

**T.C.**  
**İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**TIBBİ BİYOLOJİ ve GENETİK ANABİLİM DALI**

**BÖBREK NAKLİ OLAN HASTALARDA NAKİL**  
**SONRASINDA OLUŞAN ANTI-HLA ANTİKORLARININ**  
**SAPTANMASI**

**ASLI ÖZKIZILCIK KOÇYİĞİT**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**PROF. DR. İBRAHİM PİRİM**

**2015-İZMİR**

**T.C.**  
**İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**TIBBİ BİYOLOJİ ve GENETİK ANABİLİM DALI**

**BÖBREK NAKLİ OLAN HASTALARDA NAKİL  
SONRASINDA OLUŞAN ANTI-HLA ANTİKORLARININ  
SAPTANMASI**

**ASLI ÖZKIZILCIK KOÇYİĞİT**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**PROF. DR. İBRAHİM PİRİM**

**Bu tez İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından 036 Proje numarası ile Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü ve Öğretim Üyesi Yetiştirme (ÖYP) Programı tarafından desteklenmiştir.**

**2015-İZMİR**

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

Tez Savunma Tarihi : 22 / 07 / 2015

Tez Danışmanı : .....  
Prof. Dr. İbrahim PİRİM İzmir Katip Çelebi Üniversitesi

Üye : .....  
Prof. Dr. Nurten ÖZÇELİK Süleyman Demirel Üniversitesi

Üye : .....  
Yrd. Doç. Dr. Tülay KILIÇASLAN AYNA

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

Bu çalışmam süresince her türlü yardım ve fedakârlığı sağlayan, bilgi ve tecrübeleriyle çalışmama ışık tutan, ayrıca bana bu çalışmayı vererek kendimi geliştirmemde büyük katkısı olan başta değerli danışman hocam Prof. Dr. İbrahim PİRİM'e ve değerli hocalarım Yrd. Doç. Dr. Tülay K. AYNA'ya ve Yrd. Doç. Dr. Mustafa SOYÖZ'e; İstatistik verilerimin analizinde yardımcı olan değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Bülent ÖZKAN'a; Test aşamasında teknik bilgilerinden yararlandığım değerli çalışma arkadaşım Halime KİRAZ'a; Tez yazım aşamasındaki her türlü yardımlarından ve manevi desteklerinden dolayı değerli dostlarım Burcu Çerçi GÜRBÜZ'e ve Burcu AKMAN'a; Bu tezi yazarken manevi desteklerini ve sabrını esirgemeyen değerli Doku Tipleme Ekibi'ne; Hasta takibinde yardımlarını esirgemeyen İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Organ Nakli Kliniği'nden Hülya hemşireye ve organ nakli ekibine sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

Her koşulda yanımda olan, sevgisini, desteğini ve sabrını esirgemeyen sevgili eşim Ali KOÇYİĞİT'e, tezimde kullandığım birçok bilgiye ulaşmamda büyük katkıları olan canım kardeşim Asya Özkızılcık'a ve manevi desteklerinden dolayı Annem'e ve Babam'a sevgilerimi ve saygılarımı sunarım...

# İÇİNDEKİLER

|  |           |
|--|-----------|
| Kabul ve Onay.....   | ii        |
| Önsöz.....   | iii       |
| İçindekiler.....   | iv        |
| Simgeler ve Kısaltmalar Dizini.....                        | vi        |
| Şekiller Dizini.....                                       | viii      |
| Tablolar Dizini.....                                       | x         |
| <b>1 GİRİŞ.....</b>  | <b>1</b>  |
| <b>2 GENEL BİLGİ.....</b>                                  | <b>2</b>  |
| 2.1 Kronik Böbrek Yetmezliği.....                          | 2         |
| 2.2 İnsan Lökosit Antjeni (HLA) Sistemi.....               | 2         |
| 2.2.1 HLA Sınıf I Molekülleri.....                         | 3         |
| 2.2.2 HLA Sınıf II Molekülleri.....                        | 4         |
| 2.3 İmmün Sistem Hücreleri.....                            | 5         |
| 2.3.1 B Hücreleri.....                                     | 5         |
| 2.3.2 T Hücreleri.....                                     | 5         |
| 2.3.3 Doğal Öldürücü Hücreler (NK Hücreleri).....          | 6         |
| 2.4 Anti-HLA Antikorları.....                              | 7         |
| 2.5 Greft Rejeksiyonu.....                                 | 8         |
| 2.5.1 Transplantasyonda Antijen Sunumu.....                | 9         |
| 2.5.1.1 Direkt Sunum.....                                  | 10        |
| 2.5.1.2 İndirekt ve Yarı-indirekt Sunum.....               | 10        |
| 2.6 Renal Transplantasyonda İmmünolojik Değerlendirme..... | 11        |
| 2.6.1 Nakil Öncesi Değerlendirme.....                      | 11        |
| 2.6.1.1 Çaprazlama (crossmatch) Testleri.....              | 12        |
| 2.6.1.2 PRA Testleri.....                                  | 13        |
| 2.6.1.3 HLA Doku Tipleme Test Yöntemleri.....              | 14        |
| 2.6.2 Nakil sonrası Değerlendirme.....                     | 15        |
| 2.7 Rejeksiyon Tipleri.....                                | 17        |
| 2.7.1 Antikor Aracılı Rejeksiyon.....                      | 17        |
| 2.7.1.1 Hiperakut Rejeksiyon.....                          | 17        |
| 2.7.1.2 Akut Antikor Aracılı Rejeksiyon.....               | 17        |
| 2.7.2 T-hücre Aracılı Rejeksiyon.....                      | 18        |
| 2.7.3 Vasküler Rejeksiyon.....                             | 18        |
| 2.7.4 Geç Akut Rejeksiyon.....                             | 19        |
| 2.7.5 Kronik Rejeksiyon.....                               | 19        |
| 2.7.6 İmmünsüpresörlerin Özellikleri ve Etki Yerleri.....  | 20        |
| <b>3 GEREÇ ve YÖNTEM.....</b>                              | <b>21</b> |
| 3.1 Hastalar.....  | 21        |
| 3.2 Yöntem.....  | 21        |
| 3.2.1 Flow PRA Tarama Yöntemi.....                         | 21        |
| 3.2.2 Flow PRA Class I-II Tanımlama Yöntemi.....           | 23        |
| 3.2.3 Luminex PRA Tanımlama Yöntemi.....                   | 24        |

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| 3.2.4    | Glomerüler Filtrasyon Hızı (GFH)'nin Hesaplanması..... | 24        |
| 3.2.5    | İstatistiksel Analiz.....                              | 25        |
| <b>4</b> | <b>BULGULAR</b> .....                                  | <b>26</b> |
| <b>5</b> | <b>TARTIŞMA</b> .....                                  | <b>49</b> |
|          | <b>ÖZET</b> .....                                      | <b>57</b> |
|          | <b>ABSTRACT</b> .....                                  | <b>58</b> |
|          | <b>KAYNAKLAR</b> .....                                 | <b>59</b> |
|          | <b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....                                  | <b>63</b> |

## Simgeler ve Kısaltmalar Dizini

AAR: Antikor aracılı rejeksiyon

ADCC: Antikor bağımlı hücre aracılı sitotoksisite

$\alpha$ : Alfa

aMDRD: Renal hastalıklarda 4 değişkenli kısaltılmış diyet modifikasyonu

ASH: Antijen sunan hücre

AT1: Anjiyotensin II tip 1 reseptörü

ATG: anti-timosit globulin

$\beta$ : Beta

BCR: B hücre reseptörü

CCL2: Kemokin ligand 2

CDCXM: Komplemana bağımlı sitotoksik çaprazlama testi

df: degree of freedom

DH: Dendritik hücre

dk: dakika

DTT: Ditiyotritol

ER: Endoplazmik Retikulum

F: F testi (ANOVA)

Fab: Antijen bağlayan fragment

Fc: Sabit fragment

FCXM: Flow sitometrik çaprazlama testi

FITC: Floresan izotiyosiyanat

GFH: Glomerüler filtrasyon hızı

HLA: İnsan Lökosit Antijeni

IFN- $\gamma$ : İnterferon gama

Ig: İmmünoglobulin

IL-1: İnterlökin 1

IL-2: İnterlökin 2

IL-6: İnterlökin 6

kDa: kilo dalton

## Simgeler ve Kısaltmalar Dizini (devam)

Lum-DSA: Luminex donöre spesifik antikor

m<sup>2</sup>: metrekare

MHC: Majör histokompatibilite kompleksi

ml: mililitre

mTOR: memeli rapamisin hedefi

NK: Doğal öldürücü hücre

non-DSA: Donöre spesifik olmayan antikor

p: olasılık değeri (anlamlılık)

PRA: Panel reaktif antikor

PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu

SSOP: Sekans spesifik oligonükleotit prob

SSP: Sekans spesifik primer

Tc: Sitotoksik T hücresi

TCR: T hücre reseptörü

T<sub>H</sub>: Yardımcı T hücre



## Şekiller Dizini

|                 |   |    |
|-----------------|---|----|
| <b>Şekil 1</b>  | MHC gen bölgesi .....   | 3  |
| <b>Şekil 2</b>  | HLA sınıf I ve II moleküllerinin yapısı. ....   | 4  |
| <b>Şekil 3</b>  | İmmünooglobulin yapısı .....  | 8  |
| <b>Şekil 4</b>  | Böbrek transplantasyonu sonrasında oluşan immün yanıt evreleri. ....  | 9  |
| <b>Şekil 5</b>  | Direkt sunum.....   | 10 |
| <b>Şekil 6</b>  | İndirekt sunum .....  | 11 |
| <b>Şekil 7</b>  | Donör tiplerinin dağılımı .....   | 26 |
| <b>Şekil 8</b>  | Sınıf I pozitif PRA hastaların pozitif bulunduğu nakil sonrası sürenin karşılaştırılması .....  | 36 |
| <b>Şekil 9</b>  | Sınıf II pozitif PRA hastaların pozitif bulunduğu nakil sonrası sürenin karşılaştırılması .....   | 38 |
| <b>Şekil 10</b> | Hastanın HLA doku tipi ile donörün doku tipinin lokus temelinde oranları .....  | 40 |
| <b>Şekil 11</b> | Kadavradan nakil olan hasta grubundaki (n=13) post-tx süre ile HLA doku uyumlarının kreatinin değerleriyle ilişkisi .....                                   | 40 |
| <b>Şekil 12</b> | Annesinden nakil olan hasta grubundaki (n=4) post-tx süre ile HLA doku uyumlarının kreatinin değerleriyle ilişkisi .....                                    | 41 |
| <b>Şekil 13</b> | Babasından nakil olan hasta grubundaki (n=4) post-tx süre ile HLA doku uyumlarının kreatinin değerleriyle ilişkisi .....                                    | 41 |
| <b>Şekil 14</b> | Kardeşinden nakil olan hasta grubundaki (n=5) post-tx süre ile HLA doku uyumlarının kreatinin değerleriyle ilişkisi .....                                   | 42 |
| <b>Şekil 15</b> | Eşinden nakil olan hasta grubundaki (n=2) post-tx süre ile HLA doku uyumlarının kreatinin değerleriyle ilişkisi .....                                       | 42 |
| <b>Şekil 16</b> | Diğer donörden nakil olan hasta grubundaki (n=2) post-tx süre ile HLA doku uyumlarının kreatinin değerleriyle ilişkisi .....                                | 43 |
| <b>Şekil 17</b> | Kadavra donörden nakil olan hasta grubunda donör ve hasta yaşlarının kreatinin seviyeleri üzerindeki etkisiyle HLA doku uyumunun ilişkilendirilmesi ....    | 43 |
| <b>Şekil 18</b> | Annesinden nakil olan hasta grubunda donör ve hasta yaşlarının kreatinin seviyeleri üzerindeki etkisiyle HLA doku uyumunun ilişkilendirilmesi .....         | 44 |
| <b>Şekil 19</b> | Babasından donörden nakil olan hasta grubunda donör ve hasta yaşlarının kreatinin seviyeleri üzerindeki etkisiyle HLA doku uyumunun ilişkilendirilmesi .... | 44 |
| <b>Şekil 20</b> | Kardeşinden nakil olan hasta grubunda donör ve hasta yaşlarının kreatinin seviyeleri üzerindeki etkisiyle HLA doku uyumunun ilişkilendirilmesi ....         | 45 |
| <b>Şekil 21</b> | Eşinden nakil olan hasta grubunda donör ve hasta yaşlarının kreatinin seviyeleri üzerindeki etkisiyle HLA doku uyumunun ilişkilendirilmesi .....            | 45 |
| <b>Şekil 22</b> | Diğer donörden nakil olan hasta grubunda donör ve hasta yaşlarının kreatinin seviyeleri üzerindeki etkisiyle HLA doku uyumunun ilişkilendirilmesi ....      | 46 |
| <b>Şekil 23</b> | Yaş aralıklarına göre GFH ve kreatinin değerlerinin dağılımı. ....  | 47 |

## Şekiller Dizini (devam)

|  |    |
|--|----|
| <b>Şekil 24</b> Kadavra ve canlı donörlerden nakil olan hastaların ortalama kreatinlerinin karşılaştırılması ..... | 48 |
|--|----|

## Tablolar Dizini

|                |   |    |
|----------------|---|----|
| <b>Tablo 1</b> | Flow sitometri PRA testi için eşik değerinin belirlenmesi .....               | 22 |
| <b>Tablo 2</b> | Hasta ve donörlerinin demografik özellikleri .....                            | 26 |
| <b>Tablo 3</b> | Hastaların nakil öncesi alloimmünizasyon bilgileri.....                       | 27 |
| <b>Tablo 4</b> | Hastaların nakil sonrası PRA testi sonuçları ve klinik bilgileri.....         | 29 |
| <b>Tablo 5</b> | Luminex PRA testi ile teyit edilen hastaların sonuçları .....                 | 35 |
| <b>Tablo 6</b> | Hastaların kreatinin değerleriyle donör yaşlarının istatistiksel analizi .... | 46 |
| <b>Tablo 7</b> | Hastaların yaş aralıkları ile GFH ortalamaları arasındaki ilişki .....        | 47 |
| <b>Tablo 8</b> | Hastaların ortalama GFH ile kreatinin değerlerinin karşılaştırılması.....     | 48 |

# 1 GİRİŞ

Anti-İnsan Lökosit Antijenleri (anti-HLA) antikorlarının renal transplantasyondaki önemi 40 yıldan fazladır bilinmektedir. Bu antikorlar hamilelik, kan transfüzyonu ve önceki nakillerle uyarılabilmektedir. Bu antikorların saptanması için önceleri komplemana bağımlı sitotoksikite testi kullanılırken artık günümüzde solid faz temelli teknikler geliştirilmiştir (1, 2).

Nakil sonrasında donöre spesifik olan anti-HLA antikorları HLA antijenlerine bağlanarak çeşitli yollarla greft hasarına ve kaybına yol açarlar. Bu yüzden, bu antikorların nakil öncesinde ve sonrasında hastanın durumunun değerlendirilmesi esnasında önemi çok büyüktür (3). Bu antikorların saptanması için komplemana bağımlı sitotoksik çaprazlama testinin (CDCXM) yanında flow sitometrik çaprazlama testleri (FCXM), Luminex donör spesifik antikor testi (Lum-DSA) ve Panel Reaktif Antikor (PRA) testleri gibi testler de kullanılmaktadır.

Yeni geliştirilen boncuk temelli teknikler daha duyarlı ve spesifik olarak belirtilmektedir. Günümüzde nakil öncesinde ve sonrasında PRA analizi için flow sitometrik PRA test kitleri ile hem anti-HLA antikor tarama hem de tanımlama testleri yapılabilmektedir. Bu testler boncuk sistemine dayanmaktadır ve analiz flow sitometri cihazında gerçekleşir.

Nakil sonrasında hastalarda hiperakut rejeksiyon, akut rejeksiyon, kronik rejeksiyon gibi rejeksiyon tipleri görülebilir. Steroidler, anti-proliferatif ajanlar, kalsinörin inhibitörleri, memeli rapamisin hedef (mTOR) inhibitörleri, poliklonal ve monoklonal antikorlar gibi immünsüpresör ilaçlar hastaların rejeksiyondan korunması ve greft fonksiyonunun devam ettirilmesi için kullanılmaktadır (4).

Bu çalışmada İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde kadavra veya canlı donörden böbrek nakli olan hastaların nakil sonrasındaki parametrelerinin immünolojik açıdan değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Elde edilen bulgular nakil sonrasında yaşanan rejeksiyonların engellenmesi yolunda yapılan çalışmalara ışık tutacaktır.

## 2 GENEL BİLGİ

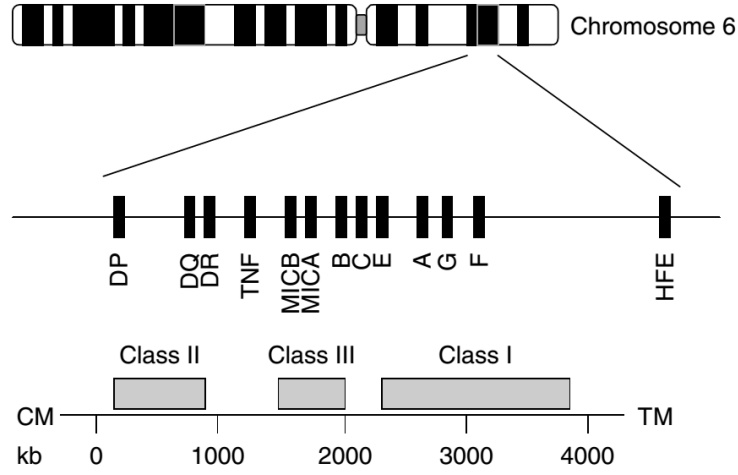
### 2.1 Kronik Böbrek Yetmezliği

Böbreklerin temel görevi vücudumuzdan atıkların ve fazla suyun atılmasını sağlamaktır. Kronik böbrek yetmezliği ise zaman içerisinde böbrek fonksiyonlarının kaybolmasıdır (5). Tıbbi olarak kronik böbrek yetmezliği, glomerüler filtrasyon hızının (GFH) azalması sonucu böbreğin sıvı-solüt dengesini ayarlama ve metabolik-endokrin fonksiyonlarında kronik ve ilerleyici bozulma hali olarak tanımlanabilir. Türk Nefroloji Derneği'nin 2015 verilerine göre diyaliz tedavisi gören hasta sayısı 80000-100000'dir. Kronik böbrek yetmezliği diyabetes mellitus, hipertansiyon, primer glomerülonefrit, renal arter darlığı, malignensi gibi birçok sebepten dolayı gelişebilir. Kan üre azotu ve kreatinin düzeyinin yükselmesi veya kreatinin klirensinin azalması ile böbrek yetmezliği tanısı konulabilmektedir. Bunların dışında çeşitli görüntüleme ve biyopsi teknikleri de tanıya yardımcı olmaktadır (6).

Renal arter darlığı, ekstraselüler sıvı hacminde azalma, kalp yetmezliği, üriner tıkanma, reflü, infeksiyon, kontrolsüz kan basıncı yüksekliği, nefrotoksik maddelerin kullanımı, hiperürisemi, hiperkalsemi, hipokalemi gibi faktörler kronik böbrek yetmezliğinde böbrek fonksiyonlarının daha fazla bozulmasına yol açabilirler. Bunların düzeltilmesiyle böbrek fonksiyonlarında iyileşmeler gözlenebilir. Bundan dolayı bu faktörlerin varlığı araştırılmalıdır. Son dönem böbrek yetmezliği olan hastalara diyaliz tedavisi veya böbrek nakli yapılması gerekir (6).

### 2.2 İnsan Lökosit Antjeni (HLA) Sistemi

HLA sınıf I ve II lokusları 6. kromozomun kısa kolundaki yaklaşık 4000 kilobazlık Majör Histokompatibilite Kompleksi (MHC) gen bölgesinde yer almaktadır (Şekil 1). Bu lokusların yabancı organların rejeksiyonunda rol oynadığı bilinmektedir. Ayrıca oldukça polimorfik hücre yüzeyi molekülleri de yine bu bölgelerden kodlanmaktadır. Bu moleküller de antijen sunumunda rol oynamaktadır (7).



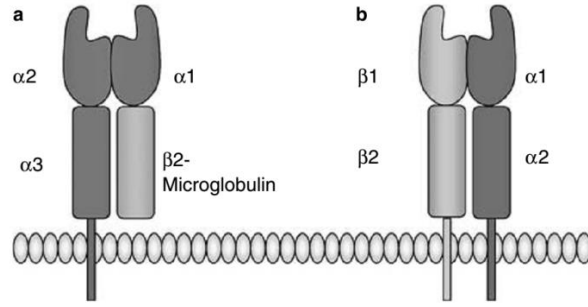
Şekil 1 MHC gen bölgesi (Cassinotti et al. (2009)(8)'dan alınmıştır).

### 2.2.1 HLA Sınıf I Molekülleri

MHC gen bölgesinde yer alan sınıf I HLA genleri tarafından kodlanan, çekirdekli hücrelerin yüzeyinde ifade edilen glikoproteinlerdir. HLA-A, HLA-B ve HLA-C antijenleri sınıf I HLA antijenleridir. Sınıf I HLA moleküllerinin en temel görevi peptit antijenlerini sitotoksik T hücrelerine ( $T_C$ ) sunmaktır (9). Bu peptit antijenleri endojen peptitlerdir, yani, hücre içinde sentezlenmiş olan proteinlerin parçalanmasıyla oluşmuş peptitlerdir. HLA sınıf I molekülleri 44 kDa büyüklüğünde olup üç ekstraselüler globüler domaine sahiptir.  $\alpha 1$  ve  $\alpha 2$  domainleri zincirin N-ucunda non-kovalent olarak bağlıdır ve burada peptid bağlama bölgesi oluştururlar. Bu esnada  $\alpha 3$  domaini de  $\beta 2$  mikroglobulin polipeptidi ile non-kovalent olarak etkileşimindedir. Bunun yanında transmembran ile sitoplazmik domainleri de  $\alpha$  zinciri oluşturur.  $\beta 2$ -mikroglobulin ise 12 kDa büyüklüğünde transmembran olmayan bir polipeptittir. Bu molekül sınıf I HLA molekülünün konformasyonel bütünlüğünü sağlamak amacıyla  $\alpha 3$  domaini ile non-kovalent olarak etkileşimindedir. Protein sentezinden hemen sonra endoplazmik retikulumda (ER) bu  $\beta 2$ -mikroglobulinin  $\alpha$ -zinciri ile etkileşimde olması bütün heterodimerin hücre yüzeyine taşınması için de önemlidir (10).

HLA sınıf I moleküllerinin çukur benzeri peptit bağlama bölgeleri oldukça küçüktür. Bu nedenle büyük doğal antijenleri tanıyamazlar. Bunun yerine antijenlerin

HLA çukuruna yerleşmeleri ve T hücrelerine sunulmaları için küçük peptitlere (8-10 aminoasit uzunluğunda) parçalanmaları gerekmektedir. Her bir HLA molekülü birçok yüksek afiniteli küçük peptide bağlanabilir ancak bir defasında sadece bir tanesine bağlanabilir (10) (Şekil 2).



**Şekil 2** HLA sınıf I ve II moleküllerinin yapısı (Cassinotti et al. (2009) (8)'dan modifiye edilmiştir).

### 2.2.2 HLA Sınıf II Molekülleri

HLA sınıf II molekülleri çoğunlukla antijen sunan hücrelerin (ASH) yüzeyinde bulunmaktadır. Bu moleküllerin bağlandığı peptitler ekzojen peptitlerdir yani fagositoz veya reseptör aracılı endositoz ile dışarıdan hücreye girmiş olan proteinlerin parçalanmasıyla oluşan peptitlerdir (10). HLA-DR, HLA-DP, HLA-DQ antijenleri sınıf II HLA antijenleridir.

HLA sınıf II molekülü benzer büyüklük ve yapıya sahip  $\alpha$  (24-32 kDa) ve  $\beta$  (29-31 kDa) zincirlerinden oluşan glikoproteinlerdir. Her iki zincir de N-uçlu ekstraselüler domain, bir immünoglobülin (Ig)-benzeri ekstraselüler domain, bir hidrofobik transmembran domaini ve bir kısa sitoplazmik kuyruk içermektedir. Peptit bağlanma bölgesi  $\alpha 1$  ve  $\beta 1$  domainlerinin N-uçlarından oluşur.  $\alpha 2$  ve  $\beta 2$  domainleri ise globüler yapıda olup peptit bağlanmada rol oynamazlar. HLA sınıf II peptit bağlanma çukuru sınıf I molekülündekine benzerdir. Ancak sınıf II molekülündeki uçlar açıktır. Bu sayede daha uzun peptitler (30 amino asite kadar) bağlanabilir. Yine de sınıf II molekülüne bağlanan peptitlerin çoğu 13-18 amino asit uzunluğundadır. Burada bağlanma peptit iskeleti ile HLA sınıf II amino asitlerinin yan zincirleri arasında hidrojen bağlarıyla gerçekleşir (10) (Şekil 2).

## **2.3 İmmün Sistem Hücreleri**

Lenfositler immün sistemin merkezi hücreleri olup edinsel immüniteden sorumludurlar. Lenfositler T hücreleri, B hücreleri ve doğal öldürücü (NK) hücreleri olmak üzere üç popülasyona bölünebilir (11).

### **2.3.1 B Hücreleri**

B lenfositler, ismini olgunlaştığı bölgeden almaktadır. Olgunlaşmasının büyük bir kısmı memelilerde kemik iliğinde gerçekleşmektedir. Olgun B hücreleri sentezlenmeleri ve membrana bağlı immünoglobülin molekülleri (antikor) görünümüleriyle diğer hücrelerden oldukça farklıdır. Bu moleküller antijenler için reseptör görevi görmektedir. Bunların dışında B hücre yüzeyinde sınıf II HLA molekülleri de ifade edilmektedir. Bu moleküller B hücrelerine antijen sunma fonksiyonu kazandırır (11).

Antijenle membrana bağlı antikor arasındaki etkileşimle birlikte T hücreleri ve makrofajlarla da etkileşime geçmesi B hücre klonlarının aktivasyonuna ve farklılaşmasına sebep olur. Bu süreçte, B hücre hızla bölünür ve 4-5 gün içerisinde farklılaşarak plazma ve hafıza hücre topluluğu oluşturur. B hücrelerinin en son farklılaşmış hali olan plazma hücreleri antikor sentezleyip salgılar. Plazma hücreleri en son farklılaşmış halidir ve 1 veya 2 hafta içerisinde çoğu ölür (11).

### **2.3.2 T Hücreleri**

T hücreleri isimlerini olgunlaştıkları yer olan Timustan alırlar. B lenfositleri gibi bu hücrelerin de antijenler için birçok reseptörü bulunur. Antijen bağlayıcı T-hücre reseptörü (TCR) yapısal olarak immünoglobülininden farklı olsa da immünoglobülinle benzer noktaları vardır. Özellikle de antijen bağlama bölgesi benzemektedir. B hücrelerin üzerindeki immünoglobülinlerden farklı olarak TCR'ler serbest antijenleri tanımazlar. Bunun yerine sadece kendi moleküllerinden bazılarına tutunmuş olan antijenleri tanırlar. Özellikle de çoğu sadece bu antijen MHC gen bölgesinden



kodlanan kendi molekülüne tutunduğunda tanınırlar. Bu antijenin tanınması için antijen sunan hücrelerin (ASH) veya virüsle enfekte hücrelerin, kanser hücrelerinin ve greftlerin yüzeyindeki HLA molekülleri ile birlikte olması gerekmektedir (11).

B hücreleri gibi T hücreleri de farklı membran molekülleri eksprese ederler. Bütün T hücre alt grupları TCR eksprese eder. Bu, CD3 içeren bir polipeptit kompleksidir. Yüzeyinde CD4 eksprese eden T hücreleri HLA sınıf II moleküllerine bağlı antijenlerini tanıyabilirken, CD8 eksprese edenler HLA sınıf I moleküllerine bağlı antijenleri tanıyabilir. Bunun yanında, T hücreleri CD4 veya CD8 eksprese etme yeteneklerine göre iki gruba ayrılırlar. CD4<sup>+</sup> T hücreleri genellikle yardımcı T hücre (T<sub>H</sub>) olarak görev alır. CD8<sup>+</sup> T hücreleri ise genellikle sitotoksik T hücre (T<sub>c</sub>) olarak görev alır. Normal bir insan periferel kanında CD4<sup>+</sup>:CD8<sup>+</sup> oranı 2:1'dir ancak immün yetmezlik, otoimmün hastalıkları ve diğer bozukluklarda bu oran değişebilir (11).

### **2.3.3 Doğal Öldürücü Hücreler (NK Hücreleri)**

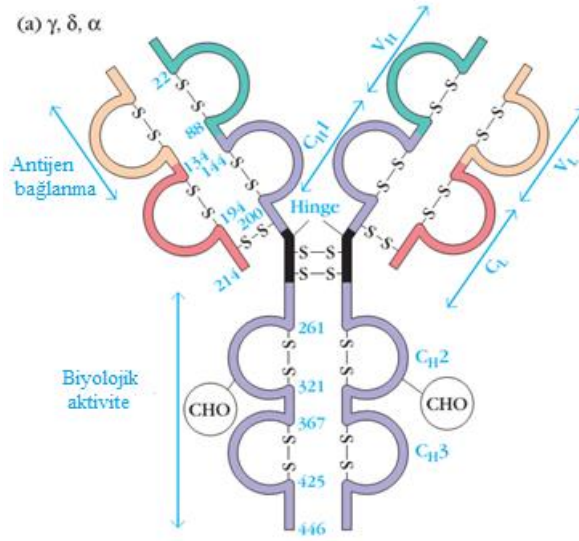
Bu hücreler insan periferel kanındaki lenfositlerin %5-10'unu oluşturmaktadır. NK hücreleri iki farklı yolla hedef hücreleri tanıyabilirler. Bazı durumlarda bir NK hücresi anormallikleri saptamak için NK hücre reseptörüne sahip olabilir (Ör: sınıf I HLA molekülünde azalma, virüslerle enfekte olmuş hücreler, bazı tümör hücrelerinde görülen anormal yüzey antijenleri gibi) (11).

Diğer yolda ise NK hücreleri potansiyel hedef hücreyi immün sistem tarafından tanınmış ve antitümör veya antiviral antikörlerin tutunduğu antijenleri taşıyan bazı tümör hücrelerini ve virüsle enfekte olmuş hücreleri tanımaktadır. NK hücreleri CD16 eksprese ettiğinden dolayı (IgG molekülünün karboksil ucu, Fc bölgesi için membran reseptörüdür) bu antikörlere tutunabilirler ve hedef hücreyi parçalayabilirler. Bu, antikor-bağımlı hücre aracılı sitotoksikite (ADCC) prosesi olarak bilinmektedir (11).

## 2.4 Anti-HLA Antikorları

Antikorlar, immüoglobülinler (Ig) adı da verilen yaklaşık 150-200 kDa büyüklüğündeki glikoproteinlerdir (Şekil 3). 4 polipeptit zincirden oluşur. Bunlardan iki tanesi diğerlerinden kütlece daha hafiftir. Bu yüzden ağır olanlara ağır zincir, diğerlerine de hafif zincir denir. İki hafif zincirin (yaklaşık 23 kDa) ve iki ağır zincirin (50-80 kDa) ikisi de birbirinin aynısıdır. Sabit bölgeler (constant, C bölgesi) kompleman aktivitesi gibi efektör fonksiyona sahipken, değişken bölgeler (variable, V bölgesi) antijen bağlanma bölgelerini içerirler. İki ağır zincir birbirine disülfid bağlarıyla bağlıdır ve her bir ağır zincir bir hafif zincire yine disülfid bağıyla bağlıdır. Ayrıca zincirlerin kendi içerisinde de disülfid bağları bulunur. Bunlar zincirler içinde domainlerin oluşmasına sebep olur. Molekülün ortasında bir menteşe kısmı bulunur. Antijen bağlanma bölgesi bulunan kolların rahat hareket etmesini sağlar. İmmüoglobülinler menteşe kısımlarından enzimlerce kesildiğinde iki fragment oluşur. Antijen bağlayan bölgeleri içeren fragmente antijen bağlayan fragment (Fab, 45 kDa), diğer kısma ise kristallenebilme özelliğinden dolayı kristallenebilir fragment (Fc, 55 kDa) denir. Fab kısmının antijen bağlama özelliği varken, Fc kısmının hücre yüzey reseptörlerine bağlanma gibi efektör fonksiyonları vardır. İmmüoglobülinlerin birçok çeşidi bulunmaktadır (IgA, IgD, IgE, IgM, IgG) (12).

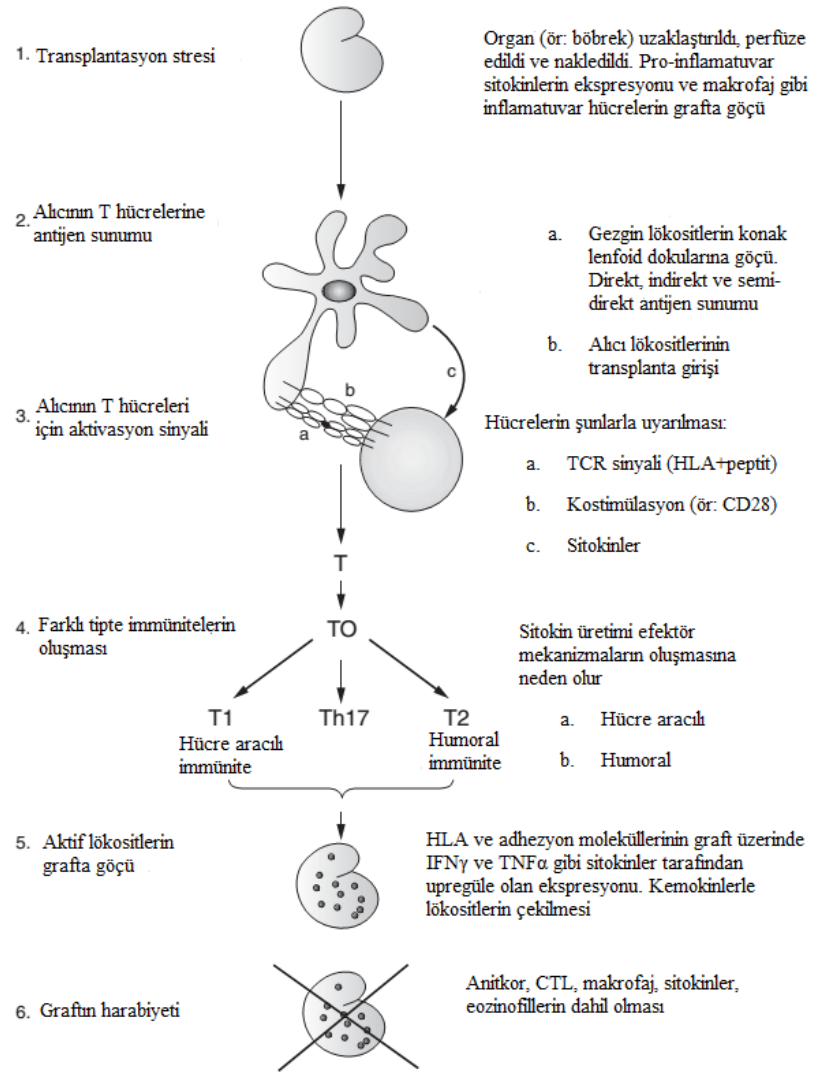
Anti-HLA antikorları IgG yapısındadır. Bunlar da kendi içerisinde  $\gamma$ -zincir dizisine göre ayrılıp serumdaki azalan konsantrasyonlarına göre numaralandırılarak 4 alt gruba ayrılırlar (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4). IgG1, IgG3 ve IgG4 plasentadan geçer ve gelişen fetüsü korumada önemli role sahiptirler. IgG3 en etkili kompleman aktivatörüyken IgG2 daha az etkilidir. IgG4 ise kompleman yolağını aktive edemez. IgG1 ve IgG3 fagositik hücrelerin yüzeyindeki Fc reseptörlerine yüksek afiniteyle bağlanırlar ve opsonizasyona aracılık ederler. IgG4'ün Fc reseptörleri orta derecede afinitesi bulunurken IgG2'nin çok az afinitesi bulunmaktadır (13).



Şekil 3 İmmüoglobulin yapısı (Goldsby et al. (2003) (13)'den alınmıştır).

## 2.5 Greft Rejeksiyonu

Çoğu vakada transplantasyon prosedürü genetik olarak farklı bir bireyden organın alınıp kullanılmasını içermektedir ve dolayısıyla alıcıda ve greftte bir tepki oluşmasına neden olmaktadır. Bu transplanta karşı oluşan tepki bir seri olayla gerçekleşmektedir. İlk olarak böbrek donörden alınır ve hastaya nakledilir. Bu stres pro-inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu ve makrofaj gibi inflamatuvar hücrelerin grefte göçünü tetikler. Bir sonraki basamak alıcının T hücrelerine antijen sunumudur. Hastanın T hücreleri TCR sinyali, kostimülasyon ve sitokinlerce uyarılır ve aktive olur. Bu basamaktan sonra hücre aracılı immünite ve humoral immünite olmak üzere iki türlü immün yanıt oluşur. Hücre aracılı immünitede immün sistem hücrelerinin aktivasyonu gerçekleşirken humoral immünitede B hücreleri aktive olur, farklılaşır ve antikor sentezi gerçekleşir. Aktif hale gelen hücreler ve antikorlar grefte göç ederek greft hasarına sebep olurlar (14) (Şekil 4).



**Şekil 4** Böbrek transplantasyonu sonrasında oluşan immün yanıt evreleri (Dallman MJ (2008) (14)'den modifiye edilmiştir).

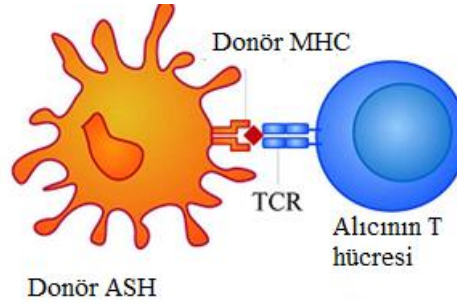
### 2.5.1 Transplantasyonda Antijen Sunumu

Allograft rejeksiyonundan sorumlu güçlü ve hızlı immün yanıt, MHC gen bölgesinden kodlanan antijenlerdeki (HLA antijenleri) allelik farklılıkların tanınmasından kaynaklanmaktadır. Bu yüzden allo-tanıma donör HLA antijenlerine karşı alıcıda immün cevap oluşması anlamına gelmektedir. Antijenler B ve T hücrelerine sunulduktan sonra bu hücreler aktive olurlar ve çoğalırlar. B hücreleri farklılaşarak antikor sentezi yaparken T hücreleri (CD4+ ve CD8+) de yardımcı veya

sitotoksik etki gösterirler. Antijen sunumları B ve T hücreleri için farklıdır. Hastada donör HLA moleküllerini tanıyan B-hücre reseptörü (BCR) bulunan B hücreleri vardır (15). B hücreleri BCR'leri aracılığıyla antijenle karşılaştığında bu antijeni hücre içine alır ve parçalar. Bu antijenin peptit parçalarını kendi yüzeyindeki HLA antijenleriyle T hücrelerine sunar. Bu şekilde aktive olan T hücrelerinin salgıladığı sitokinlerle B hücreleri aktive olur ve greftin üzerindeki donör HLA moleküllerine karşı antikor oluşturur (16). T hücreleri ise üç farklı yolla bu tanımayı yapabilir: Direkt, indirekt ve yarı-indirekt antijen sunumu (17, 18).

### 2.5.1.1 Direkt Sunum

Greftteki donörün antijen sunan hücreleri (ASH) donöre ait peptitlerle kompleks yaparak lenf nodlarına gelir. Burada hastanın T hücreleri direkt olarak donörün antijen sunan hücrelerinin üzerinde bulunan donör peptit-HLA kompleksini tanır (Şekil 5). Bu mekanizma akut rejeksiyonla ilişkilidir (19).

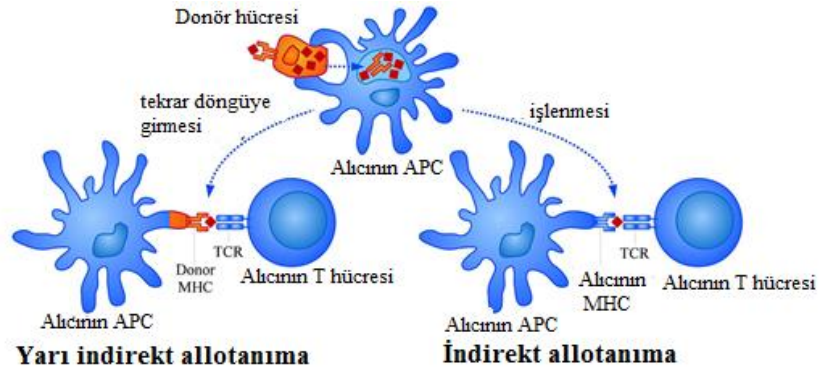


Şekil 5 Direkt sunum (Monguio-Tortajada et al. (2014) (18)'den alınmıştır.)

### 2.5.1.2 İndirekt ve Yarı-indirekt Sunum

İndirekt sunumda, hastanın ASH'leri donör alloantijenlerini tanır ve hücre içine alarak parçalar. Parçalandıktan sonra oluşan peptitleri hastanın kendi HLA molekülleri hastanın T hücrelerine sunar. Yarı-indirekt sunum ise donör HLA moleküllerinin

parçalanmadan hastanın ASH'leri yüzeyinde hastanın T hücrelerine sunulmasıdır (Şekil 6). Bu iki sunum şekli de kronik rejeksiyonla ilişkilidir (18).



Şekil 6 İndirekt ve yarı indirekt sunum (Monguio-Tortajada et al. (2014) (18)'den alınmıştır.)

## 2.6 Renal Transplantasyonda İmmünolojik Değerlendirme

### 2.6.1 Nakil Öncesi Değerlendirme

Nakledilecek organın antijenlerine karşı daha önceden antikor oluşturmuş bir hastaya bu organın nakledilmesi hızlı ve çok kötü bir şekilde organın hasar görmesiyle sonuçlanacaktır (hiperakut rejeksiyon). En yaygın olarak görülen önceden oluşmuş antikorlar ABO kan grubu antikorları veya HLA-spesifik antikorlardır. Anti-HLA antikorları hamilelik, kan transfüzyonu ve önceki nakillerle oluşabilmektedir. Öncelikle donör ile alıcı arasında HLA uyumsuzluklarına bakılır (20). HLA antijenleri her bir lokus ayrı ayrı olmak üzere (HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP) birisi anneden diğeri de babadan olacak şekilde aktarılır. Nakil öncesinde doku uyumuna bakılan donör ve hastanın aslında bu antijenlerinin uyumluluğuna bakılmaktadır. Bu antijenlerin birbirine uyumu böbrek naklinden sonra oluşabilecek immünolojik olayları belirler. Bu sebeple, ilk olarak hastanın ve donörün HLA doku tipleri belirlenir (20).

Doku tipi her ne kadar uyumlu olsa da önceden var olan anti-HLA antikorları nakledilen organın çok hızlı bir şekilde kaybedilmesine sebep olacaktır. Bunun için de nakil öncesinde mutlaka PRA tarama testi ve Donöre spesifik Antikor (DSA) saptama testleri uygulanmaktadır. Bu testlerin sonucunda eğer hastada hiçbir şekilde antikor saptanmazsa immünolojik açıdan kendisine organ nakledilebilir. Ancak hastada antikor varlığı saptanırsa desensitizasyon tedavileri uygulanır ve tekrar antikor tarama testi yapılabilir veya donöre spesifik antikor saptandıysa o donörden nakil yapılmaz. Başka bir donörle tekrar çaprazlama testleri yapılabilir (20).

### **2.6.1.1 Çaprazlama (crossmatch) Testleri**

Bir hasta için uygun bir donör bulunduğunda alıcının taze serumu ile donörün lenfositleri önceden oluşmuş herhangi bir donöre spesifik antikor (DSA) olup olmadığını belirlemek amacıyla çaprazlama testlerine tabi tutulur. Bu, hiperakut rejeksiyonun gerçekleşmesini önemli ölçüde engeller. Böbrek naklinin gerçekleşmesi için bu çaprazlama testlerinin sonucu negatif olmalıdır (21). Çaprazlama testleri çeşitli yöntemlerle yapılabilmektedir. Bunların içerisinde kompleman bağımlı sitotoksisite (CDC) testi altın standart test olarak kabul edilmiştir. Ancak zamanla daha duyarlı, solid faz testleri ortaya konmuştur. Bunlardan bir tanesi de flow sitometrik çaprazlama testidir. Günümüzde doku tiplene laboratuvarlarında en çok kullanılan yöntemler bu iki yöntemdir.

T hücreleri sadece sınıf I antijenleri eksprese ederken B hücreleri hem sınıf I hem de sınıf II HLA antijenlerini ifade ederler. Bununla birlikte B hücrelerinde T hücrelerine kıyasla çok daha fazla sınıf I antijenleri eksprese edilmektedir. Pozitif bir T hücre çaprazlama testi sonucu hastada donörün HLA sınıf I antijenlerine karşı DSA var olduğunu gösterir. T hücre çaprazlama testinin sonucu negatif, B hücre testi sonucu pozitif ise HLA sınıf II antikorları bulunabilir veya düşük titrede HLA sınıf I antikorları bulunabilir. T hücre çaprazlama testinin sonucu pozitifken B hücre testinin sonucu negatifse non-HLA antikorların varlığını gösterir (21).

Bir hastanın kadavra veya canlı donörden böbrek nakli olabilmesi için bu çaprazlama testlerinin sonuçları negatif olmalıdır. Ayrıca bu test sonuçlarının yanında diğer bazı testler ve parametreler de değerlendirilmektedir (PRA, HLA doku tipi, Hastaların alloimmünizasyon bilgileri, vb.).

#### **CDC çaprazlama testi:**

Periferik kandan, dalaktan veya lenf nodundan T ve B lenfositler izole edildikten sonra hücreler kuyulara aktarılır. Bunların üzerine hasta serumu ve tavşan komplemanı eklenir. Sitotoksiste, lenfositlerin lizis oranının kontrolünkine göre karşılaştırılması ile belirlenir. Eğer CDC çaprazlama testi pozitif çıkarsa bu test dithiothreitol (DTT) eklenerek tekrar edilir. DTT, ortamda bulunan immünoglobülin (Ig)M yapısındaki disülfid bağlarını koparır ve IgM antikorlarından kaynaklanan pozitifliği giderir. DTT uygulamasından önce ve sonraki sonuçların ikisi de pozitifse IgG yapısındaki DSA varlığını gösterir. Böyle bir durumda böbrek nakli yapılmamalıdır (21).

#### **Flow sitometrik çaprazlama testi:**

Böbrek nakillerinde flow sitometrik çaprazlama testleri (FCXM) CDC çaprazlama testine göre daha duyarlı bir testtir. Bu testin prensibi, donör lenfositleriyle serumun bir arada inkübe edildikten sonra fluorokrom ile işaretli anti-human IgG ile boyanmasına dayanır. Daha sonra flow sitometri cihazında bu fluorokromun yansıttığı floresans yoğunluğu ölçülerek kanal kayması oranına bakılır. Antikor sınıfını ayırt etmek için T hücre yüzeyinde bulunan CD3 antijenine ve B hücre yüzeyinde bulunan CD19 antijenine özgü ticari olarak hazırlanmış monoklonal antikorlar kullanılır (21).

Bu test ile CDC çaprazlama testinden farklı olarak sitotoksik olmayan antikorlar da saptanabilir. Bu testlerin dışında daha duyarlı solid faz testleri de bulunmaktadır (Ör: Luminex DSA, vb.).

#### **2.6.1.2 PRA Testleri**

Hastanın dolaşımında önceden oluşmuş alloantikorlar nakledilen organın reddine sebep olacaktır. Bu yüzden de nakilden önce hastada risk oluşturan bu



antikorların saptanması oldukça önemlidir. Hastanın serumunda saptanan anti-HLA antikorumun rejeksiyonlarla ilişkili oldukları rapor edilmiştir (10).

Hastada ilk olarak panel reaktif antikor (PRA) taraması yapılarak serumunda anti-HLA antikorumun varlığına bakılır. PRA pozitif bulunan seruma PRA tanımlama testi yapılarak hangi HLA antijenine özgü antikor geliştiği saptanabilir. Birçok HLA'ya karşı oluşmuş antikora sahip hastalar yüksek oranda sensitize şeklinde tanımlanır (PRA>%85). Bu hastaların serumlarında sensitize olmadıkları antijenleri saptamak için Tek Antijen Boncuk (SAB) testi yapılır. PRA testleri farklı yöntemlerle çalışılmaktadır. Boncuk sistemine dayalı PRA testleri daha yoğun kullanılmaktadır. Bu testlerde kullanılan boncuklar anti-HLA antijenleri ile kaplıdır. Bu sayede serum ile inkübe edildiklerinde serumdaki antikolar boncuk üzerindeki spesifik olduğu antijene bağlanır ve fluoresan ışımaya verir. Bu fluoresanın yoğunluğu ölçülerek sonuç alınır. Luminex PRA, flow sitometrik PRA gibi çeşitli yöntemler bulunmaktadır ancak hepsi prensipte aynıdır (22).

Nakilden önce yapılan PRA testleri greftin sağkalımı ve çaprazlama testinin pozitifliği arasında fikir vermektedir.

### **2.6.1.3 HLA Doku Tipleme Test Yöntemleri**

İnsan majör histokompatibilite kompleksi keşfedildiğinden bu yana kişiye ait HLA polimorfizmlerini veya "HLA tiplerini" belirleme yöntemleri hızlı bir şekilde gelişmiştir ve DNA üzerindeki bu bölgenin genetik kompleksliğinin çözülmesine sebep olmuştur. Günümüzde klasik HLA sınıf I ve II lokuslarının 2000'den fazla alleli bilinmektedir. HLA tiplemesinde eksprese edilmiş HLA moleküllerinde genetik varyasyonların belirlenmesi (serolojik tipleme) veya daha evrensel olarak DNA sekans seviyesinde (DNA tipleme) yöntemleri kullanılmaktadır (23).

Serolojik tiplendirme temelde kompleman bağımlı sitotoksitate testinde, çok doğum yapmış kadınlardan elde edilmiş antiserum paneli kullanılarak ayrılmış olan T (HLA sınıf I) ve B (HLA sınıf II) hücrelerinin yüzeyinde eksprese edilmiş olan HLA

moleküllerinin belirlenmesine dayanır. Bu testte canlı hücrelerin kullanılması gerekmektedir. Testin sonunda düşük çözünürlüklü sonuç elde edilir.

DNA temelli tiplendirme yöntemleri ise serolojik tiplene yöntemlerine göre birçok avantaja sahiptir. Canlı lenfositler gerekli değildir ve DNA kolayca herhangi bir çekirdekli hücreden saflaştırılabilir. Ayrıca DNA uzun bir süre saklanabilir ve istenildiğinde kullanılabilir. DNA temelli HLA tiplene yöntemleri temelde HLA genlerindeki hedef dizilerin polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile amplifikasyonuna dayanmaktadır. PZR amplifikasyonu sekans spesifik primerler (SSP) veya sekans spesifik oligonükleotit probalar (SSOP) kullanılarak gerçekleştirilebilmektedir (23).

## 2.6.2 Nakil sonrası Değerlendirme

Nakilden sonra greftte immünolojik cevaplar beklenir. Bunlardan birincisi; travmadır. Donör organ önceden ne kadar çok yara aldıysa reperfüzyonda o kadar çok inflamasyon ortaya çıkar. Donör endoteline vasküler akışın verilmesi sitokinlerin (ör: IL-1, IL-6) salgılanmasına ve makrofajla nötrofillerin dokuda birikmesiyle kompleman aktivasyonuna sebep olur. Dolayısıyla dendritik hücreler greftten periferik lenf nodlarına göç eder ve burada olgunlaşarak HLA ve kostimülatör moleküllerin ekspresyonunu artırır (20).

İkincisi ise hastanın T hücrelerine antijen sunumudur. Nakilden hemen sonra allojenik donör antijenleri hastanın T hücreleri tarafından direkt ve indirekt olmak üzere iki yolla tanınır. Direkt tanımda donör peptitlerini sunan donör allojenik HLA'sını eksprese eden donör ASH'leri hastanın T hücrelerini aktive eder. Direkt tanıma nakilden sonraki erken evrede **akut rejeksiyona** sebep olmaktadır. Buna karşın, indirekt tanımda donörün allopeptitleri işlenir ve hastanın ASH'leri tarafından eksprese edilen hastanın kendi HLA'ları ile sunulur ve T hücreleri uyarılır. Bu yol akut rejeksiyonun en büyük sebebidir ve aynı zamanda böbrek, kalp ve akciğer gibi organların **kronik rejeksiyonuna** sebep olan immünolojik olaylara sebep olur (20).

Üçüncüsü hastanın T hücrelerinin aktivasyonudur. T hücrelerine direkt veya indirekt olarak antijen sunumunu takiben immün yanıtın devam etmesi için yeterli

miktarda T hücre aktivasyonu gereklidir. Bu süreçte kostimülasyon ve çapraz bağlanmalar önemlidir. Bu prosesler aynı zamanda tedavide de önemlidir. Bunu takip eden diğer basamaklar da aktif hale gelmiş olan hücrelerin donör greftine göç etmesi ve greft hasarına yol açmasıdır (20).

Greft hasarları iki şekilde gerçekleşebilir. **Hücre aracılı greft hasarında** aktif yardımcı T hücreleri (CD4+) interferon-gama (IFN-  $\gamma$ ) salgılar. Bu molekül greft endotelinde adhezyon moleküllerinin ekspresyonunu ve lökositlerin bu bölgelere adhezyonunu ve göçünü artırır. Aynı zamanda sırasıyla IL-1 ve tümör nekroz faktörü gibi sitokinleri, serbest radikalleri ve önemli derecede greft hasarına yol açabilen diğer enzimleri salgılayacak olan makrofajları da aktive eder. IFN-  $\gamma$  greft hücrelerinde ve endotel hücrelerinde sınıf II HLA'ların hücrel ekspresyonunu artırır ve bu yüzden T hücrelerin ASH tarafından aktivasyonunu başlatır. T hücreleri tarafından salınan IL-2, B ve T hücreleri için güçlü bir büyüme faktörü olup greft rejeksiyonunda önemli rol oynar (20).

CD8+ sitotoksik T hücreleri iki şekilde greft hasarına yol açar. Allo-antijeni tanıdıktan sonra aktif hale gelen bu hücreler, hücrelerin yüzeyinde porlar açan perforin salgılayabilir. Bunun yanında perforin açtığı porlardan hücreye girip hedef hücrenin lizisini başlatan granzimleri de salgırlar. Sitotoksik hücreler aynı zamanda Fas-Fas ligandı etkileşimini kullanarak apoptozla da hücre ölümüne neden olabilir (20).

**Antikor-aracılı hücrel sitotoksisite** de diğer bir greft hasarına yol açan mekanizmadır. Antikorlar efektör hücre ile hedef dokular arasında köprü görevi görürler. Antikorlar aynı zamanda kompleman fiksasyonunda da yer alırlar. Bu, makrofajların ve nötrofillerin birikimiyle ve endotel hasarıyla sonuçlanır. Bu çoğunlukla C4d boyamasıyla antikor aracılı rejeksiyon tanısının konulmasında kullanılır. Antikorların rejeksiyondaki önemleri immünsüpresiflerin geliştirilmesine yol açmıştır (20).

## **2.7 Rejeksiyon Tipleri**

### **2.7.1 Antikor Aracılı Rejeksiyon**

Rejeksiyona sebep olan antikorlar HLA moleküllerine karşı oluşanlar, endotelial hücre antijenlerine karşı oluşanlar ve endotelial hücrelerle alyuvarlar üzerindeki ABO kan grubu antijenlerine karşı olanlardır (19).

#### **2.7.1.1 Hiperakut Rejeksiyon**

Vasküler kros klempin uzaklaştırılmasından hemen sonra görülen renal greft rejeksiyon tipidir. Normal reperfüzyon sonrası gözlenen “pembeleşme” yerine böbrek zayıf ve benekli görünür. Bu, glomerül ve mikrovaskülatür endoteliumları üzerinde eksprese edilen HLA antijenlerine karşı oluşmuş antikorların buraya biriktiğini gösterir. Greft içinde klasik kompleman yolağının aktivasyonunu endotelial nekroz, trombosit birikimi ve lokal koagülasyonla takip eder. Bütün bu durumlarda, organ nakli greftin çıkarılmasıyla sonuçlanır. Çaprazlama testlerindeki gelişmeler ameliyattan önce donöre spesifik antikorları daha iyi saptadığından bu problem büyük oranda aşılmıştır (19).

#### **2.7.1.2 Akut Antikor Aracılı Rejeksiyon**

Antikor aracılı rejeksiyon genellikle nakilden sonra birkaç gün (eğer antilenfosit antikor tedavisi verilmişse birkaç hafta) içinde başlar. En temel özelliği inflamasyona bağlı olarak hızlı greft disfonksiyonudur. Daha önceden aynı antijene maruz kalmış olmasına bağlı olarak yüksek titrede kompleman fikse edici antikorlar oluşur. Bu antikorların temel hedefi donörün peritübüler ve glomeruler kapillerdeki endoteliumlardaki HLA antijenleridir. Bunun yanında agonistik anjiyotensin II tip 1 (AT1)-reseptör antikorları da bu rejeksiyon tipiyle ilişkilendirilmiştir (19).

C4d klasik kompleman aktivasyonunun belirteçidir ve sıklıkla peritübüler kapillerde bulunur. C5b membran-atak kompleksinin (C5b-C9) bir araya gelmesini başlatır. Bu kompleks bölgesel endotelial nekroza, apoptoza ve temel membrandan endotel hücrelerinin ayrılmasına yol açar (19).

### **2.7.2 T-hücre Aracılı Rejeksiyon**

Akut allogreft rejeksiyonunun en yaygın görülen tipi donör alloantijenlerinin antijen sunan hücreler (ASH) tarafından alıcının T hücrelerine sunulmasıyla başlar. Greftteki olgunlaşmamış dendritik hücreler nakledilen organdan donör antijenlerini alıcının lenf nodlarına ve dalağına taşır. Bu yolculuk esnasından bu hücreler ASH'e olgunlaşırlar. Aynı zamanda alıcının ASH'leri de greft içinde yer alır ve dolaşır. Daha sonra bu ASH'ler lenfoid organlara gidip alıcının T hücrelerini aktive ederler (19).

Alıcının T lenfositleri hem donörün ASH'leri (direkt yolak) hem de alıcının kendi ASH'leri (indirekt yolak) tarafından sunulan alloantijenleri tanıyabilir. Akut rejeksiyona giden greftlerde T lenfositleri intersitisyel boşlukta birikir ve çoğalır, renal tübüllere geçerek tübülite sebep olurlar. İntersitisyel T hücrelerince üretilen inflamatuvar sitokinler tübüler epitel hücrelerini aktive eder. Bu hücreler kemokinleri (CCL2, CCL5 ve CX3CL1) salgılayarak daha fazla T lenfositini çeker (19).

CD8 T lenfositleri tübülün temel membranını geçer burada çoğalır ve tübüler hücrelerin apoptozunu uyarır. Hasar görmüş olan tübüler hücreler de doğal epitelyal fenotiplerinden ilk mezenkimal miyofibroblastlara dönüşebilir ve intersitisyel fibrozise sebep olabilir. Tübüler epitelyal hücrelerin ve temel membranının nekrozu idrar sızıntısı, greft disfonksiyonu ve ilerleyici tübüler atrofiye sebep olur (19).

### **2.7.3 Vasküler Rejeksiyon**

Vasküler rejeksiyonun histolojik özellikleri mononükleer hücrelerin damarlara infiltrasyonu, endotelial hücre apoptozu ve intimal miyofibroblastlar tarafından matriks protein ve kollajenlerinin sentezidir. CD4, CD8 T lenfositleri ve makrofajlar

birçok molekül yardımıyla subendotelyuma ve kas arterinin intimasına geçer. Vasküler rejeksiyon glukokortikoid tedaviye yanıt vermeyen ağır bir durumdur. Bunun yerine anti-lenfosit –antikor tedavisi gerekmektedir (19).

#### **2.7.4 Geç Akut Rejeksiyon**

Bu tip rejeksiyon oldukça ağır seyreder ve tersine döndürmek oldukça zordur. Greft kaybı riski oldukça yüksektir. Temel özellikleri, genellikle aktif immün inflamasyon ve kronik tübülointersitisyel hasardır. Grefte yüksek derecede immünitesi olan hastalarda ve kanser veya önceden şiddetli enfeksiyon sebebiyle immünsüpresör tedavisi alanlarda veya HLA uyumsuz olanlarda gelişebilir (19).

#### **2.7.5 Kronik Rejeksiyon**

Kronik allogreft rejeksiyon, arta kalan antigreft lenfositlerini veya antikorlarını kontrol etmek amacıyla uygulanan yeterli immünosüpresörlerin devam edilmemesinden kaynaklanır. Özellikleri, renal fonksiyonda ilerleyici düşüş, T hücrelerinin renal parenkimaya invazyonu ve T hücrelerin ve makrofajların intersitisyuma kalıcı infiltrasyonunu içerir. Damarlar da düz kas proliferasyonu ve hiperplazi görülebilir. Neointima oluşur, internal elastik laminanın fokal yıkımı ve son olarak vasküler emilme görülür (19).

Kronik antikor aracılı rejeksiyonda önceden saptanamayan donöre spesifik antikorlar veya nakil sonrasında oluşan antikorlar kapiller endotelinde üzerinde birikir. Glomerüller ve peritübüler kapillere endotelial hasar hücresel hipertrofi, subendotelialde fibriler materyalin birikmesi, glomeruler temel membranın genişlemesi ve duplikasyonuna sebep olur ve bu transplant glomerulopati olarak bilinir. Aynı zamanda peritübüler kapillerde C4d birikmesi ve temel-membran tabakalanması da oluşabilir (19).

## 2.7.6 İmmünsüpresörlerin Özellikleri ve Etki Yerleri

İmmünsüpresör ilaçlar hastaların rejeksiyondan korunması ve greft fonksiyonun devam ettirilmesi için kullanılmaktadır. **Steroidler**; T hücre ve makrofaj aktivasyonunu inhibe eder, adhezyon ve HLA moleküllerinin ekspresyonunu azaltırlar ve IL1 ile IL6 üretimini inhibe ederler. **Anti-proliferatif ajanlar (mikofenolat mofetil, MMF, azatiyoprin)**; DNA replikasyonunu inhibe eder, B ve T hücre proliferasyonunu baskılar. **Kalsinörin inhibitörleri (Takrolimus, siklosporin)**; IL-2'yi inhibe etmek için intraselüler proteinlere bağlanırlar ve bu sayede T hücre aktivasyonunu azaltırlar. **mTOR inhibitörleri (sirolimus, everolimus)**; T ve B hücrelerinin hücre döngüsünün G1-S fazında durdurur (4).

**Poliklonal antikorlar**, insan lenfoid hücrelerinin hayvanlara verilmesi sonucu oluşan antikorların saflaştırılmasıyla elde edilir. Bu antikorlar lenfoid hücre reseptörlerini eksprese eden, kompleman bağımlı lizise sebep olan ve retikulo-endotelial sisteme lenfosit alımını uyaran hücreleri maskeleyebilir, uzaklaştırabilir veya öldürebilir. Buna örnek olarak tavşan veya attan elde edilen **anti-timosit globulin (ATG)** verilebilir. Bu tedavi primer olarak T hücrelerini hedef alır ve rejeksiyon veya greft versus host hastalığı tedavisi için ve indüksiyon ajanı olarak kullanılabilir. Bunlara benzer diğer antikorlar **monoklonal antikorlardır**. Ancak bunlar tek bir genetik kaynaktan oluşurlar. En yaygın olarak kullanılanlar, **basiliximab**; T hücre yüzeyindeki IL2 reseptörü olan CD25 molekülünü hedef alır. **Muromonab-CD3 (OKT3)**; T hücre yüzeyindeki CD3 reseptörünü hedef alır. Son zamanlarda kullanılan **Alemtuzumab**; B hücrelerin, T hücrelerin ve monositlerin yüzeyinde bulunan bir protein olan CD52 reseptörünü hedef alır. **Rituximab** ise; B hücrelerinin yüzeyindeki CD20 molekülünü hedef alır (4).

### 3 GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1 Hastalar

Bu çalışmaya 2012-2014 yılları arasında İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde böbrek nakli olmuş 31 hasta (14 kadavra, 17 canlı donörden) dahil edilmiştir. Bu hastaların böbrek naklinden sonra rutin olarak saklanan 1.gün, 1. hafta, 2. hafta, 4. hafta, 12. hafta, 24. hafta ve 52. hafta serumları çalışılmıştır.

#### 3.2 Yöntem

Bu çalışmada flow sitometrik yöntemle PRA tarama ve pozitif çıkan örneklerde tanımlama yöntemleri uygulanmıştır. Hastaların 52. hafta serumundan başlanarak geriye doğru PRA tarama testleri yapılmıştır.

##### 3.2.1 Flow PRA Tarama Yöntemi

Bu yöntem için FlowPRA Screening Kit (OneLambda, Almanya) kullanılmıştır. Prosedür üretici firmanın talimatlarına göre gerçekleştirilmiştir. Bu kitin içinde sınıf I ve II boncukları, sekonder antikor olarak anti-human IgG-F(ab)'-FITC ve yıkama tamponu bulunmaktadır. Negatif ve pozitif kontrol serumları da ticari olarak satın alınmıştır. Pozitif kontrol serumları sınıf I ve II için ayrı ayrı olmak üzere iki tanedir. Çalışma için ilk olarak hasta serumları ve boncuklar oda sıcaklığında bekletilerek çözdürülmüştür. 12x75 ml polipropilen tüpleri (Flow sitometri cihazı için tasarlanmış olan) hasta ve kontrol tüpleri olmak üzere numaralandırılmıştır. İlk olarak tüpler boşken boncuklar dağıtılmıştır. Negatif kontrol tüpüne 5 µl sınıf I, 5 µl sınıf II boncuğu ve 10 µl negatif kontrol serumu eklenmiştir. Hasta tüplerine 5 µl sınıf I boncuk, 5 µl



sınıf II boncuk, 20 µl hasta serumu eklenmiştir. Sınıf I pozitif kontrol tüpüne sadece 5 µl sınıf I boncuğu ve 20 µl sınıf I pozitif kontrol serumu, sınıf II kontrol tüpüne ise 5 µl sadece sınıf II boncuğu ve 20 µl sınıf II pozitif kontrol serumu konulmuştur. 30 dakika, oda sıcaklığında inkübasyondan sonra yıkama işlemleri için bütün tüplere 1 ml yıkama tamponu eklenip 1900 rpm’de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Bu işlem iki kere tekrar edilmiştir. Yıkama işlemi bittikten sonra bütün tüplere 50 µl sekonder antikor eklenmiştir ve 30 dakika oda sıcaklığında, karanlıkta inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında yukarıda anlatıldığı üzere iki kere yıkama işlemi yapılmıştır. En son olarak negatif kontrol tüpüne 300 µl ve diğer tüplere 200 µl yıkama tamponu eklenerek flow sitometri cihazında okuma ve analiz yapılmıştır.

Analiz esnasında kullanılmak üzere bir eşik değeri bulunmuştur. Bu değer alloimmünizasyonu olmayan 20 farklı bireyin serumundan elde edilen % fluoresan yoğunluğuyla ticari olarak alınmış kit içerisindeki negatif kontrol serumundan elde edilen % fluoresan yoğunluğunun farkının standart sapmaları eklenerek hesaplanmıştır. Bu hesaplama sonucunda sınıf I için eşik değeri % 3,5 olarak bulunurken sınıf II için % 6,44 bulunmuştur (Tablo 1).

**Tablo 1** Flow sitometri PRA testi için eşik değerinin belirlenmesi

| SINIF I         |                | SINIF II        |                |
|-----------------|----------------|-----------------|----------------|
| NEGATİF (% FL1) | KONTROL (%FL1) | NEGATİF (% FL1) | KONTROL (%FL1) |
| 3,76            | 3,03           | 2,77            | 10,47          |
| 2,25            | 0,57           | 2,69            | 1,70           |
| 2,25            | 0,84           | 2,69            | 1,45           |
| 2,38            | 4,14           | 1,89            | 2,02           |
| 2,38            | 0,67           | 1,89            | 1,42           |
| 2,38            | 0,63           | 1,89            | 1,30           |
| 2,38            | 1,10           | 1,89            | 1,03           |
| 1,64            | 0,68           | 2,38            | 1,53           |
| 1,64            | 1,31           | 2,38            | 1,71           |
| 1,42            | 0,24           | 2,35            | 0,16           |

**Tablo 1** Flow sitometri PRA testi için eşik değerinin belirlenmesi (devamı)

| SINIF I         |                | SINIF II        |                |
|-----------------|----------------|-----------------|----------------|
| NEGATİF (% FL1) | KONTROL (%FL1) | NEGATİF (% FL1) | KONTROL (%FL1) |
| 1,42            | 0,62           | 2,35            | 1,32           |
| 1,42            | 0,35           | 2,35            | 1,00           |
| 3,21            | 1,61           | 4,83            | 3,63           |
| 3,21            | 2,12           | 4,83            | 3,20           |
| 3,21            | 4,29           | 4,83            | 6,06           |
| 3,21            | 1,88           | 4,83            | 8,68           |
| 3,21            | 5,91           | 4,83            | 7,57           |
| 3,21            | 8,22           | 4,83            | 12,94          |
| 3,21            | 1,48           | 4,83            | 4,39           |
| 3,21            | 1,16           | 4,83            | 2,04           |

### 3.2.2 Flow PRA Class I-II Tanımlama Yöntemi

Bu yöntem için FlowPRA Class I and II Identification Kit (OneLambda, Almanya) kullanılmıştır. Prosedür üretici firmanın talimatlarına göre gerçekleştirilmiştir. Bu kitin içinde sınıf I için 4 ayrı grup, sınıf II için 4 ayrı grup boncukları, sekonder antikor olarak anti-human IgG-F(ab)'-FITC ve yıkama tamponu bulunmaktadır. Negatif ve pozitif kontrol serumları Flow PRA tarama yönteminde kullanılan serumlarla aynıdır. Bu çalışmada PRA tarama yönteminden farklı olarak öncelikle tüpler sınıf I ve sınıf II diye ayrılmıştır. Daha sonra ise sınıf I kendi içinde 4 gruba, sınıf II de kendi içinde 4 gruba ayrılmıştır. Her bir grubun kendi negatif ve pozitif kontrolleri düzenlenmiştir.

12x75 ml polipropilen tüpleri (Flow sitometri cihazı için tasarlanmış olan) hasta ve kontrol tüpleri olmak üzere numaralandırılmıştır. İlk olarak tüpler boşken boncuklar dağıtılmıştır. Negatif kontrol tüplerine 5 µl kendi sınıf ve grubunun boncuğundan ve negatif kontrol serumu eklenmiştir. Hasta tüplerine 5 µl kendi sınıf ve grubunun boncuğundan ve 20 µl hasta eklenmiştir. Pozitif kontrol tüplerine 5 µl kendi sınıf ve grubunun boncuğundan ve 20 µl pozitif sınıf I ve II kontrol serumu konulmuştur. 30 dakika, oda sıcaklığında inkübasyondan sonra yıkama işlemleri için bütün tüplere 1

ml yıkama tamponu eklenip 1900 rpm'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Bu işlem iki kere tekrar edilmiştir. Yıkama işlemi bittikten sonra bütün tüplere 50 µl sekonder antikor eklenmiştir ve 30 dakika oda sıcaklığında, karanlıkta inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında yukarıda anlatıldığı üzere iki kere yıkama işlemi yapılmıştır. En son olarak negatif kontrol tüplerine 300 µl ve diğer tüplere 200 µl yıkama tamponu eklenerek Flow sitometri cihazında okutma ve analiz yapılmıştır.

Flow sitometri PRA tanımlama yöntemi ile değerlendirilemeyen hasta serumları Luminex PRA tanımlama yöntemiyle analiz edilmiştir.

### **3.2.3 Luminex PRA Tanımlama Yöntemi**

Bu yöntem ticari olarak hazırlanmış Lifecodes Sınıf I ID ve Sınıf II ID (Lifecodes, USA) kitleri kullanılarak üreticinin talimatlarına göre yapılmıştır. Bu test için kullanılan 96 kuyucuklu plak hasta sayısına göre hazırlanmıştır. Bütün çalışılacak kuyular distile suyla ıslatıldıktan sonra kuyular 40 µl yıkama tamponu, 12,5 µl ilgili serumundan ve 5 µl boncuk konmuştur. 30 dakika karanlıkta hafif çalkalamalı olarak inkübasyondan sonra kuyucuklar yıkama tamponuyla yıkanmıştır. Son olarak kuyulara 50 µl konjugat eklenip tekrar 30 dakika karanlıkta inkübe edilmiştir. En son aşamada ise kuyucuklara 150 µl tampon solüsyon eklenerek Luminex cihazında (Luminex Fluoroanalyzer 200, Luminex Corporation, Texas, USA) analiz edilmiştir.

### **3.2.4 Glomerüler Filtrasyon Hızı (GFH)'nin Hesaplanması**

Glomerüler filtrasyon hızı (GFH), sağlıklı ve hastalıklı dönemde total böbrek fonksiyonunun en iyi göstergesidir. GFH'nin normal değer aralığı erkekler için  $120 \pm 25$  mL/dk, kadınlar için ise  $95 \pm 20$  mL/dk'dır (24). Hastaların GFH'leri 4 değişkenli aMDRD (abbreviated Modification of Diet in Renal Disease) formülüne göre hesaplanmıştır.

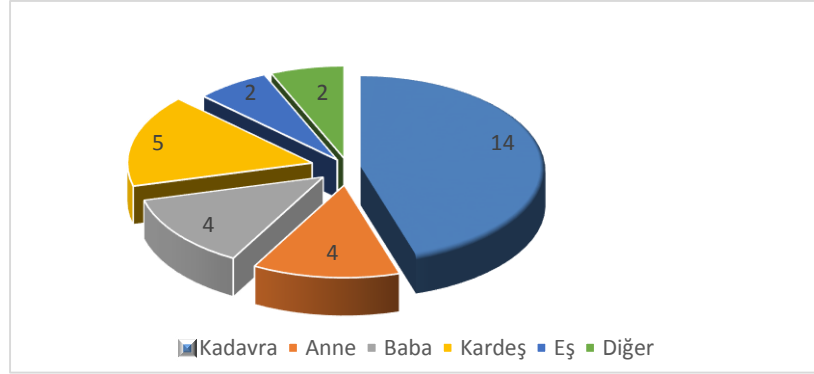
$$aMDRD = 175 \times (\text{serum kreatinin})^{-1,154} \times \text{yaş}^{-0,203} \times (0,762, \text{ kadın})$$

### **3.2.5 İstatistiksel Analiz**

Bütün istatistiksel analizler Statistical Package for Social Sciences for Windows Version 21.0 (SPSS 21.0 Inc, Chicago, USA) kullanılarak Windows 10 bilgisayar programı ortamında yapılmıştır. Parametreler arasındaki ilişkiler Pearson korelasyon testi ile analiz edilmiştir.  $p < 0,05$  değerleri anlamlı kabul edilmiştir.

## 4 BULGULAR

Bu çalışmada 2012-2014 yılları arasında canlı ve kadavra donörden böbrek nakli olmuş 31 hastanın nakil sonrası PRA takibi yapılmıştır. Bu hastaların %45,16'sı (n=14) kadavra donörden nakil olmuşken %54,84'ü (n=17) canlı donörden (canlı donörlerin %29,4'ü (n=5) kardeşten, %23,5'i (n=4) anneden, %23,5'i (n=4) babadan, %11,8'i (n=2) eşinden ve %11,8'i (n=2) diğer donör tiplerinden (oğlu ve amcakızı)) nakil olmuştur (Şekil 7). Hasta ve donörlerinin demografik özellikleri Tablo 2 gösterilmiştir.



Şekil 7 Donör tiplerinin dağılımı

Tablo 2 Hasta ve donörlerinin demografik özellikleri

| Hasta | Hastanın yaşı | Hastanın kan grubu | Diyaliz tipi | Donör | Donörün yaşı | Donörün kan grubu |
|-------|---------------|--------------------|--------------|-------|--------------|-------------------|
| TH-1  | 8             | 0 Rh (+)           | PD           | D-1   | 7            | 0 Rh (+)          |
| TH-2  | 39            | B Rh (+)           | PREEMPTİF    | D-2   | 63           | B Rh (+)          |
| TH-3  | 39            | A Rh (+)           | PREEMPTİF    | D-3   | 34           | A Rh (-)          |
| TH-4  | 23            | A Rh (+)           | PREEMPTİF    | D-4   | 42           | 0 Rh (+)          |
| TH-5  | 62            | A Rh (+)           | PREEMPTİF    | D-5   | 61           | A Rh (+)          |
| TH-6  | 60            | 0 Rh (+)           | PREEMPTİF    | D-6   | 78           | 0 Rh (+)          |
| TH-7  | 34            | 0 Rh (+)           | PREEMPTİF    | D-7   | 78           | 0 Rh (+)          |
| TH-8  | 60            | AB Rh (-)          | HD           | D-8   | 46           | AB Rh (+)         |
| TH-9  | 52            | B Rh (+)           | HD           | D-9   | 56           | B Rh (+)          |
| TH-10 | 25            | AB Rh (+)          | HD           | D-10  | 52           | AB Rh (+)         |
| TH-11 | 21            | A Rh (+)           | PREEMPTİF    | D-11  | 48           | 0 Rh (+)          |
| TH-12 | 29            | 0 Rh (+)           | PREEMPTİF    | D-12  | 57           | 0 Rh (+)          |
| TH-13 | 30            | A Rh (+)           | PREEMPTİF    | D-13  | 58           | 0 Rh (+)          |
| TH-14 | 38            | B Rh (+)           | PREEMPTİF    | D-14  | 30           | B Rh (+)          |
| TH-15 | 18            | A Rh (+)           | HD           | D-15  | 15           | A Rh (-)          |
| TH-16 | 46            | B Rh (+)           | HD           | D-16  | 46           | B Rh (+)          |
| TH-17 | 30            | B Rh (+)           | PREEMPTİF    | D-17  | 26           | 0 Rh (+)          |
| TH-18 | 25            | A Rh (-)           | HD           | D-18  | 26           | A Rh (+)          |
| TH-19 | 36            | AB Rh (+)          | PREEMPTİF    | D-19  | 49           | AB Rh (+)         |
| TH-20 | 63            | 0 Rh (+)           | HD           | D-20  | 65           | 0 Rh (+)          |
| TH-21 | 34            | A Rh (+)           | HD           | D-21  | 37           | 0 Rh (+)          |

PD: Peritondiyaliz, HD: Hemodiyaliz

| Hasta | Hastanın yaşı | Hastanın kan grubu | Diyaliz tipi | Donör | Donörün yaşı | Donörün kan grubu |
|-------|---------------|--------------------|--------------|-------|--------------|-------------------|
| TH-23 | 41            | B Rh (+)           | HD           | D-23  | 43           | 0 Rh (+)          |
| TH-24 | 38            | 0 Rh (+)           | PREEMPTİF    | D-24  | 23           | 0 Rh (+)          |
| TH-25 | 26            | A Rh (+)           | HD           | D-25  | 50           | A Rh(+)           |
| TH-26 | 21            | 0 Rh (+)           | PREEMPTİF    | D-26  | 31           | 0 Rh (+)          |
| TH-27 | 56            | 0 Rh (+)           | HD           | D-27  | 43           | 0 Rh (+)          |
| TH-28 | 15            | A Rh (+)           | HD           | D-28  | 51           | A Rh (+)          |
| TH-29 | 28            | A Rh (+)           | HD           | D-29  | 60           | A Rh (+)          |
| TH-30 | 27            | A Rh (+)           | HD           | D-30  | 72           | A Rh (+)          |
| TH-31 | 54            | 0 Rh (+)           | PREEMPTİF    | D-31  | 42           | 0 Rh (+)          |

PD: Peritondiyaliz, HD: Hemodiyaliz

Hastaların %41,9'unun (n=13) sadece kan transfüzyonu öyküsü, %9,7'sinin (n=3) gebelik öyküsü, %3,2'sinin (n=1) nakil ve kan transfüzyonu öyküsü bulunurken, %45,2'sinin (n=14) alloimmünizasyon öyküsü bulunmamaktadır (Tablo 3).

| Hasta | Tx | Kan Trf. (ünite) | G | D | K |
|-------|----|------------------|---|---|---|
| TH-1  | 0  | 3                | 0 | 0 | 0 |
| TH-2  | 0  | 0                | 0 | 0 | 0 |
| TH-3  | 0  | 1                | 0 | 0 | 0 |
| TH-4  | 1  | 1                | 0 | 0 | 0 |
| TH-5  | 0  | 0                | 0 | 0 | 0 |
| TH-6  | 0  | 0                | 0 | 0 | 0 |
| TH-7  | 0  | 20               | 0 | 0 | 0 |
| TH-8  | 0  | 1                | 0 | 0 | 0 |
| TH-9  | 0  | 1                | 0 | 0 | 0 |
| TH-10 | 0  | 1                | 0 | 0 | 0 |
| TH-11 | 0  | 0                | 0 | 0 | 0 |
| TH-12 | 0  | 0                | 0 | 0 | 0 |
| TH-13 | 0  | 0                | 0 | 0 | 0 |
| TH-14 | 0  | 1                | 0 | 0 | 0 |
| TH-15 | 0  | 0                | 0 | 0 | 0 |
| TH-16 | 0  | 0                | 0 | 0 | 0 |
| TH-17 | 0  | 2                | 0 | 0 | 0 |
| TH-18 | 0  | 0                | 0 | 0 | 0 |
| TH-19 | 0  | 2                | 0 | 0 | 0 |
| TH-20 | 0  | 0                | 1 | 0 | 5 |
| TH-21 | 0  | 6                | 0 | 0 | 0 |
| TH-22 | 0  | 2                | 0 | 0 | 0 |
| TH-23 | 0  | 0                | 2 | 0 | 5 |
| TH-24 | 0  | 0                | 0 | 0 | 0 |
| TH-25 | 0  | 2                | 0 | 0 | 0 |

Tx: Transplantasyon, G: Gebelik, D: Düşük, K: Kürtaj

**Tablo 3** Hastaların nakil öncesi alloimmünizasyon bilgileri (devamı)

| Hasta | Tx | Kan Trf. (ünite) | G | D | K |
|-------|----|------------------|---|---|---|
| TH-26 | 0  | 0                | 2 | 0 | 0 |
| TH-27 | 0  | 5                | 0 | 0 | 0 |
| TH-28 | 0  | 0                | 0 | 0 | 0 |
| TH-29 | 0  | 0                | 0 | 0 | 0 |
| TH-30 | 0  | 0                | 0 | 0 | 0 |
| TH-31 | 0  | 0                | 0 | 0 | 0 |

Tx: Transplantasyon, G: Gebelik, D: Düşük, K: Kürtaj

Böbrek nakli sonrası çalışmaya dahil edilen hastaların son hafta serumlarının %12,9'u (n=4) sadece PRA sınıf I pozitif, %6,45'i (n=2) sadece PRA sınıf II pozitif ve %87,1'i (n=27) PRA sınıf I negatif ve %93,5'i (n=29) PRA sınıf II negatif bulunmuştur. PRA sınıf I ve II pozitifliğinin beraber olduğu serum tespit edilmemiştir. Hastaların yaklaşık %71'i PRA sınıf I ve II negatif bulunmuştur (n=22). Sınıf I pozitif olan 16 numaralı hastaya yapılan tanımlama testi sonucunda %6 oranında B46 ve B62 antijenlerine karşı spesifitesi olduğu bulunmuştur. 25 numaralı hastada ise %12 oranında A23, ve A24 antijenlerine karşı spesifite bulunmuştur. Sadece sınıf II pozitif bulunan hastalardan ikisinin de %27 oranında DQ2 antijenine karşı spesifitelerinin olduğu bulunmuştur. Bu bulgular hastaların diğer klinik özellikleriyle birlikte değerlendirilmiştir (Tablo 4).

**Tablo 4** Hastaların nakil sonrası PRA testi sonuçları ve klinik bilgileri

| HASTA | FC-PRA |     | FC-PRA    |     | LUMINEX PRA |     | İMMÜNSÜPRESİF İLAÇLAR                               | SON KREATİNİN | HASTA HLA TİPİ                                 | DONÖR HLA TİPİ                                 | DOKU UYUMU    | DONÖR   |
|-------|--------|-----|-----------|-----|-------------|-----|---|---------------|--|--|---------------|---------|
|       | TARAMA |     | TANIMLAMA |     | TANIMLAMA   |     |   |               |  |  |               |         |
|       | SI     | SII | SI        | SII | SI          | SII |   |               |  |  |               |         |
| TH-1  | POZ    | NEG | NEG       | NEG | NEG         | NEG | Mikofenolat mofetil<br>Prednizolon<br>Takrolimus    | 0,7           | A*02, A*03, B*35,<br>B*35, DRB1*01,<br>DRB1*11 | A*02, A*23, B*35,<br>B*50, DRB1*03,<br>DRB1*11 | 1A 1B 1DR     | kadavra |
| TH-2  | NEG    | NEG | NEG       | NEG | NEG         | NEG | Mikofenolat mofetil<br>Prednizolon<br>Takrolimus    | 1,5           | A*23, A*31, B*38,<br>B*49, DRB1*01,<br>DRB1*04 | A*31, A*32, B*38,<br>B*55, DRB1*04,<br>DRB1*14 | 1A 1B 1DR     | baba    |
| TH-3  | NEG    | NEG | NEG       | NEG | NEG         | NEG | Mikofenolat mofetil<br>Prednizolon<br>Siklosporin A | 1,2           | A*11, A*24, B*35,<br>B*38, DRB1*04,<br>DRB1*14 | A*02, A*02, B*15,<br>B*35, DRB1*04,<br>DRB1*14 | 1B 2DR        | kadavra |
| TH-4  | POZ    | NEG | %6<br>A32 | NEG | -           | NEG | Mikofenolat sodyum<br>Prednizolon<br>Takrolimus     | 0,8           | A*11, A*68, B*08,<br>B*51, DRB1*03,<br>DRB1*13 | A*32, A*68, B*08,<br>B*35, DRB1*03,<br>DRB1*15 | 1A 1B 1DR     | annesi  |
| TH-5  | NEG    | NEG | NEG       | NEG | NEG         | NEG | Mikofenolat mofetil<br>Prednizolon<br>Takrolimus    | 1,4           | A*03, A*11, B*35,<br>B*51, DRB1*01,<br>DRB1*07 | A*24, A*26, B*18,<br>B*18, DRB1*04,<br>DRB1*14 | SIFIR<br>UYUM | eşi     |
| TH-6  | NEG    | NEG | NEG       | NEG | NEG         | NEG | Mikofenolat mofetil<br>Prednizolon<br>Takrolimus    | 3,3           | A*02, A*26, B*39,<br>B*52, DRB1*15,<br>DRB1*16 | A*24, A*30, B*27,<br>B*39, DRB1*15,<br>DRB1*16 | 1B 2DR        | kadavra |

POZ: Pozitif, NEG: Negatif, SI: Sınıf I, SII: Sınıf II, Tam uyum (2A2B2DR)



**Tablo 4** Hastaların nakil sonrası PRA testi sonuçları ve klinik bilgileri (devamı)

| HASTA | FC-PRA |     | FC-PRA            |     | LUMINEX PRA |     | İMMÜNSÜPRESİF İLAÇLAR                            | SON KREATİNİN | HASTA HLA TİPİ                                 | DONÖR HLA TİPİ                                 | DOKU UYUMU | DONÖR   |
|-------|--------|-----|-------------------|-----|-------------|-----|--|---------------|--|--|------------|---------|
|       | TARAMA | SI  | TANIMLAMA         | SII | TANIMLAMA   | SII |  |               |  |  |            |         |
| TH-7  | NEG    | NEG | NEG               | NEG | NEG         | NEG | Mikofenolat mofetil<br>Prednizolon<br>Takrolimus | 2,1           | A*02, A*31, B*44,<br>B*60, DRB1*15,<br>DRB1*15 | A*24, A*30, B*27,<br>B*39, DRB1*15,<br>DRB1*16 | 1DR        | Kadavra |
| TH-8  | POZ    | NEG | NEG               | NEG | NEG         | NEG | Mikofenolat mofetil<br>Prednizolon<br>Takrolimus | 1,2           | A*01, A*23, B*07,<br>B*35, DRB1*11,<br>DRB1*15 | A*02, A*02, B*35,<br>B*35, DRB1*11,<br>DRB1*11 | 1B 1DR     | kadavra |
| TH-9  | POZ    | NEG | %6<br>B46,<br>B62 | NEG | -           | NEG | Mikofenolat mofetil<br>Prednizolon<br>Sirolimus  | 1,5           | A*24, A*31, B*35,<br>B*38, DRB1*11             | A*03, A*24, B*18,<br>B*35, DRB1*11,<br>DRB1*11 | 1A 1B 1DR  | kadavra |
| TH-10 | NEG    | NEG | NEG               | NEG | NEG         | NEG | Mikofenolat sodyum<br>Everolimus<br>Prednizolon  | 1,9           | A2, A24(9), B51(5),<br>DRB1*11,<br>DRB1*14     | A2, A26, B35,B51,<br>DR11, DR4                 | 1A 1B 1DR  | kadavra |
| TH-11 | NEG    | NEG | NEG               | NEG | NEG         | NEG | Mikofenolat sodyum<br>Prednizolon<br>Takrolimus  | 1,7           | A*03, A*24, B*07,<br>B*35, DRB1*11,<br>DRB1*15 | A*01, A*03, B*07,<br>B*08, DRB1*03,<br>DRB1*15 | 1A 1B 1DR  | annesi  |
| TH-12 | POZ    | NEG | NEG               | NEG | NEG         | NEG | Mikofenolat mofetil<br>Prednizolon<br>Sirolimus  | 1,6           | A*01, A*03, B*35,<br>B*40, DRB1*04,<br>DRB1*11 | A*03, A*26, B*35,<br>B*38, DRB1*04,<br>DRB1*15 | 1A 1B 1DR  | annesi  |

POZ: Pozitif, NEG: Negatif, SI: Sınıf I, SII: Sınıf II, Tam uyum (2A2B2DR)

**Tablo 4** Hastaların nakil sonrası PRA testi sonuçları ve klinik bilgileri (devamı)

| HASTA | FC-PRA<br>TARAMA |     | FC-PRA<br>TANIMLAMA |     | LUMINEX PRA<br>TANIMLAMA |     | İMMÜNSÜPRESİF<br>İLAÇLAR                            | SON<br>KREATİNİN | HASTA HLA TİPİ  | DONÖR HLA<br>TİPİ                              | DOKU<br>UYUMU | DONÖR   |
|-------|------------------|-----|---------------------|-----|--------------------------|-----|---|------------------|---|--|---------------|---------|
|       | SI               | SII | SI                  | SII | SI                       | SII |   |                  |   |  |               |         |
| TH-13 | NEG              | NEG | NEG                 | NEG | NEG                      | NEG | Mikofenolat sodyum<br>Prednizolon<br>Takrolimus     | 1,1              | A*03, A*68, B*08,<br>B*44, DRB1*03,<br>DRB1*04                            | A*03, A*26, B*08,<br>B*08, DRB1*03,<br>DRB1*03 | 1A 1B 1DR     | Baba    |
| TH-14 | NEG              | NEG | NEG                 | NEG | NEG                      | NEG | Mikofenolat mofetil<br>Prednizolon<br>Siklosporin A | 0,9              | A*23, A*29, B*44,<br>B*52, DRB1*11,<br>DRB1*15                            | A*24, A*24, B*18,<br>B*35, DRB1*11,<br>DRB1*15 | 2DR           | kadavra |
| TH-15 | NEG              | NEG | NEG                 | NEG | NEG                      | NEG | Mikofenolat mofetil<br>Prednizolon<br>Takrolimus    | 1                | A1, A3, B35, B? ,<br>DRB1*04,<br>DRB1*04                                  | A*03, A*26, B*35,<br>B*50, DRB1*04,<br>DRB1*15 | 1A 1B 1DR     | kadavra |
| TH-16 | POZ              | POZ | NEG                 | NEG | %6<br>B8                 | NEG | Mikofenolat mofetil<br>Prednizolon<br>Takrolimus    | 1,3              | A11, A28, B35,<br>B40, BW6, CW4,<br>DQB1*05,<br>DRB1*01,<br>DRB1*14, DRB3 | A*23, A*24, B*40,<br>B*49, DRB1*11,<br>DRB1*14 | 1B 1DR        | kadavra |
| TH-17 | NEG              | NEG | NEG                 | NEG | NEG                      | NEG | Mikofenolat sodyum<br>Prednizolon<br>Takrolimus     | 1,4              | A*02, A*33, B*44,<br>B*04, DRB1*13,<br>DRB1*16                            | A*26, A*31, B*07,<br>B*27, DRB1*01,<br>DRB1*15 | SIFIR<br>UYUM | kardeş  |
| TH-18 | NEG              | NEG | NEG                 | NEG | NEG                      | NEG | Mikofenolat mofetil<br>Prednizolon<br>Takrolimus    | 1,1              | A*02, A*24, B*41,<br>B*51, DRB1*03,<br>DRB1*08                            | A*29, A*30, B*07,<br>B*51, DRB1*08,<br>DRB1*13 | 1B 1DR        | kadavra |

POZ: Pozitif, NEG: Negatif, SI: Sınıf I, SII: Sınıf II, Tam uyum (2A2B2DR)

**Tablo 4** Hastaların nakil sonrası PRA testi sonuçları ve klinik bilgileri (devamı)

| HASTA | FC-PRA<br>TARAMA |     | FC-PRA<br>TANIMLAMA |     | LUMINEX PRA<br>TANIMLAMA |            | İMMÜNSÜPRESİF<br>İLAÇLAR                         | SON<br>KREATİNİN | HASTA HLA TİPİ                                 | DONÖR HLA<br>TİPİ  | DOKU<br>UYUMU | DONÖR    |
|-------|------------------|-----|---------------------|-----|--------------------------|------------|--|------------------|--|--|---------------|----------|
|       | SI               | SII | SI                  | SII | SI                       | SII        |  |                  |  |  |               |          |
| TH-19 | NEG              | NEG | NEG                 | NEG | NEG                      | NEG        | Mikofenolat sodyum<br>Prednizolon<br>Takrolimus  | 2,1              | A*11, A*11, B*51,<br>B*55, DRB1*11,<br>DRB1*13 | A*02, A*30, B*18,<br>B*51, DRB1*11,<br>DRB1*13                         | 1B 2DR        | kadavra  |
| TH-20 | NEG              | NEG | NEG                 | NEG | NEG                      | NEG        | Mikofenolat mofetil<br>Prednizolon<br>Takrolimus | 1,2              | A*02, A*24, B*07,<br>B*35, DRB1*11,<br>DRB1*15 | A*02, A*24, B*07,<br>B*35, DRB1*11,<br>DRB1*15                         | TAM<br>UYUM   | kardeş   |
| TH-21 | NEG              | POZ | NEG                 | NEG | NEG                      | %27<br>DQ2 | Mikofenolat sodyum<br>Prednizolon<br>Takrolimus  | 1,2              | A*29, A*68, B*35,<br>B*42, DRB1*03,<br>DRB1*14 | A*03, A*03, B*07,<br>B*35, DRB1*01,<br>DRB1*15                         | 1B            | kardeş   |
| TH-22 | NEG              | NEG | NEG                 | NEG | NEG                      | NEG        | Mikofenolat mofetil<br>Prednizolon<br>Takrolimus | 1,2              | A*24, A*29, B*13,<br>B*35, DRB1*04,<br>DRB1*07 | A*24, A*29, B*13,<br>B*51, DRB1*04,<br>DRB1*07                         | 2A 1B 2DR     | amcakızı |
| TH-23 | NEG              | NEG | NEG                 | NEG | NEG                      | NEG        | Mikofenolat mofetil<br>Prednizolon<br>Takrolimus | 0,9              | A*02, A*26, B*38,<br>B*52, DRB1*14,<br>DRB1*15 | A*33, A*66, B*14,<br>B*52, DRB1*01,<br>DRB1*15                         | 1B 1DR        | eşi      |
| TH-24 | NEG              | NEG | NEG                 | NEG | NEG                      | NEG        | Mikofenolat sodyum<br>Everolimus<br>Prednizolon  | 1,1              | A*30, A*68, B*13,<br>B*51, DRB1*07,<br>DRB1*13 | A*30, A*68, B*13,<br>B*51, DRB1*07,<br>DRB1*13,<br>DQB1*02,<br>DQB1*06 | TAM<br>UYUM   | kardeş   |

POZ: Pozitif, NEG: Negatif, SI: Sınıf I, SII: Sınıf II, Tam uyum (2A2B2DR)

**Tablo 4** Hastaların nakil sonrası PRA testi sonuçları ve klinik bilgileri (devamı)

| HASTA | FC-PRA |     | FC-PRA             |     | LUMINEX PRA |     | İMMÜNSÜPRESİF İLAÇLAR                               | SON KREATİNİN | HASTA HLA TİPİ                                 | DONÖR HLA TİPİ                                 | DOKU UYUMU | DONÖR   |
|-------|--------|-----|--------------------|-----|-------------|-----|---|---------------|--|--|------------|---------|
|       | TARAMA | SI  | TANIMLAMA          | SII | TANIMLAMA   | SII |   |               |  |  |            |         |
| TH-25 | POZ    | NEG | %12<br>A23,<br>A24 | NEG | -           | NEG | Mikofenolat sodyum<br>Prednizolon<br>Siklosporin A  | 1             | A*03, A*26, B*08,<br>B*38, DRB1*03,<br>DRB1*07 | A*01, A*03, B*08,<br>B*37, DRB1*03,<br>DRB1*15 | 1A 1B 1DR  | baba    |
| TH-26 | NEG    | NEG | NEG                | NEG | NEG         | NEG | Mikofenolat mofetil<br>Prednizolon<br>Siklosporin A | 1             | A*24, A*32, B*18,<br>B*52, DRB1*03,<br>DRB1*15 | A*03, A*24, B*47,<br>B*52, DRB1*07,<br>DRB1*15 | 1A 1B 1DR  | oğlu    |
| TH-27 | NEG    | NEG | NEG                | NEG | NEG         | NEG | Mikofenolat sodyum<br>Prednizolon<br>Takrolimus     | 1,6           | A*02, A*24, B*35,<br>B*41, DRB1*14,<br>DRB1*07 | A*02, A*24, B*07,<br>B*35, DRB1*14,<br>DRB1*15 | 2A 1B 1DR  | annesi  |
| TH-28 | NEG    | NEG | NEG                | NEG | NEG         | NEG | Mikofenolat sodyum<br>Prednizolon<br>Takrolimus     | 1,8           | A*01, A*23, B*49,<br>B*58, DRB1*03,<br>DRB1*11 | A*24, A*24, B*07,<br>B*49, DRB1*03,<br>DRB1*11 | 1B 2DR     | kadavra |
| TH-29 | NEG    | NEG | NEG                | NEG | NEG         | NEG | Mikofenolat mofetil<br>Prednizolon<br>Takrolimus    | 1,2           | A*02, A*03, B*35,<br>B*50, DRB1*15,<br>DRB1*07 | A*02, A*03, B*35,<br>B*51, DRB1*09,<br>DRB1*15 | 2A 1B 1DR  | baba    |

POZ: Pozitif, NEG: Negatif, SI: Sınıf I, SII: Sınıf II, Tam uyum (2A2B2DR)

**Tablo 4** Hastaların nakil sonrası PRA testi sonuçları ve klinik bilgileri (devamı)

| HASTA | FC-PRA |     | FC-PRA    |     | LUMINEX PRA |            | İMMÜNSÜPRESİF İLAÇLAR                            | SON KREATİNİN | HASTA HLA TİPİ   | DONÖR HLA TİPİ                                 | DOKU UYUMU | DONÖR   |
|-------|--------|-----|-----------|-----|-------------|------------|--|---------------|--|--|------------|---------|
|       | TARAMA | SI  | TANIMLAMA | SII | TANIMLAMA   | SII        |  |               |  |  |            |         |
| TH-30 | NEG    | NEG | NEG       | NEG | NEG         | NEG        | Mikofenolat mofetil<br>Prednizolon<br>Takrolimus | 1,9           | A11, A30(19), B35,<br>B53, BW4, BW6,<br>CW4, DRB1*07,<br>DRB1*07, DRB4 | A*01, A*31, B*35,<br>B*51, DRB1*07,<br>DRB1*16 | 1B 1DR     | kadavra |
| TH-31 | POZ    | POZ | -         | -   | NEG         | %27<br>DQ2 | Mikofenolat mofetil<br>Prednizolon<br>Takrolimus | 1,8           | A*01, A*24, B*08,<br>B*08, DRB1*03,<br>DRB1*03                         | A*03, A*32, B*35,<br>B*51, DRB1*01,<br>DRB1*04 | 0          | kardeş  |

POZ: Pozitif, NEG: Negatif, SI: Sınıf I, SII: Sınıf II, Tam uyum (2A2B2DR)

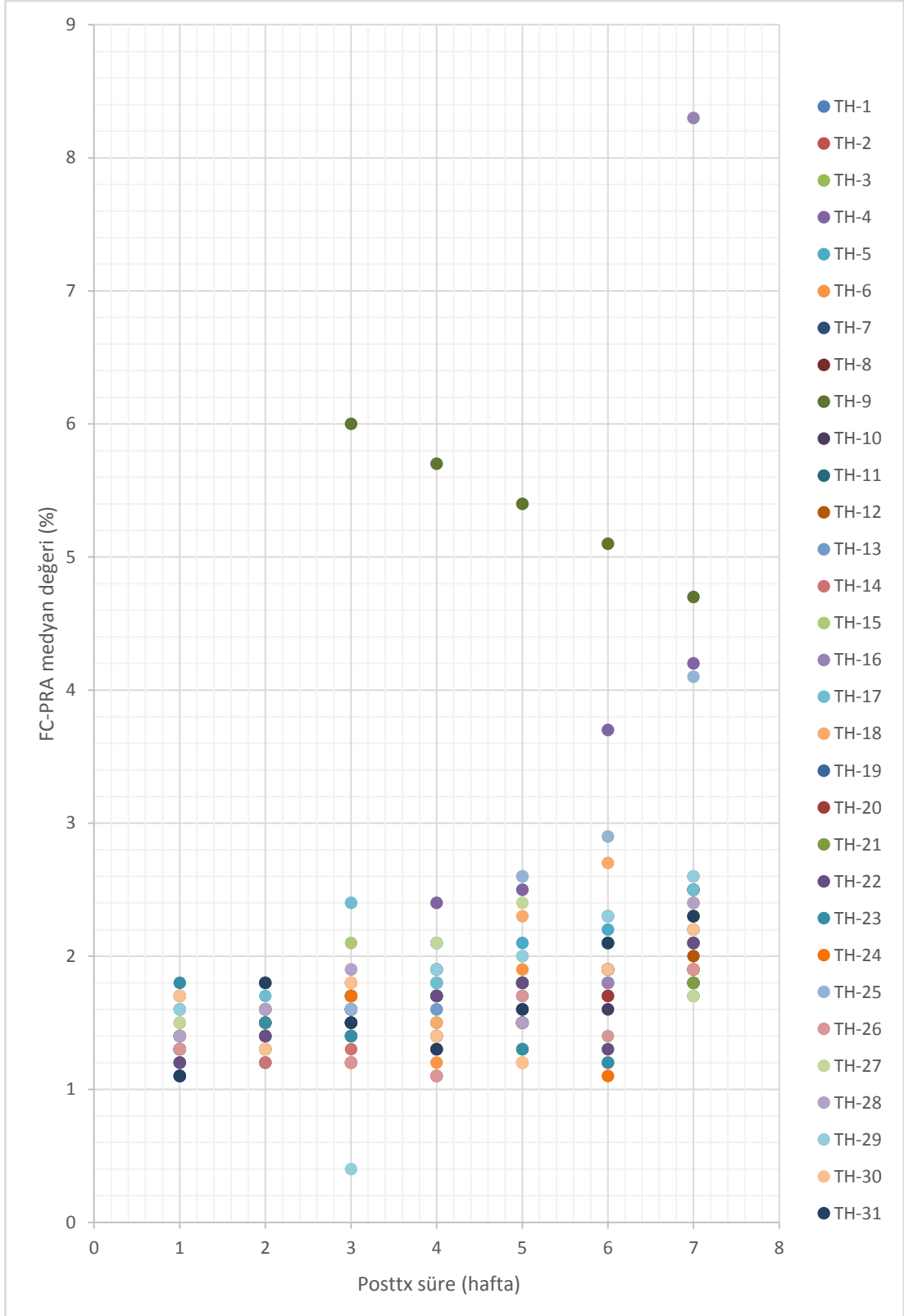
6 tane hastanın flow sitometrik PRA tanımlama testinin sonucu ikinci bir yöntem olan Luminex PRA tanımlama testi ile teyit edilmiştir (Tablo 5).

**Tablo 5** Luminex PRA testi ile teyit edilen hastaların sonuçları

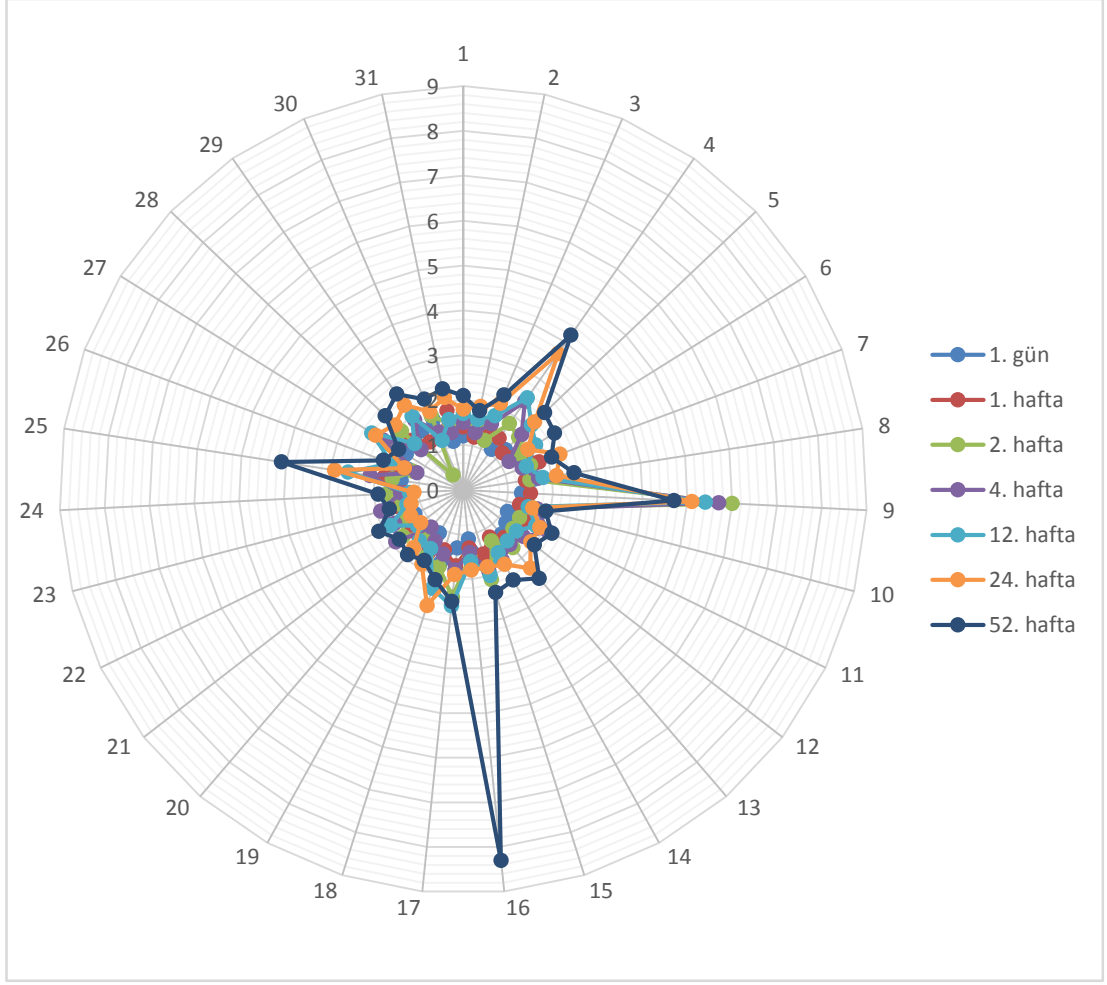
| TEST SONUÇLARI | FC-PRA TARAMA |     | FC-PRA TANIMLAMA |     | LUMINEX PRA TANIMLAMA |            |
|----------------|---------------|-----|------------------|-----|-----------------------|------------|
|                | SI            | SII | SI               | SII | SI                    | SII        |
| TH-1           | POZ           | NEG | NEG              | NEG | NEG                   | NEG        |
| TH-8           | POZ           | NEG | NEG              | NEG | NEG                   | NEG        |
| TH-12          | POZ           | NEG | NEG              | NEG | NEG                   | NEG        |
| TH-16          | POZ           | POZ | NEG              | NEG | %6<br>B8              | NEG        |
| TH-21          | NEG           | POZ | NEG              | NEG | NEG                   | %27<br>DQ2 |
| TH-31          | POZ           | POZ | -                | -   | NEG                   | %27<br>DQ2 |

Neg: Negatif, Poz: Pozitif, SI: Sınıf I, SII: Sınıf II

Çalışmamızdaki 31 hastanın nakilden sonra 52. haftaya kadar toplanan serumlarında sınıf I anti-HLA antikor taraması flow sitometrik PRA yöntemiyle yapılmış olup her flow PRA medyan değerindeki değişim haftalara göre Şekil 8 ve 8a'da verilmiştir.



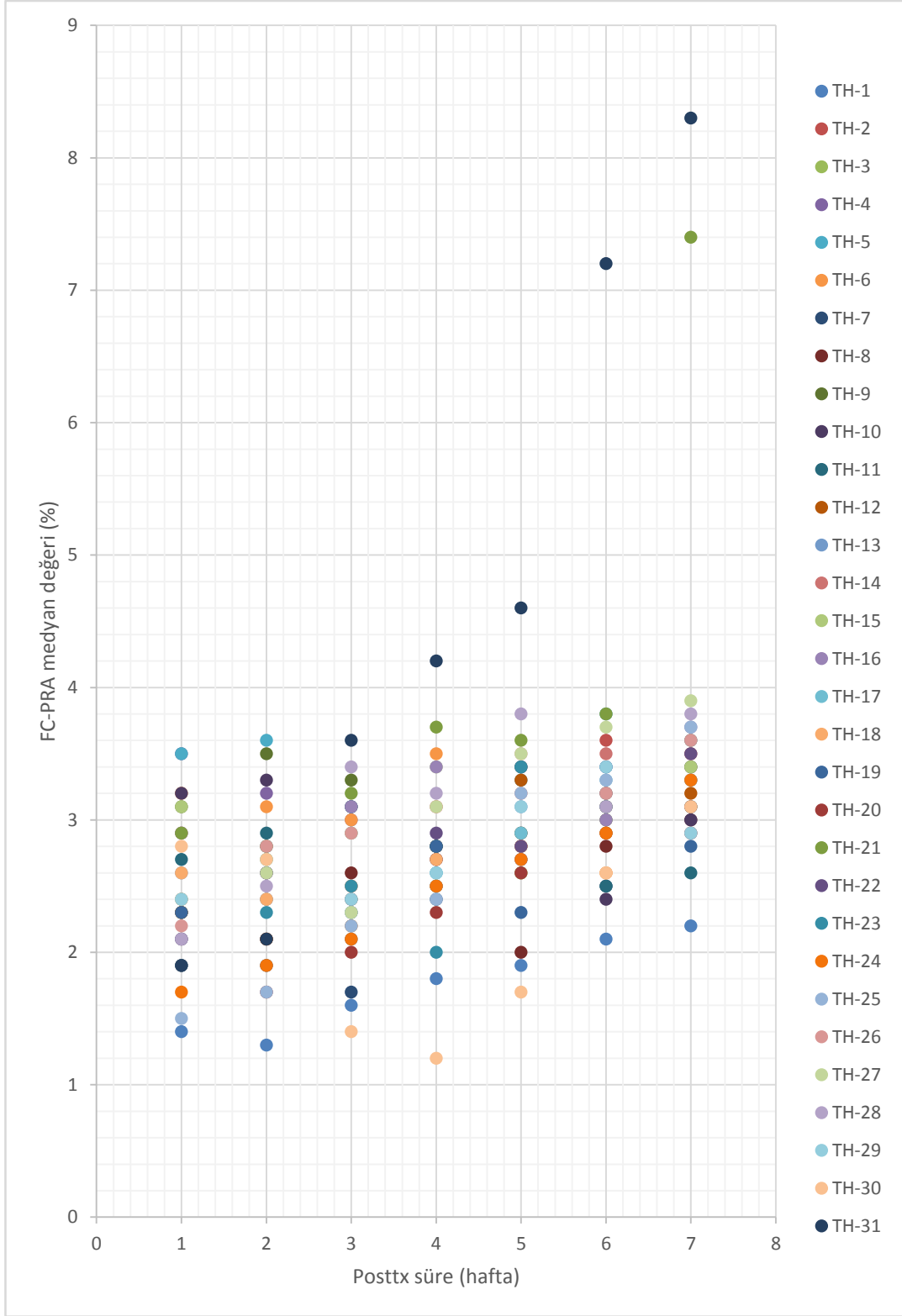
**Şekil 8** Sınıf I pozitif PRA hastaların pozitif bulunduğu nakil sonrası sürenin karşılaştırılması  
1: 1. gün, 2: 1. hafta, 3: 2. hafta, 4: 4. hafta, 5: 12. hafta, 6: 24. hafta, 7: 52. hafta



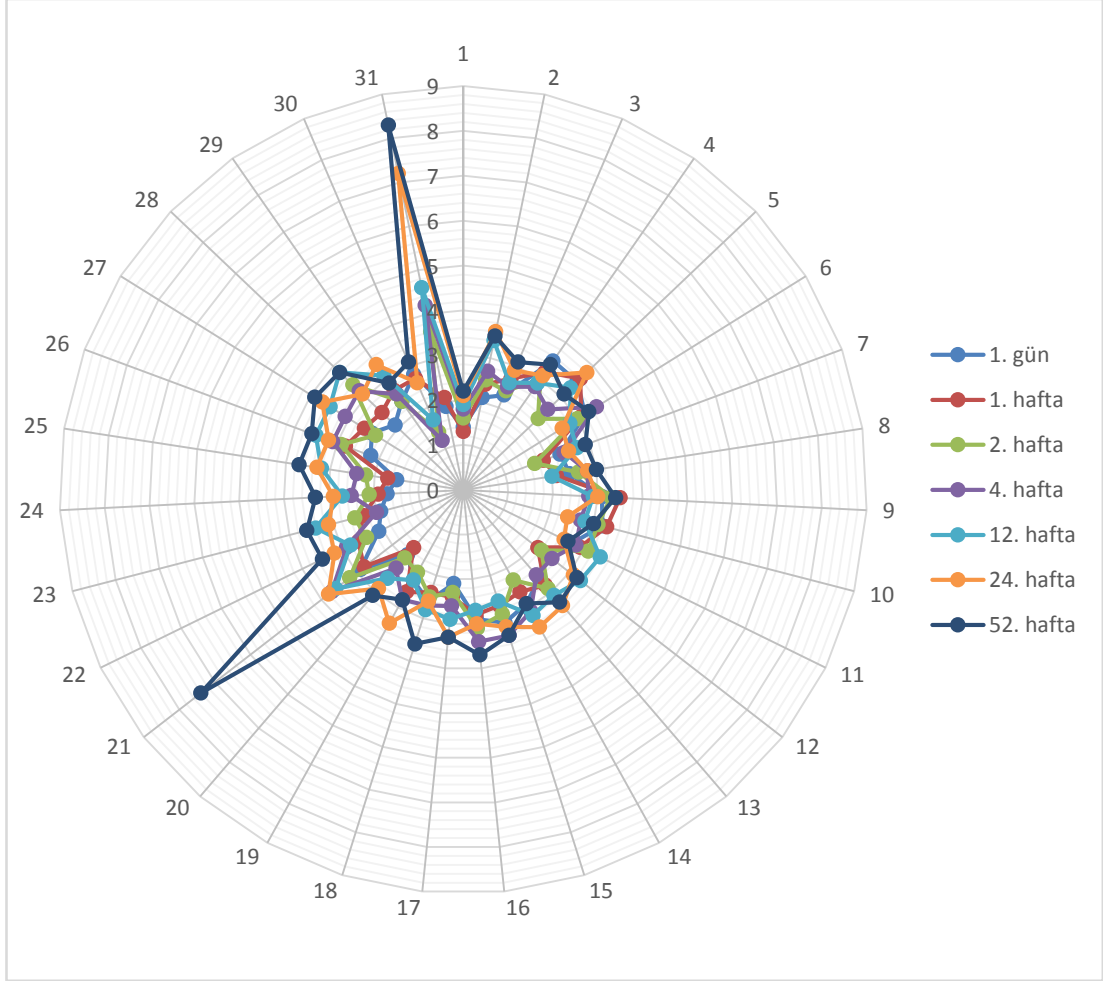
**Şekil 8a** Sınıf I pozitif PRA hastaların pozitif bulunduğu nakil sonrası sürenin karşılaştırılmasının radar tipi grafikte gösterimi

31 hastanın nakilden sonra 52. haftaya kadar toplanan serumlarında sınıf II anti-HLA antikor taraması da flow sitometrik PRA yöntemiyle yapılmış olup her flow PRA medyan değerindeki değişim haftalara göre Şekil 9 ve 9a'da verilmiştir.



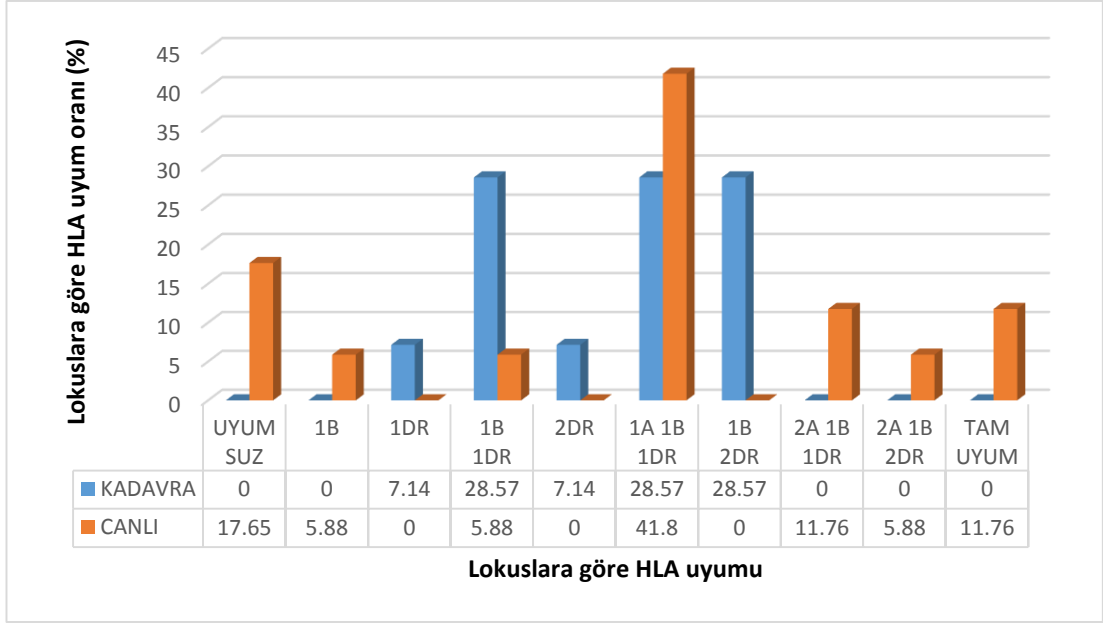


**Şekil 9** Sınıf II pozitif PRA hastaların pozitif bulunduğu nakil sonrası sürenin karşılaştırılması  
1: 1.gün, 2: 1. hafta, 3: 2. hafta, 4: 4. hafta, 5: 12. hafta, 6: 24. hafta, 7: 52. hafta



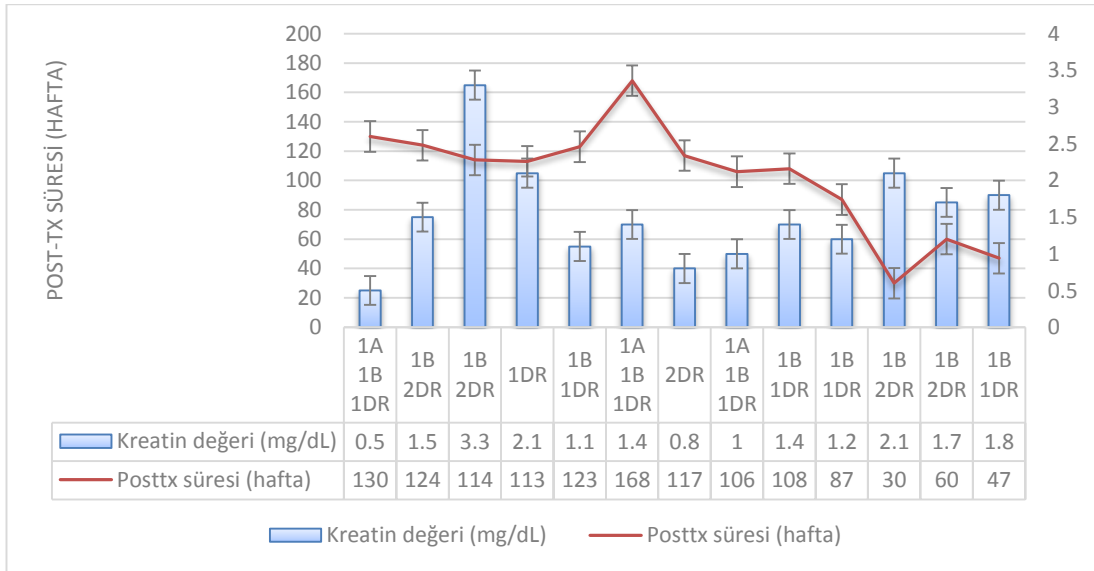
**Şekil 9a** Sınıf II pozitif PRA hastaların pozitif bulunduğu nakil sonrası sürenin karşılaştırılmasının radar grafikte gösterimi

Hasta-donör HLA doku uyumlarının dağılımı Şekil 10 'da verilmiştir. En fazla uyum oranı canlı donörden nakillerde haploidentik (1A1B1DR) uyum iken (%41,8; n=7) kadavra nakillerinde en yüksek oran 1B1DR (n=4), 1B2DR (n=4) ve 1A1B1DR (n=4) (%28,57) uyumu şeklindedir.

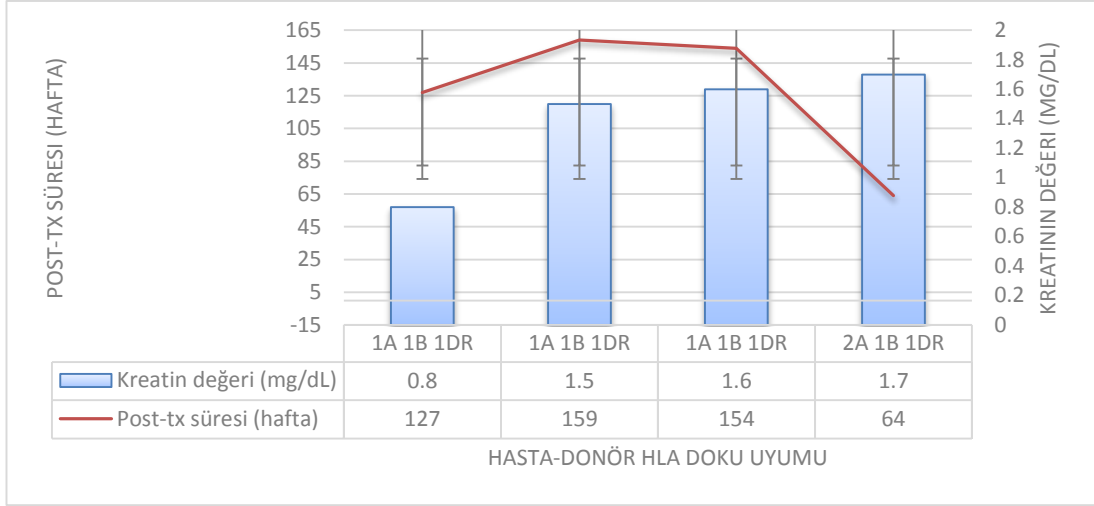


Şekil 10 Hastanın HLA doku tipi ile donörün doku tipinin lokus temelinde oranları

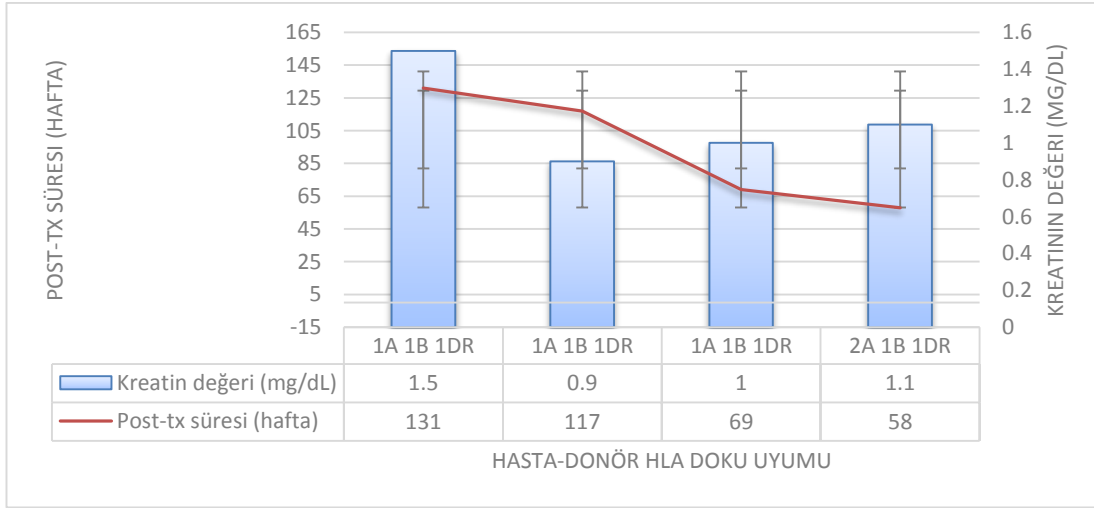
Hastaların nakil sonrasında alınan en son kreatinin değeri, örneğin alındığı süre (hafta) ve hasta-donör HLA doku uyumuyla ilişkilendirilerek her bir donör tipi için ayrı ayrı incelenmiştir. (Şekil 11,12,13,14,15,16).



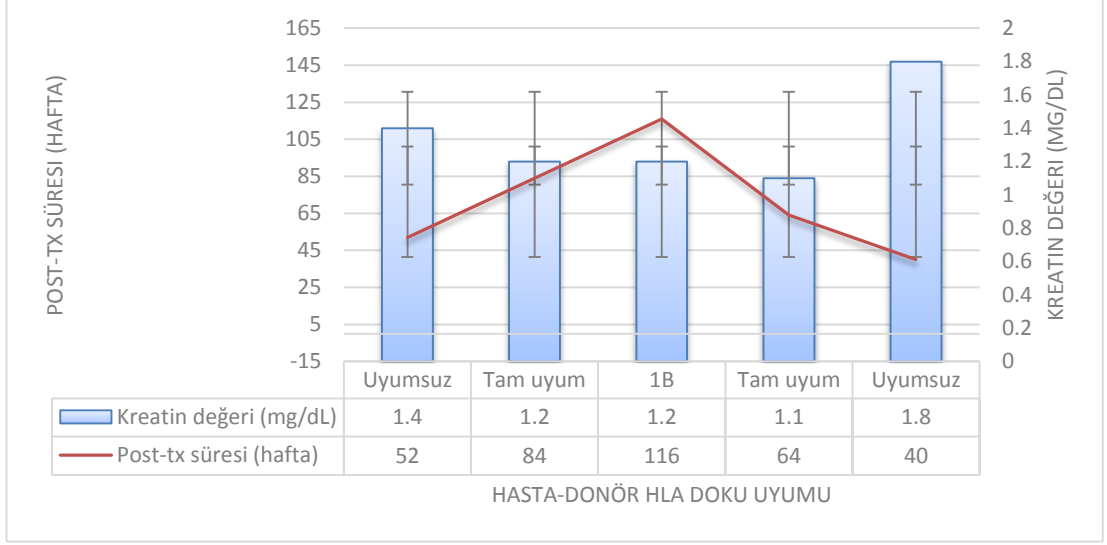
Şekil 11 Kadavradan nakil olan hasta grubundaki (n=13) post-tx süre ile HLA doku uyumlarının kreatinin değerleriyle ilişkisi



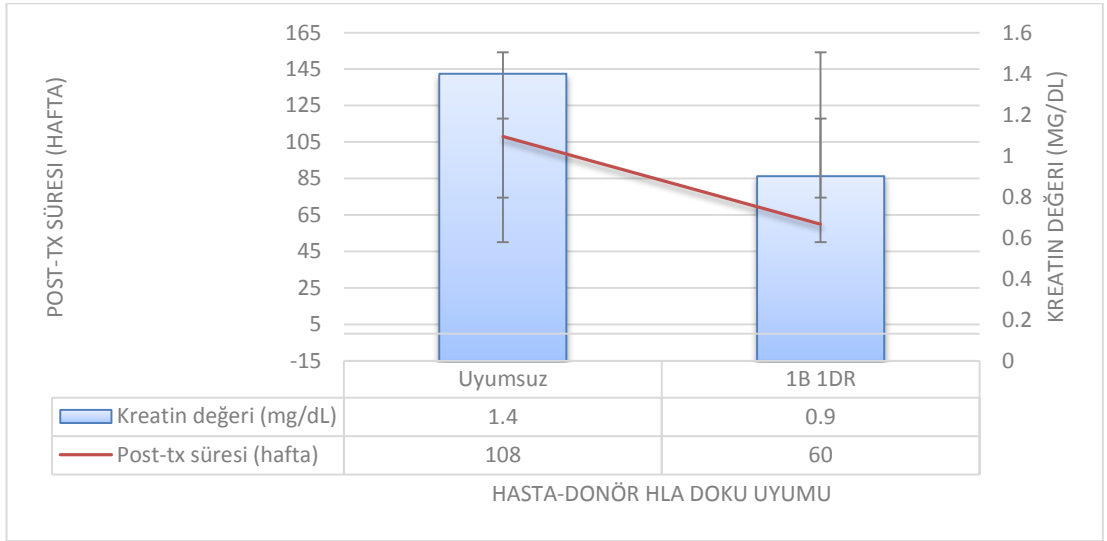
**Şekil 12** Annesinden nakil olan hasta grubundaki (n=4) post-tx süre ile HLA doku uyumlarının kreatinin değerleriyle ilişkisi



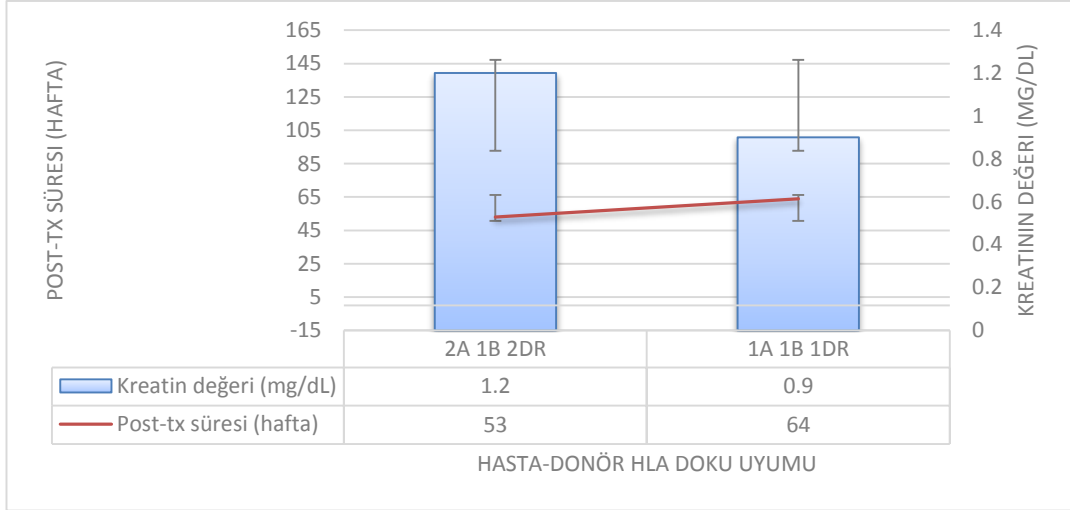
**Şekil 13** Babasından nakil olan hasta grubundaki (n=4) post-tx süre ile HLA doku uyumlarının kreatinin değerleriyle ilişkisi



**Şekil 14** Kardeşinden nakil olan hasta grubundaki (n=5) post-tx süre ile HLA doku uyumlarının kreatinin değerleriyle ilişkisi

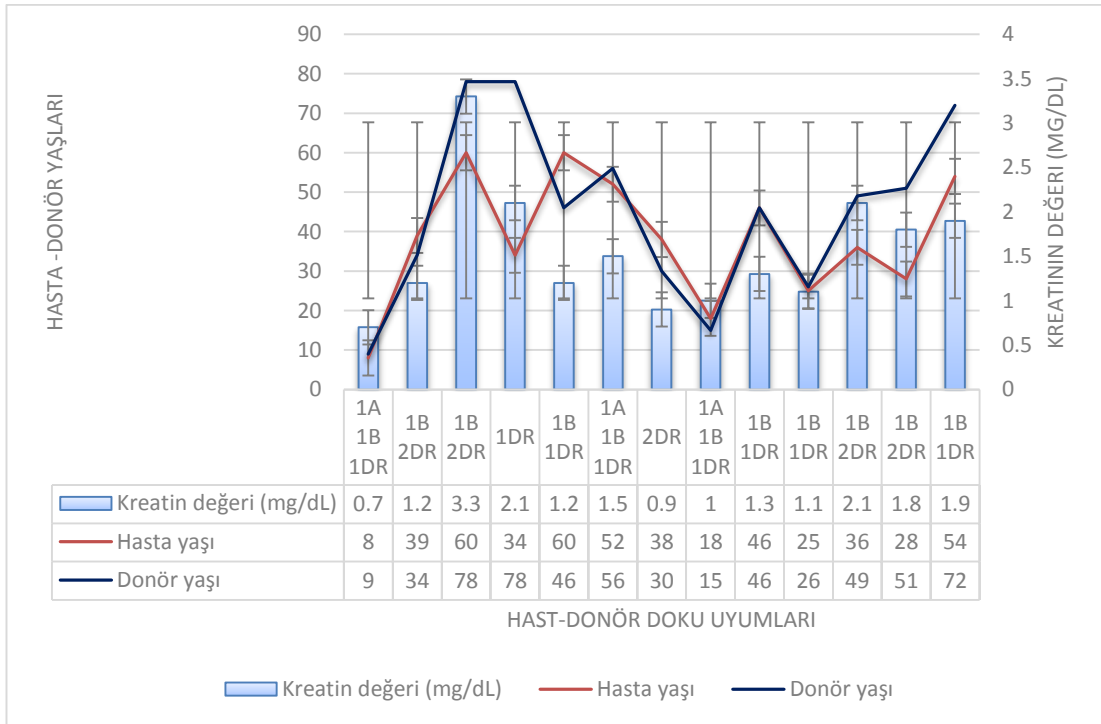


**Şekil 15** Eşinden nakil olan hasta grubundaki (n=2) post-tx süre ile HLA doku uyumlarının kreatinin değerleriyle ilişkisi

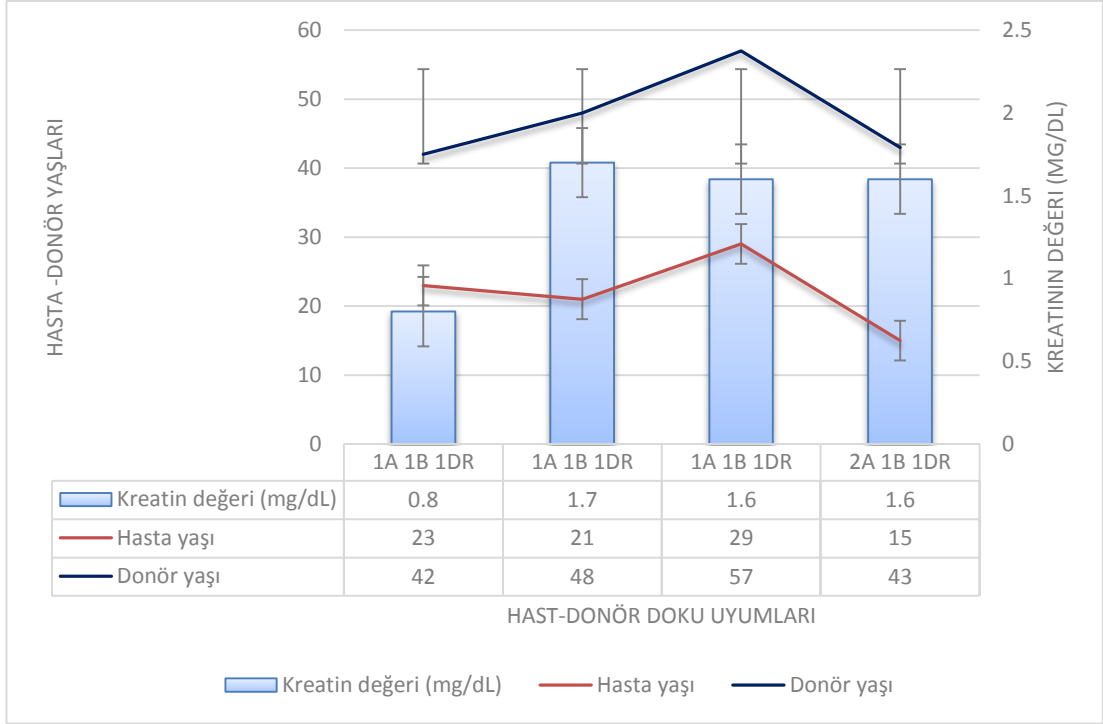


**Şekil 16** Diğer donörden nakil olan hasta grubundaki (n=2) post-tx süre ile HLA doku uyumlarının kreatinin değerleriyle ilişkisi

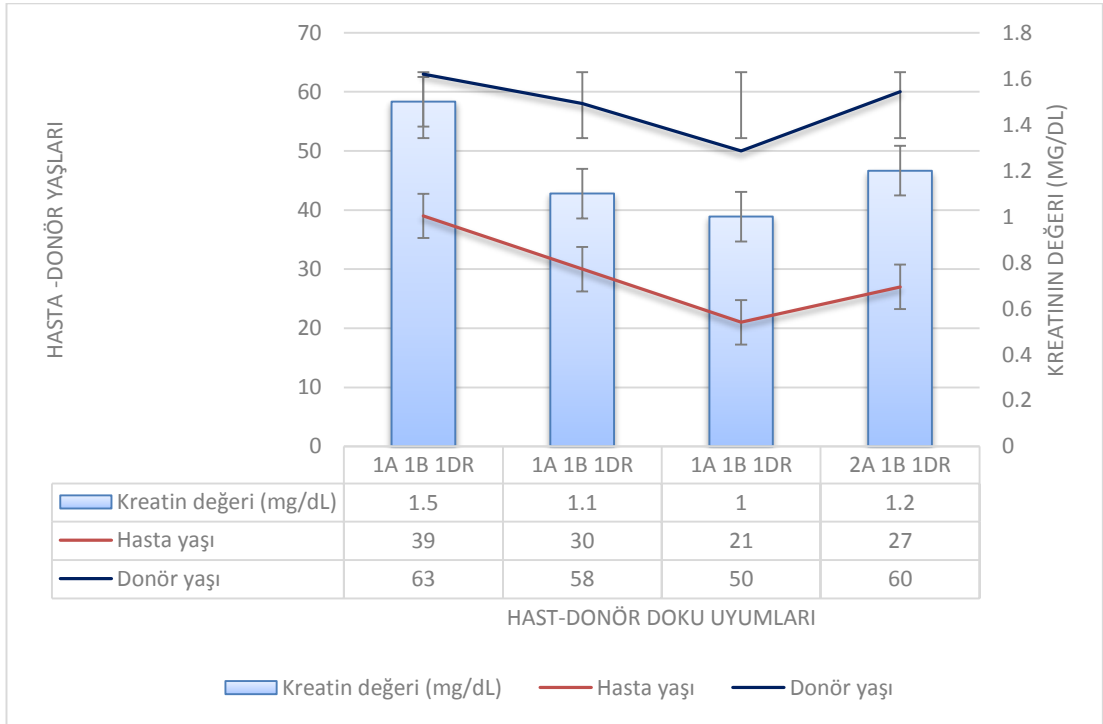
Hastaların nakilden sonra en son elde edilen kreatinin değerleri hasta ve donör yaşlarıyla HLA doku uyumu açısından değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular Şekil 17-22’de verilmiştir.



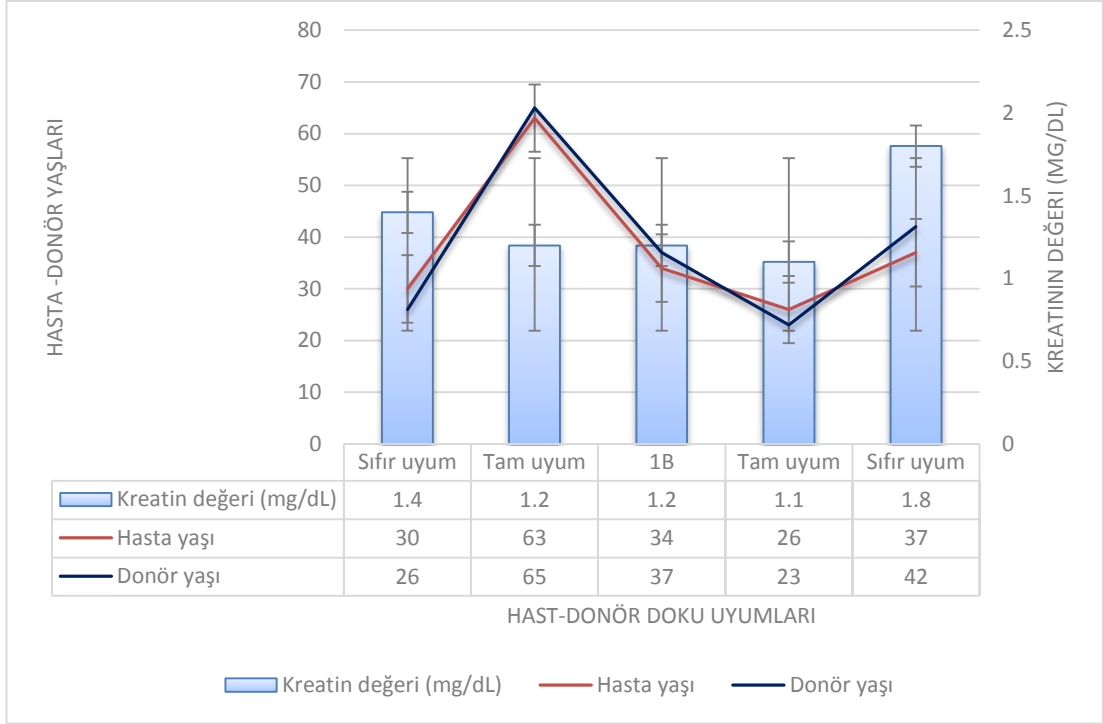
**Şekil 17** Kadavra donörden nakil olan hasta grubunda donör ve hasta yaşlarının kreatinin seviyeleri üzerindeki etkisiyle HLA doku uyumunun ilişkilendirilmesi



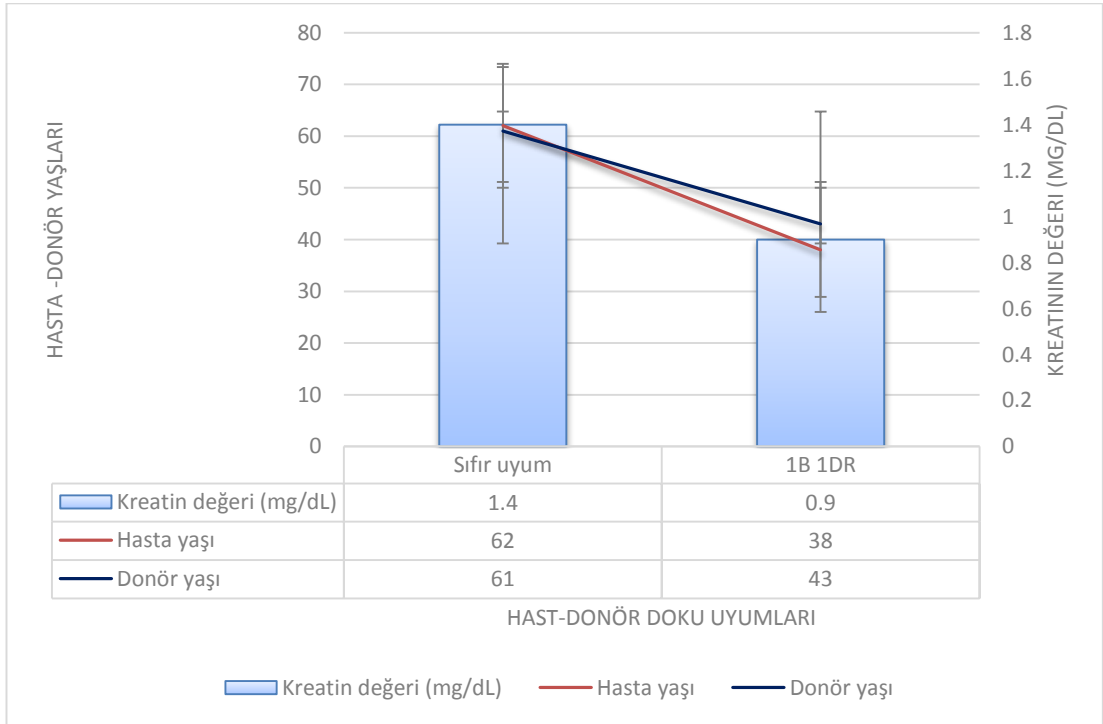
**Şekil 18** Annesinden nakil olan hasta grubunda donör ve hasta yaşlarının kreatinin seviyeleri üzerindeki etkisiyle HLA doku uyumunun ilişkilendirilmesi



**Şekil 19** Babasından donörden nakil olan hasta grubunda donör ve hasta yaşlarının kreatinin seviyeleri üzerindeki etkisiyle HLA doku uyumunun ilişkilendirilmesi

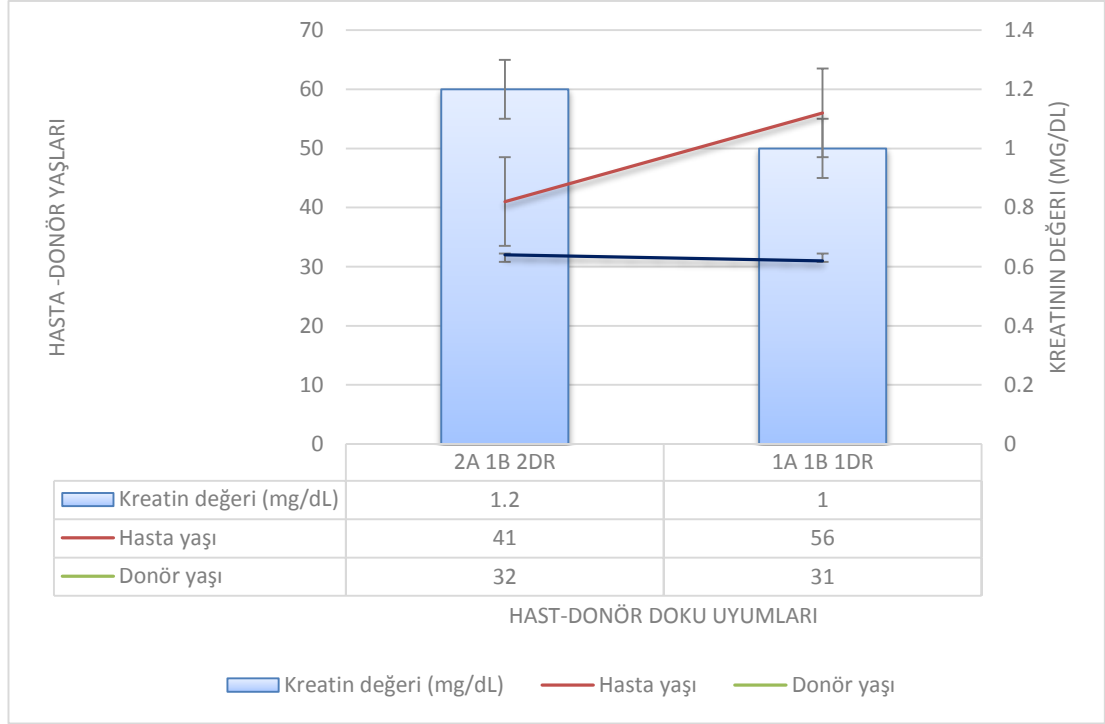


**Şekil 20** Kardeşinden nakil olan hasta grubunda donör ve hasta yaşlarının kreatinin seviyeleri üzerindeki etkisiyle HLA doku uyumunun ilişkilendirilmesi



**Şekil 21** Eşinden nakil olan hasta grubunda donör ve hasta yaşlarının kreatinin seviyeleri üzerindeki etkisiyle HLA doku uyumunun ilişkilendirilmesi





**Şekil 22** Diğer donörden nakil olan hasta grubunda donör ve hasta yaşlarının kreatinin seviyeleri üzerindeki etkisiyle HLA doku uyumunun ilişkilendirilmesi

Hastaların nakil sonrasında en son elde edilen kreatinin değerleri donör yaşlarıyla HLA doku uyumu arasındaki korelasyon Pearson korelasyon testi ile istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Elde edilen veriler Tablo 6’da gösterilmiştir. Buna göre  $p < 0,001$  ve korelasyon 0.644 olarak bulunmuştur.

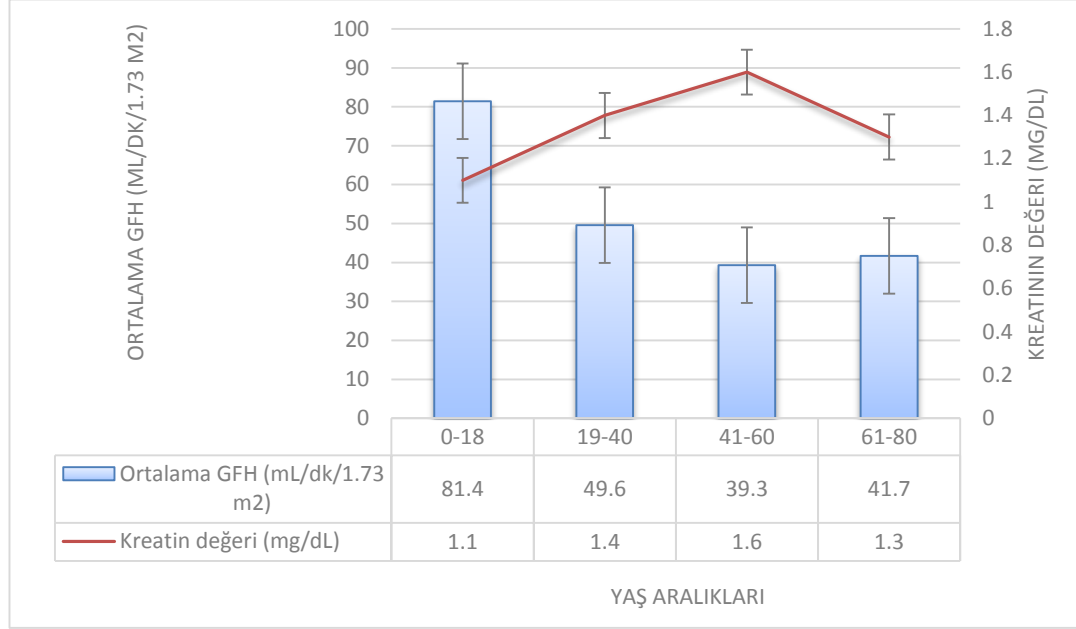
**Tablo 6** Hastaların kreatinin değerleriyle donör yaşlarının istatistiksel analizi

|                |                     | KREATİN | DONÖR YAŞI |
|----------------|---------------------|---------|------------|
| <b>KREATİN</b> | Pearson Korelasyonu | 1       | .644**     |
|                | p                   |         | <0,001     |
|                | N                   | 31      | 31         |

\*\*Korelasyon 0,01 seviyesinde anlamlıdır. N: hasta sayısı, p: olasılık (istatistiksel anlamlılık)

Hastaların nakil sonrasında yaşlarına göre hesaplanan ortalama tahmini GFH ve son serum kreatinin değerleri Şekil 23’de verilmiştir. 0-18 yaş aralığında n=3, 19-40 yaş aralığında n=19, 41-60 yaş aralığında n=7 ve 61-80 yaş aralığında n=2 hasta

bulunmaktadır. Buna göre en yüksek GFH değeri 0-18 yaş grubunda bulunurken en düşük GFH değeri 41-60 yaş grubunda bulunmuştur.



Şekil 23 Yaş aralıklarına göre GFH ve kreatinin değerlerinin dağılımı. GFH: Glomerüler Filtrasyon Hızı

Hastaların nakil sonrasındaki ortalama GFH'leri ile hasta yaş grupları arasındaki ilişki de istatistiksel olarak incelenmiştir (Tablo 7)

Tablo 7 Hastaların yaş aralıkları ile GFH ortalamaları arasındaki ilişki

|     |                     | GFH | hastayaşgrup |
|-----|---------------------|-----|--------------|
| GFH | Pearson Korelasyonu | 1   | -.494**      |
|     | p                   |     | <0,01        |
|     | N                   | 31  | 31           |

\*\*Korelasyon 0,01 seviyesinde anlamlıdır. N: hasta sayısı, p: olasılık (istatistiksel anlamlılık), GFH: Glomerüler Filtrasyon Hızı

Nakil sonrasında hastaların GFH'lerinin kreatinin değerleriyle arasındaki istatistiksel ilişki Tablo 8 'da gösterilmiştir.

**Tablo 8** Hastaların ortalama GFH ile kreatinin değerlerinin karşılaştırılması

|     |                     | GFH | KREATİN |
|-----|---------------------|-----|---------|
| GFH | Pearson Korelasyonu | 1   | -.714** |
|     | p                   |     | <0,001  |
|     | N                   | 31  | 31      |

\*\*Korelasyon 0,01 seviyesinde anlamlıdır. N: hasta sayısı, p: olasılık (istatistiksel anlamlılık), GFH: Glomerüler Filtrasyon Hızı

Canlı ve kadavra donörden nakil olan hastaların ortalama kreatinin değerleri de karşılaştırılmıştır (şekil 24).



**şekil 24** Kadavra ve canlı donörlerden nakil olan hastaların ortalama kreatininlerinin karşılaştırılması

## 5 TARTIŞMA

İmmün sistemin hümorale kolu ekstraselüler patojenlere karşı antikor üreterek koruma sağlar. Bu hümorale sistem aynı zamanda solid organ transplantasyonunda da önemli bir bariyerdir. Çünkü nakledilen organların üzerinde eksprese edilen karbonhidratları ve kendine ait olmayan proteinleri antikor aracılığıyla tanıyarak greft kaybına sebep olabilmektedir (25). Antikor aracılı rejeksiyon (AAR) hiperakut, akut veya kronik şekilde olabilir. Hiperakut AAR önceden yüksek titrede var olan donöre spesifik antikorlardan kaynaklanmakta olup greft hasarına yol açar ve birkaç saat içinde gelişir. Akut AAR birkaç gün sonra gelişen greft disfonksiyonuyla karakterizedir ve önceden var olan veya nakil sonrasında *de novo* oluşan donöre spesifik antikorlarla ilişkilidir. Bunun yanında biyopside genellikle endotelial hücre büyümesi, glomerulusa ve peritübüler kapillere nötrofil infiltrasyonu ve pozitif C4d boyamasıyla karakterizedir. Kronik AAR ise glomerüler mezengiyal genişleme, kapiller taban membranının duplikasyonu veya ayrılması, intersitisyel fibroz/tübüler atrofi ve arterlerde kalınlaşma ile karakterizedir (26). Nakil sonrasında immünsüpresör tedavisinin yetersiz gelmesinden kaynaklanabilmektedir (19).

Donör spesifik antikora bağlı olarak AAR klasik kompleman yolağının aktivasyonuna neden olur. Dolaşımdaki plazma hücreleri tarafından üretilen donör spesifik antikorlar donör peritübüler ve glomerüler kapillerinin endoteline bağlanır ve AAR'nin patolojik dizisini başlatır. C1q endotele bağlanan donör spesifik antikora bağlanır ve klasik kompleman yolağını başlatır. Tanı ise renal biyopsiyle peritübüler kapillerde C4 kompleman bileşeni (C4d) parçasının bulunmasıyla gerçekleşir ve bu, AAR'nin morfolojik olarak göstergesidir (26).

Son yıllardaki gelişmelerden bir tanesi de komplemana bağlanan (C1q testi) veya komplemanı aktive edici (C4d testi) HLA antikorlarıyla komplemana bağlanmayan veya aktive etmeyen HLA antikorlarını ayırd edebilen testlerin geliştirilmesidir (26). Yapılan çalışmalarla özellikle nakilden sonra *de novo* oluşmuş komplemana bağlanan donöre spesifik antikora (DSA) sahip olan hastalarda greft kaybı oranı diğerlerine oldukça yüksek bulunmuştur (26, 27).

CD30 molekülü ilk olarak Hodgkin's ve Reed Sternberg hücrelerinin yüzeyinde bulunmuş olup 120 kDa büyüklüğündeki bir glikoproteindir. Serumdaki çözünmüş CD30 (sCD30) molekülünün böbrek greft sonucunun öngörülmesinde bir biyomarker olarak kullanılabilceğini öne sürmüşlerdir (28). Daha sonraki çalışmalarda nakilden önce veya sonra serumdaki yüksek çözünebilir CD30 molekülünün kısa greft ömrüyle ilişkili olduğunu ve akut ile kronik rejeksiyon riskini arttırdığı gözlenmiştir (29). Buna karşın, Valke et al. (30) yaptıkları çalışmada sCD30 molekülünün akut rejeksiyon için biyomarker olarak kullanılmasının uygun olmadığını öne sürmüştür.

Bu çalışmada toplamda 31 böbrek nakli olmuş hastanın serumu nakil sonrası dönemde oluşabilecek anti-HLA antikorları bakımından incelenmiştir. Hastaların ortalama yaşı  $37,97 \pm 14,69$  iken ortalama donör yaşı  $45,84 \pm 17,33$  olarak bulunmuştur. Hastaların %51,6'sı nakil öncesinde diyalize girmemişken %45,2'si hemodiyalize, %3,2'si peritondiyalize girmiştir (Tablo 2). Nakil öncesinde alınan diyaliz tedavisinin tipinin nakil sonrasında greft ömrü üzerindeki etkisine ilişkin çalışmalar yapılmıştır. Bunlardan bir tanesinde diyaliz tipinin etkisinin bulunmadığı belirtilmiştir (31). Bizim çalışmamızda greft ömrüyle ilgili bir çalışma yapılmamıştır.

Çalışılan hastaların %35,5'i A Rh(+), %29'u 0 Rh(+), %19,4'ü B Rh(+), %6,5'i AB Rh(+) ve (-) ve %3,2'si A Rh(-)'tir. Donörlerin ise %48,4'ü 0 Rh(+), %22,6'sı A Rh(+), %12,9'u B Rh(+), %6,5'i A Rh(-) ve AB Rh(+) 'dir. Çalışma grubunun %32,2'sinde hasta-donör kan grupları birebir uyumludur.

Kan transfüzyonu, gebelik ve daha önceki nakiller gibi alloimmünizasyon olaylarının böbrek naklinden önce ve sonraki immünolojik değerlendirmelerde önemi bilinmektedir. Son yıllarda yapılan bir derlemede bu alloimmünizasyon öyküleri hiyerarşik bir sıralamaya sokulmuş olup eğer hastanın nakil öncesinde daha önceden bir nakli varsa nakil sonrasında de novo DSA oluşum olasılığının daha fazla olduğu ve bunu sırasıyla kan transfüzyonu ve gebeliğin izlediği belirtilmiştir (32). Bu çalışmadaki hastaların %3,2'sinin daha önceden nakil öyküsü varken (n=1), %41,9'unun kan transfüzyonu (n=13) ve %9,7'sinin gebelik öyküsü (n=3) bulunmaktadır. Hastaların %45,2'sinin herhangi bir alloimmünizasyon öyküsü bulunmamaktadır (Tablo 3).

Hastaların böbrek nakli öncesinde ve sonrasında değerlendirilmelerde hasta serumunda genel olarak anti-HLA antikorları bulunup bulunmadığını saptamak için flow

sitometrik PRA tarama ve tanımlama testleri yapılmaktadır (2). PRA testinin yanında, donöre spesifik antikor taraması için çaprazlama testleri yapılmaktadır (Flow sitometrik, kompleman bağımlı sitotoksik test, vb.). Hastalarımızın hepsine nakil öncesinde bu testler uygulanmış olup PRA ve çaprazlama testleri negatif bulunmuştur. Nakil sonrasında ise hastaların %12,9'u (n=4) sadece PRA sınıf I pozitif ve %6,45'i (n=2) PRA sınıf II pozitif bulunurken %87,1'i (n=27) PRA sınıf I negatifken %93,5'i (n=29) sınıf II negatif bulunmuştur. Hastaların yaklaşık %71'i PRA sınıf I ve II negatif bulunmuştur (n=22) (Tablo 4). Hastaların PRA sonuçlarıyla kreatinin değerleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ( $p>0,05$ ). Yapılan bir çalışmada anti-HLA antikoruna sahip hastalarda daha yüksek kreatinin seviyeleri gözlenmiş ve bu sonuç istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur (33). Bunun sebebi hasta sayılarının  $>100$  olmasıdır.

PRA sınıf I pozitif olan hastaların %100'ünde (n=4) 52. haftada, %50'sinde (n=2) 24. haftada ve %25'inde (n=1) 12. haftadan önce anti-HLA antikorları saptanmıştır. PRA sınıf II pozitif olan hastaların %100'ünde (n=2) 52. haftada ve %50'sinde (n=1) 24. haftada anti-HLA antikorları saptanmıştır (Şekil 8,8a,9,9a). Bu sonuçlara göre anti-HLA antikorlarının çoğunlukla 24. hafta ve sonrasında oluştuğu bulunmuştur. Ancak hasta sayıları 5'ten az olduğu için istatistiki olarak değerlendirilememiştir. Zhang et al (34) yaptıkları çalışmada hastalarının yaklaşık 3 aydan sonra anti-HLA antikoru geliştirdiğini rapor etmiştir. Bu çalışmadaki bulgular da bunu desteklemektedir. PRA tanımlama testi sonucuna göre de oluşan anti-HLA antikorların donöre spesifik olmadığı (non-DSA) tespit edilmiştir. Yapılan araştırmalarda nakil sonrasında oluşan de novo antikorların donöre spesifik olması veya olmaması da greft hasarı üzerinde etkisi olduğu bulunmuştur. Donöre spesifik antikoru olanların yaklaşık 1 yıl içerisinde grefti kaybettiği belirtilmektedir (35). Bizim hastalarımızda greft rejeksiyonu rapor edilmemiştir. Bunun sebebi hastalarda non-DSA antikor gelişmesi olabilir.

PRA sınıf I pozitif olan hastalar farklı donör tiplerinden nakil olmuşlardır ve %75 oranında hasta-donör arasında 1A1B1DR uyumu bulunmaktadır. PRA sınıf II pozitif olan hastaların ikisi de kardeşinden nakil olmuştur (Tablo 4). PRA sonuçlarıyla donör tipleri veya HLA doku uyumları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir sonuç elde edilememiştir. PRA sınıf I pozitif çıkan hastalara yapılan tanımlama sonuçlarına

göre sadece bir tanesinde donöre spesifik antikor bulunmuştur (TH-4, A32). Sınıf II pozitif çıkan hastalar için bu yorum yapılamamıştır çünkü bu hasta ve donörler sadece HLA-A, -B ve -DR lokusları bakımından değerlendirilirken hastaların HLA-DQ tipi çalışılmadığından değerlendirilememiştir. Aslında son yıllarda yapılan çalışmalar HLA DR uyumunun yanında DQ uyumlarının nakil sonrasında de novo DSA'ların oluşmasında katkısı olabileceğini öne sürmektedir (32). Ülkemizde de böbrek nakli olacak olan hastaların HLA-A, -B, -DR, DQ olacak şekilde HLA doku tiplerinin çalışılması önerilebilir.

Solid organ nakillerinin başarılı bir şekilde sonuçlanmasında gelişmiş immünsüpresif tedavilerin etkisi büyüktür. Günümüzde bu amaçla kortikosteroidler (Prednizolon vb.), anti-proliferatifler (Mikofenolat mofetil, mofenolik asit, vb.), kalsinörin inhibitörleri (Siklosporin, Takrolimus, vb.), TOR inhibitörleri (Sirolimus, Everolimus, vb.), poliklonal anti-lenfosit antikorları (ALG, ATG, ALS, vb.) ve monoklonal antikorlar (Muromonab-CD3, Basiliximab, Daclizumab, vb.) kullanılmaktadır. Bu ilaçlar genellikle üçlü kombinasyonlar halinde kullanılmaktadır (4). Birçok çalışmada da nakil sonrasında çeşitli immünsüpresif tedavileri tartışılmıştır (35, 27, 20). Böbrek nakli sonrasında bu çalışmadaki hastaların %48,4'ü Mikofenolat mofetil-Prednizolon-Takrolimus (n=15), %25,8'i Mikofenolat sodyum-Prednizolon-Takrolimus (n=8), %9,7'si Mikofenolat mofetil-Prednizolon-Siklosporin A (n=3), %6,5'i Mikofenolat mofetil-Prednizolon-Sirolimus (n=2) ve Mikofenolat sodyum-everolimus-Prednizolon (n=2) ve %3,2'si Mikofenolat sodyum-Prednizolon-Siklosporin A (n=1) tedavisi almıştır (Tablo 4). Hastaların böbrek nakli sonrasında kullandığı ilaçlarla PRA sonuçları arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Bunun yanında kullanılan ilaçlarla hastaların kreatinin değerleri arasında da anlamlı ilişki bulunamamıştır. Bu hasta sayısının az olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Son yıllarda anti-HLA antikorlarının saptanma yöntemlerine ilişkin çok fazla çalışma yapılmıştır. Bu yöntemler solid faz yöntemleri olup duyarlılıkları ve spesifiteleri yönünden birçok çalışmada karşılaştırılmıştır. Yapılan bir çalışmada Luminex teknolojisi CDC ve ELISA yöntemleriyle karşılaştırılmış ve Luminex teknolojisinin en duyarlı olduğu belirtilmiştir (36). Bizim çalışmamızda da bütün hastalar flow sitometrik PRA tarama yöntemiyle test edilmiştir. Pozitif çıkan hastalarda flow sitometrik PRA tanımlama yöntemiyle spesifik olarak hangi anti-HLA

anitkorunun var olduğu saptanmıştır. Ancak flow sitometri PRA tarama yöntemiyle pozitif bulunan hastaların bazıları flow sitometrik PRA yöntemiyle negatif bulunmuştur. Bu sebeple de bu hastaların testleri Luminex yöntemiyle tekrar edilmiştir ve sonuçlar analiz edilmiştir (Tablo 5). Sonuç olarak bizim çalışmamızda da Luminex testi Flow sitometri ile sonuç elde edilemeyen örneklerde sonuç vermiştir. Ancak istatistik olarak değerlendirilebilmesi için çok daha fazla örneğin karşılaştırılması gerekmektedir.

Donöre spesifik antikörlerin saptanması için geliştirilen bir çok yöntemle rağmen böbrek transplantasyonunda hasta ile donör arasındaki HLA doku tipi uyumu oldukça önemlidir. Hasta-donör HLA doku tipi uyumları karşılaştırıldığında kadavra donörden nakillerde en fazla görülen uyum 1B1DR, 1B2DR ve 1A1B1DR'dir (Şekil 10). Kadavra donörden nakillerde tam uyum (2A2B2DR uyumu) bulunmazken canlı donörlerde tam uyum oranı %11,76'dır. Canlı donörden nakillerde ise en fazla uyum haploidentik (1A1B1DR, %41,18) uyumdur. Hastaların nakil sonrasındaki dönemde 2014 ve 2015 yıllarında ölçülen serum kreatinin değerleriyle nakil sonrasındaki süre ve HLA doku uyumları arasındaki ilişkiler analiz edilmiştir (Şekil 11-16). Kadavradan, annesinden, kardeşinden ve diğer donörlerden nakil olan hasta gruplarının verilerine göre en uzun süredeki kreatinin değeri en yüksek olan değildir. Bu grup açısından nakil sonrasında geçen süre ile kreatinin değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir korelasyon görülmemiştir. Bu çalışmada değerlendirilen hastalar 24-36 aydır takip edilmektedir. Bu hastaların daha uzun dönemde de takipleri yapıp greft sağkalımları irdelenebilir (37). Hariharan ve ark. (38)'nin 1988 ve 1998 yılları arasında yaptıkları çalışma sonucunda ilk 6 aydaki kreatinin değerlerinin uzun greft ömrü üzerinde önemli derecede etkili olduğunu belirtmişlerdir. Bu farklılık hasta sayılarının >100.000 olmasından kaynaklanmaktadır. Buna karşın bu çalışmadaki babasından nakil olan hasta grubunda en yüksek kreatinin değeri en uzun nakil sonrası dönemde bulunmuştur. Eşinden nakil olan grupta da en uzun sürede en yüksek, en kısa sürede en düşük kreatinin değerleri bulunmuştur. Ancak bu gruplardaki hasta sayısı <5 olduğundan istatistiksel değerlendirme yapılamamıştır.

Uzun süreli greft ömrü üzerinde etkisi olduğu bilinen bir diğer parametre de donör yaşıdır (38). 31 hastanın en son elde edilen kreatinin değerleriyle donör yaşları arasında istatistiksel olarak pozitif ilişki bulunmuştur ve aralarındaki ilişki anlamlıdır



( $p < 0,001$ ) (Tablo 6). Donör yaşı arttıkça kreatinin değerinin de arttığı gözlenmiştir. Bununla ilgili yapılan bir çalışmada kreatinin klirensi ve Glomerüler Filtrasyon Hızı (GFH) da ele alınarak 7 gün sonraki greft fonksiyonları üzerinde donör yaşının etkisine bakılmış ancak istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (39).

Bu çalışmada aynı zamanda hasta ve donör yaşlarının HLA doku uyumları da göz önüne alınarak, kreatinin seviyeleri üzerindeki etkisi donör tipine göre incelenmiştir (Şekil 17-22). Kadavradan nakil olan hasta grubunda hasta yaşı en yüksek olan hastalardan bir tanesinin kreatinin değeri en yüksek bulunurken yaşı aynı olan diğer bir hastanın kreatinin değeri oldukça düşüktür. Bunun sebebi de donör yaşına bağlı gözükmektedir. Çünkü kreatinin değeri en yüksek bulunan bu hastanın donörü de en yaşlı donördür. Aynı yaştaki donörün alıcısının kreatininini ise diğerine göre daha düşüktür. Bu da hastanın kendi yaşının düşük olmasına bağlı olabilir. Her ne kadar en yaşlı grubundan kreatinin değerleri düşük olsa da serum kreatinin değeri  $>1.2$  mg/dL istenmeyen bir durumdur. İkinci en yaşlı donörün alıcısının kreatinin değeri 2.1 mg/dL'dir. Genel olarak şekilde (Şekil 17) donör ve hasta yaşının kreatinin değerleri üzerinde etkisi olduğu görülebilmektedir ancak hasta sayısına bağlı olarak istatistiksel olarak değerlendirilememiştir. Annesinden nakil olan grupta da donör yaşıyla kreatinin değeri arasında anlamlı bir ilişki olduğu görülmektedir. En yaşlı anneden nakil olan hastanın kreatininini en yüksek olanıdır. En genç anneden nakil olan hastanın kreatininini en düşük olanıdır. Bu grupta hasta yaşlarıyla kreatinin arasında bir korelasyon bulunmamaktadır. Babasından nakil olan grupta ise en yaşlı hasta en yaşlı babadan nakil olmuşken en genç hasta da en genç babadan nakil olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle de en yaşlı olan hastada kreatinin değeri en yüksek, en genç olanda ise en düşük olarak bulunmuştur. Kardeşinden nakil olan hasta grubunda donör ve hasta yaşlarıyla kreatinin arasında anlamlı bir ilişki gözlenememiştir. En yaşlı donörden yine en yaşlı hasta nakil olmuştur ve buna rağmen kreatinin değeri çok yüksek değildir (1,2 mg/dL). Bunun sebebi diğer bir parametre olan HLA doku uyumu olabilir. Bu çiftin HLA tipleri tam uyumludur. Bu sebeple de donör veya hasta yaşı kreatinin değerlerini çok fazla etkilememiş olabilir. Eşinden nakil olan hasta grubunda da donör ve hasta yaşlarıyla kreatinin değeri arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Yaşlı olan çiftteki hastanın kreatinin değeri daha yüksek iken, genç olan çiftteki hastanın kreatinin değeri

daha düşüktür. Diğer donörlerden nakil olan hasta grubunda anlamlı bir sonuç bulunamamıştır.

Nakil öncesinde veya sonrasında böbrek fonksiyonları değerlendirilirken serum kreatinin değerleri oldukça önemlidir ancak tek başına yeterli bir parametre değildir. Çünkü kreatinin değerlerinin normal aralıkta olması böbrek fonksiyonunun da normal çalıştığını her zaman göstermemektedir. Serum kreatinin değerleri farklı parametrelerden etkilendiğinden dolayı GFH hesaplanırken de bu parametreler göz önünde bulundurulur. Bu sebeple GFH böbrek fonksiyonunun en iyi göstergesidir. Böbrek fonksiyonları azaldığında henüz semptomlar görülmeden önce GFH'de azalma başlar (24). Bu çalışmadaki hastaların yaklaşık ortalama tahmini GFH'si  $62,4 \pm 27,5$  (ml/dk/1,73m<sup>2</sup>) ve ortalama kreatinin değeri  $1,4 \pm 0,5$  (mg/dL) olarak bulunmuştur. Yaş aralıklarına göre GFH istatistiksel açıdan değerlendirildiğinde aralarındaki ilişki anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,01$ ). Buna göre hastaların yaşları arttıkça ortalama GFH'leri de azalmıştır (Tablo 7, Şekil 23). Hastaların yaş aralıklarının yanında bir de hasta kreatinin değerleriyle de GFH ilişkisi incelenmiştir ve istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunmuştur ( $p < 0,001$ ) (Tablo 8). Yapılan bir çalışmada da yine MDRD ve aMDRD denklemlerine göre hesaplanmış olan GFH'lerin yaş, kreatinin ve kreatinin klirensiyle ilişkisine bakılmış ve belirli yaş aralıklarında istatistiksel açıdan anlamlı ilişkileri olduğu bulunmuştur (24).

Canlı ve kadavra donörden nakil olmuş olan hastaların da ortalama serum kreatinin değerleri karşılaştırılmıştır. Buna göre istatistiksel açıdan anlamlı bir sonuç elde edilmemesine ( $p > 0,05$ ) rağmen kadavra donörden nakil olan hastaların kreatinin seviyeleri daha yüksek bulunmuştur (Şekil 24). Bunun sebebi de böbrek çıkarıldıktan sonra soğuk iskemi süresinin uzun sürmesi olabilir. Bununla ilgili yapılmış olan çalışmada soğuk iskemi süresinin daha yüksek kreatinin değerleriyle ilişkili olduğu bulunmuştur (40).

Sonuç olarak, son yıllarda donör yaşı, hasta yaşı, hastaların serum kreatinin değerleri ve GFH değerleri ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada da donör yaşı ile kreatinin değerleri, ortalama GFH değerleriyle hasta yaşları ve ortalama GFH değerleriyle kreatinin değerleri arasında beklenildiği gibi anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Bu sonuçlarla diğer çalışmalar da desteklenmiştir. Ancak yine de daha çok sayıda hasta-donör çifti dahil edilerek çalışma genişletilip diğer donör

merkezlerini de içine alarak veri tabanı oluşturulabilir. Bunun yanında, İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde nakil olan hastaların nakil sonrasındaki serumlarının belirli aralıklarla toplanıp saklanması pilot olarak uygulanmaktadır. Bu uygulamanın sadece bu hastanede değil bütün böbrek nakli olan hastalara uygulanmasının daha doğru olacağı görüşüne varılmıştır. Bu çalışmadaki hastaların bir kısmında donöre spesifik anti-HLA antikoru saptanmıştır. Bu testlerin nakil sonrasında belirli aralıklarla da yapılması önerilmektedir. Bu sayede hastaların immünsüpresif tedavileri daha doğru seçilebilir ve ileriye dönük greft ömrü uzatılabilir. Organ naklinde başarının 5 yıl greft sağkalımı olduğu düşünüldüğünde, nakil sonrası takipler bu başarıya ulaşılmasına katkı sağlayacaktır.

## ÖZET

### **Böbrek Nakli Olan Hastalarda Nakil Sonrasında Oluşan Anti-HLA Antikorlarının Saptanması**

Bu çalışmada İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde kadavra ve canlı donörden böbrek nakli olan hastaların nakil sonrasında haftalara göre toplanan serum örneklerinde hastanın grefte karşı immünolojik cevabının anti-HLA antikor mevcudiyetine bakarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bunun için 31 hastanın böbrek nakillerinden sonra bir yıl boyunca 1. gün, 1. hafta, 2. hafta, 4. hafta, 12. hafta, 24. hafta ve 52. haftalarda toplanmış olan serumlarında anti-HLA antikor tarama ve tanımlama testleri flow sitometri yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemle değerlendirilemeyen hastalar ise Luminex yöntemiyle doğrulanmıştır. Bu hastaların %12,9'u sadece sınıf I, %6,45'i ise sadece II PRA pozitif bulunmuştur. Hastaların hiçbirisi PRA sınıf I ve II pozitif bulunmamıştır. Hastaların %87,1'i PRA sınıf I negatif bulunurken, %93,5'i PRA sınıf II negatif bulunmuştur. Donör yaşı ile hastaların kreatin değerleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur ( $p<0,001$ ). Hastaların yaş aralıklarına göre GFH istatistiksel açıdan değerlendirildiğinde aralarındaki ilişki anlamlı bulunmuştur ( $p<0,01$ ). Bu çalışmadaki hastaların yaklaşık ortalama GFH'si  $62,4\pm 27,5$  (ml/dk/1,73m<sup>2</sup>) ve ortalama kreatinin değeri  $1,4\pm 0,5$  (mg/dL) olarak bulunmuştur. Ortalama GFH değerleri ile kreatinin değerleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur ( $p<0,001$ ). Greft ve hastanın doku uygunlukları açısından değerlendirildiğinde canlı donörden nakil olan hastalar için en fazla görülen uyum 1A1B1DR şeklinde (%41,8, n=7) ve kadavradan nakil olan hastalar için en fazla görülen uyum 1B1DR (%28,57, n=4), 1B2DR (%28,57, n=4) ve 1A1B1DR (%28,57, n=4) şeklinde bulunmuştur. Greft naklini takiben 1. gün, 1., 2. ve 4. haftalarda greftteki uyumsuz antijenlere karşı antikor oluşmazken 12. haftadan sonra bazı hastalarda oluştuğu bulunmuştur.

**Anahtar sözcükler:** böbrek nakli , DSA, flow sitometri, PRA

## ABSTRACT

### **Detection of Anti-HLA Antibodies Produced in Renal Transplanted Patients After Transplantation**

In this study, it was aimed to evaluate the immunological response to graft in their sera samples collected during post-transplantation term from patients transplanted from deceased or alive donors in Izmir Tepecik Education and Research Hospital in terms of anti-HLA presence. Anti-HLA antibody screening and identification tests were performed by flow cytometry in the sera samples collected from the patients after kidney transplantation on 1st day, 1st, 2nd, 4th, 12th, 24th and 52nd weeks. The samples which were not assessed by flow cytometric methods were analyzed by Luminex method. 12.9% and 6.45% of the patients were only class I and II positive, respectively. None of the patients was class I and II positive. 87.1% and 93.5% of the patients were negative. There was a statistically significant relation between donor age and creatinine of the patients ( $p < 0.05$ ). There was also a significant relationship between GFR and patient age groups ( $p < 0.01$ ). The mean GFR of the patients was approximately  $62.4 \pm 27.5$  (ml/m/1,73m<sup>2</sup>) and the mean creatinine value of them was  $1.4 \pm 0.5$  (mg/dL). There was a significant relation between the average GFR and creatinine values of the patients ( $p < 0.001$ ). When the patients were evaluated according to their tissue compatibility with the graft, it was found that the most frequently observed compatibilities were 1A1B1DR (41%, n=7) for the patients transplanted from related donor and 1B1DR (%28.57, n=4), 1B2DR (%28.57, n=4) and 1A1B1DR (%28.57, n=4) for the patients transplanted from deceased donor. It was found that antibodies were not produced against mismatched antigens on 1st day, 1st, 2nd and 4th weeks after transplantation, while they were produced in some cases 12 weeks after transplantation.

**Keywords:** DSA, flow cytometry, kidney transplantation, PRA

## KAYNAKLAR

1. Ayna TK, Çalışkan Y, Şentürk Çiftçi H, Türkmen A, Gürtekin M. Lon-term Effects of Antibodies Against Human Leukocyte Antigens Detected by Flow Cytometry in the First Year after Renal Transplantation. *Balkan Med J* 2013; 30: 37-45
2. Kurtulmuş Y, Ayna TK, Soyöz M, Özyılmaz B, Tanrısev M, Afacan G, Çolak H and Pirim İ. Comparison of Anti-HLA Antibodies of Kidney Transplant Candidates with Chronic Renal Failure by Two Different Methods: Flow-PRA and Luminex PRA. *Transplant Proceed* 2013; 45: 875-877
3. Ayna TK, Ciftci HS, Isitmangil G, Gurtekin M and Carin M. Flow Cytometric Crossmaching and Panel-Reactive Antibodies in Chronic Renal Failure Patients. *Transplant Proceed* 2011; 43, 805–808
4. Taylor AL, Watson CJE, Bradley JA. Immunosuppressive Agents in Solid Organ Transplantation: Mechanisms of Action and Therapeutic Efficacy. *Crit Rev Oncol Hematol* 2005; 56: 23–46
5. WEB\_1 (12 ŞUBAT 2015). Medline Plus. <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/000471.htm> (01.03.2015)
6. Yalçın AU, Akpolat T. Kronik Böbrek Yetmezliği. *Türk Nefroloji Derneği*, [http://www.tsn.org.tr/folders/file/kronik\\_bobrek\\_yetmezligi.pdf](http://www.tsn.org.tr/folders/file/kronik_bobrek_yetmezligi.pdf) (01.03.2015)
7. Choo S.Y. The HLA system: Genetics, Immunology, Clinical Testing, and Clinical Implications. *Yonsei Med J* 2007, 48:11-23
8. Cassinotti A, Birindelli S, Clerici M, Trabattoni D, Lazzaroni M, Ardizzone S, Colombo R, Rossi E, and Bianchi Porro G. HLA and Autoimmune Digestive Disease: A Clinically Oriented Review for Gastroenterologists. *Am J Gastroenterol* 2009; 104:195 – 217
9. Goldsby RA, Kindt TK, Osborne BA and Kuby J. Major Histocompatibility Complex. In Goldsby RA, Kindt TK, Osborne BA and Kuby J, *Immunology* (5th ed). W.H. Freeman and Company, New York, 2003:p161-184
10. Mak TW, Saunders ME. The Major Histocompatibility Complex. Elsevier, Oxford, UK, 2008:p101-113

11. Goldsby RA, Kindt TK, Osborne BA and Kuby J. Major Histocompatibility Complex. In Goldsby RA, Kindt TK, Osborne BA and Kuby J, Immunology (5th ed). W.H. Freeman and Company, New York, 2003:p24-56
12. Peakman M and Vergani Diego. Basic and Clinical Immunology. New York, Churchill Livingstone, 1997: 33-39.
13. Goldsby RA, Kindt TK, Osborne BA and Kuby J. Immunoglobulins. In Goldsby RA, Kindt TK, Osborne BA and Kuby J, Immunology (5th ed). W.H. Freeman and Company, New York, 2003:76-104.
14. Dallman MJ. Immunology of Graft Rejection. In Morris PJ and Knetchtle SJ, Kidney Transplantation: Principles and Practice (6th Edt). Saunders, Elsevier, Philadelphia, PA, 2008:p24-40
15. Mak TW, Saunders ME. The Major Histocompatibility Complex. Elsevier, Oxford, UK, 2008:p283-289
16. Web\_2 (12 NISAN 2008). New world encyclopedia. [http://www.newworldencyclopedia.org/entry/B\\_cell](http://www.newworldencyclopedia.org/entry/B_cell) (01.07.2015).
17. Wood KJ, Zaitse M and Goto R. Cell Mediated Rejection. Zachary AA and Leffell MS. Transplantation Immunology: Methods and Protocols (2nd ed). Humana Press, Baltimore, USA, 2013: 71-85
18. Monguio-Tortajada M, Lauzurica-Valdemoros R and Borrás FE. Tolerance in organ transplantation: from conventional immunosuppression to extracellular vesicles. Front Immunol 2014; 5: 1-12.
19. Nankivell BJ and Alexander SI. Rejection of the Kidney Allograft. N Engl J Med 2010; 363:1451-62.
20. Somasundaran M. and Quiroga I. Principles in Transplantation: immunology. Surgery 2011; 29:295-300
21. Shrestha BM. Immunology for Renal Transplantation: A Review. J Transplant Technol Res 2014; 4: 1-7.
22. Pirim I, Soyoz M, Ayna TK, Kocyigit AO, Gurbuz BC, Tugmen C, Kurtulmuş Y, Ozyilmaz B. De novo Produced Anti-Human Leukocyte Antigen Antibodies Relation to Alloimmunity in Patients with Chronic renal Failure. Genet Test Mol Biomarkers 2015; 19: 335-8

23. Howell WM, Carter V, Clark B. The HLA System: immunology, Hla typing, antibody screening and crossmatching techniques. *J Clin Pathol* 2010; 63:387-390.
24. Açıkgöz HE, Tüysüz Ö, Sarandöl E ve Dirican M. Glomerüler Filtrasyon Hızı Tahmininde MDRD Formülünün Kreatinin Klirensi ile Karşılaştırılması. *Tr Biokim Derg* 2013; 11: 21-29.
25. Montgomery RA, Cozzi E, West LJ, Warren DS. Humoral immunity and antibody-mediated rejection in solid organ transplantation. *Sem Immunol* 2011; 224–234
26. Correa RRM, Machado 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.
27. Loupy A, Lefaucheur C, Vernerey D et al., “Complement binding anti-HLA antibodies and kidney-allograft survival,” *N Engl J Med* 2013; 369: 1215–1226.
28. Süsal C, Opelz G. Posttransplant sCD30 as a biomarker to predict kidney graft outcome. *Clinica Chimica Acta* 2012; 413: 1350-1353.
29. Grenzi PC, Campos EF, Silva Jr HT, Felipe CR, Franco MF, Soares MF, Medina-Pestana JO, Gerbase-Delima M. Post-transplant soluble CD30 levels are associated with early subclinical rejection in kidney transplantation, *Transpl Immunol* (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.trim.2015.02.004>.
30. Valke LLFG, van Cranenbroek B, Hilbrands LB, Joosten I. Soluble CD30 does not predict late acute rejection or safe tapering of immunosuppression in renal transplantation. *Transpl Immunol* 2015; 32: 18-22.
31. 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.
32. Jordan SC and Vo AA. Donor-specific antibodies in allograft recipients: etiology, impact and therapeutic approaches. *Curr Opin Organ Transplant* 2014; 19: 591-597.
33. Cardarelli F, Pascual M, Tolckoff-Rubin N, Delmonico FL, Wong W, Schoenfeld DA, Zhang H, Cosimi AB and Saidman SL. Prevalence and significance of anti-



- HLA and donor-specific antibodies long-term after renal transplantation. *Transpl Int* 2005; 18: 532–540.
34. Zhang Q, Liang LW, Gjertson DW, Lassman C, Wilkinson AH, Kendrick E, Pham PT, Danovitch GM, Gritsch HA, and Reed EF. Development of Posttransplant Antidonör HLA Antibodies Is Associated with Acute Humoral Rejection and Early Graft Dysfunction. *Transplantation* 2005; 79: 591–598.
  35. Akalin E and Pascual M. Sensitization after Kidney Transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006; 1: 433–440.
  36. Süsal C, Opelz G and Morath C. Role and Value of Luminex<sup>®</sup>-Detected HLA Antibodies before and after Kidney Transplantation. *Transfus Med Hemother* 2013; 40:190–195.
  37. Takemoto S, Port FK, Claas FHJ, and Duquesnoy RJ. HLA Matchng for Kidney Transplantation. *Hum Immunol* 2004; 6: 1489 –1505.
  38. Hariharan S, McBride MA, Cherikh WS, Tolleris CB, Bresnahan BA and Johnson CP. Post-Transplant renal function in the first year predicts long-teerm kidney transplant survival. *Kidney Int* 2002; 62: 311–318.
  39. Imamovic S, Ljuca F, Imamovic G, Iljazagic-Halilovic F, Krdzalic A, Hasukic S, Mesic D, Zerem E. Influence of Donör Age on Renal graft Function in the first Seven Post Transplant Days. *Bosnian J Basic Med* 2010; 10: 73-77.
  40. Baptista APM, Junior HTS, Pestana JOM. Influence of deceased donor hemodynamic factors in transplant recipients renal function. *J Bras Nefrol* 2013; 35: 289-298.

## ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında İzmir’de doğdum. 2003 yılında İzmir Kız Lisesi’nden mezun olup Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünde eğitimime devam ettim. 2007 yılında Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Anabilim Dalından mezun olup aynı yıl aynı anabilim dalında yüksek lisans başladım. 2009 yılında Yüksek lisanstan mezun olup aynı bölümde doktora eğitimime başladım. 2013 yılında ise ÖYP programı ile İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı’na atandım ve yüksek lisans programına başladım. Halen aynı bölümde Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım.