth Edition*, 2005; 444-445.
50. Danovitch GM. *Böbrek Nakli El Kitabı*. Tuncer Karpuzoğlu, çeviri editörü. Üçüncü baskı. Ankara: Güneş Kitapevi, 2003; pp.17-37.

51. Abbas AK, Lichtman AH. Temel İmmünoloji. İmmün Sistem İşlev ve Bozuklukları. Yıldız Camcıoğlu, Günnur Deniz, editörler. 1.baskı. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık; 2007; pp. 105-121.
52. Peakman M, Vergani D. The human leukocyte antigen. Basic And Clinical Immunology, 1997; 54-57
53. Montgomery RA, Cozzi E, West LC, Warren DS. Humoral immunity and antibody-mediated rejection in solid organ transplantation. Sem Immunol 23 2011; 224-234.
54. Correa RRm, Machoda JR, da Silva MV, Helmo FR, Guimaraes CSO, Rocha LP, Faleiros ACG and dos Reis MA. The importance of C4d in Biopsies of Kidney Transplant Recipients. Clin Dev Immunol 2013; 1-8.
55. Coronel F, Sanchez-Fructuoso A, conesa J, Prats D, Barrientos A, Pre-Transplant Treatment Modality and Renal Transplant Outcomes. Dial Transplant 2006; 35:1-4.
56. Raymond L. Nijim HA, Yvonne M. Desmarteau, Khamash H, Pando MJ, Maxwell L. Smith, Harini A. Chakkerla, Huskey J, Valdez R, Reddy KS. De Novo Donor-Specific Human Leukocyte Antigen Antibodies Early After Kidney Transplantation. Transplantation 2014;98: 1310-1315.
57. Wiebe C, Gibson IW, Blydt-Hansen TD, et al. Evolution and clinical pathologic correlations of de novo donor-specific HLA antibody post kidney transplant. Am J Transplant 2012; 12: 1157.
58. Lim WH, Chapman JR, Coates PT, Lewis JR, Russ GR, Watson N, Holdsworth R, Wong G. HLA-DQ Mismatches and Rejection in Kidney Transplant Recipients. Clin J Am Soc Nephrol. 2016 May 6;11(5):875-83.
59. Bushell A, Higgins RM, Wood KJ. HLA-DQ mismatches between donor and recipient in the presence of HLA-DR compatibility do not influence the function or outcome of renal transplants. Hum Immunol 1989; 26(3): 179.
60. Hsia S, Tong JY, Parris GL, et al. Molecular compatibility and renal graft survivalVthe HLA DRB1 genotyping. Transplantation 1993; 55(2): 395.
61. Freedman BI, Thacker LR, Heise ER, et al. HLA-DQ matching in cadaveric renal transplantation. Clin Transplant 1997; 11: 480.

62. Lee H, Min JW, Kim JII, Moon I, Park KH, Yang CW, Chung BH, Oh EJ. Clinical Significance of HLA-DQ Antibodies in the Development of Chronic Antibody-Mediated Rejection and Allograft Failure in Kidney Transplant Recipients. *Medicine* 1995;(11):e3094.
63. C. Gîngu, Ana Moise, Ileana Constantinescu, B. Şerbănescu, C. Surcel, I. Sinescu, Cytotoxic Antibodies Monitoring În Kidney Transplantation – Their Clinical Relevance And Challenges *Rom J Morphol Embryol* 2012, 53(3):515–519.
64. Everly, M.J. et al. (2013) Incidence and impact of de novo donor-specific alloantibody in primary renal allografts. *Transplantation* 95, 410–417.
65. Wiebe, C. et al. (2012) Evolution and clinical pathologic correlations of de novo donor-specific HLA antibody post kidney transplant. *Am. J. Transplant.* 12, 1157–1167.
66. Saito PK, Yamakawa RH, Aparecida EP, da Silva Júnior WV, Borelli SD, Impact of Pretransplant Panel-Reactive Antibody Level on Renal Graft Survival in Patients With a Negative Crossmatch and No Donor-Specific Antibody, 2014 Jun 13;9(6):e100270.
67. Prim I, Soyoz M, Ayna T, Kocyigit A, Gurbuz B, Tugmen C, Kurtulmus Y, Ozyilmaz B, De Novo Produced Anti-Human Leukocyte Antigen Antibodies Relation to Alloimmunity in Patients with Chronic Renal Failure, *Genetic Testing And Molecular Biomarker* 2015, 335-338.
68. http://www.allelefreqencies.net/hla6006a.asp?hla_locus_type=Classical&hla_locus=&hla_allele1=&hla_allele2=&hla_selection=&hla_pop_selection=&hla_population=1649&hla_country=&hla_dataset=&hla_region=&hla_ethnic=&hla_study=&hla_order=order_1&hla_sample_size_pattern=equal&hla_sample_size=&hla_sample_year_pattern=equal&hla_sample_year=&hla_level_pattern=equal&hla_level=&standard=a&hla_show=

ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında İzmir’de doğdum. İzmir Konak Hacı Şakir Eczacıbaşı İlköğretim Okulu ve İzmir İnönü Anadolu Lisesi’nde eğitimimi tamamladım. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Biyoloji Bölümü’nden mezun olduktan sonra, 2013 yılında İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Doku Tipleme Laboratuvarı’nda Transplantasyon İmmünolojisi çalışmaya başladım. 2014 yılında İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans’a başladım.