

HAYRİYE ŐENTÖRK ÇİFTÇİ

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENS.

DOKTORA TEZİ

← HAYRİYE ŞENTÜRK ÇİFTÇİ

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .



← DOKTORA TEZİ

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**BÖBREK NAKLİ YAPILAN HASTALARDA CYP3A, CYP2C VE
MDR-1 POLİMORFİZMİNİN KALSİNÖRİN
İNİHİTÖRLERİNİN FARMAKOKİNETİĞİ İLE İLİŞKİSİ**

HAYRIYE ŞENTÜRK ÇİFTÇİ

**DANIŞMAN
PROF.DR.MEHMET GÜRTEKİN**

**TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIBBİ BİYOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2012

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Tıbbi Biyoloji Programında Hayriye Şentürk Çiftçi tarafından hazırlanan "Böbrek Nakli Yapılan Hastalarda CYP3A, CYP2C ve MDR-1 Polimorfizminin Kalsinörin İnhibitörlerinin Farmakokinetiği ile ilişkisi" başlıklı Doktora tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

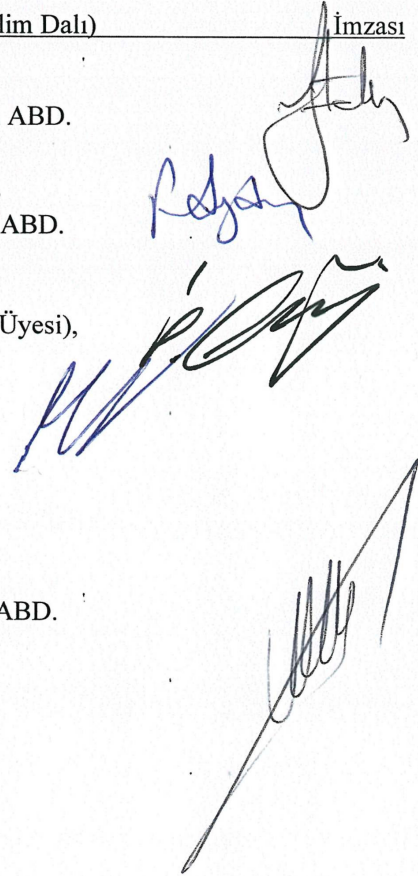
22 / 02 / 2012

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)

İmzası

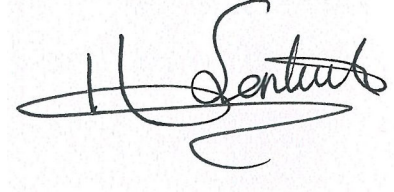
- 1.Prof. Dr. Mehmet GÜRTEKİN, (Tez Danışmanı),
İstanbul Üniv., İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ABD.
- 2.Prof. Dr. Filiz AYDIN, (Tez İzleme Komitesi Üyesi),
İstanbul Üniv., İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ABD.
- 3.Yard. Doç. Dr. İltar GÜNEY, (Tez İzleme Komitesi Üyesi),
Marmara Üniv. Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik ABD.
- 4.Prof. Dr. Mehmet GÜVEN,
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ABD
- 5.Prof. Dr. Aydın TÜRKMEN
İstanbul Üniv., İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları ABD.



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarımı ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Araş. Gör. Hayriye Şentürk Çiftçi



İTHAF

Annem / Babam / Eşim / Canım oğlum/ Kardeşim / Yeğenlerim / Yakın zamanda kaybettiğim ve benim için değerli olan eniştem Mustafa'ya ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamı yapabilmem için olanaklarını sağlayan Prof. Dr. Filiz Aydın'a doktora eğitimimde danışmanlığımı üstlenen, her konuda bana destek veren, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım saygıdeğer hocam Prof. Dr. Mehmet Gürtekin'e, deneysel çalışmalarımı yapabilmem için laboratuvar olanaklarını sağlayan Prof.Dr. Fatma Savran Oğuz'a, değerli katkılarından dolayı Prof. Dr. İsmet Nane'ye, Prof. Dr. Ali Emin Aydın'a ve Prof. Dr. Aydın Türkmen'e, hastalarla ilgili tüm konularda yardımlarını aldığım Uzm. Dr. Yaşar Çaliskan, Op. Dr. Hüseyin Bakkaloğlu'na, tez çalışmamın her aşamasında bana yardımcı olan sevgili çalışma arkadaşım Dr. Tülay K. Ayna'ya, bana her zaman destek veren çalışma arkadaşlarım Lab. Melek Erdoğan, Lab. Gökçe Meneşe'ye, tezim ile ilgili yardımlarından dolayı Dr. Hakan Gürkan, Bio. Sebahat Akgül, Bio. Sonay Temurhan'a ve tüm Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı çalışanlarına, Transplantasyon ünitesi ve polikliniği'nin tüm hemşireleri ve personeline, hayatım boyunca her konuda bana destek olan annem, babam, kardeşim'e, doktora eğitimim ve deneylerim süresince benden desteğini esirgemeyen ve yardımcı olan eşim Dr. Cemal Çiftçi'ye ve deneylerim süresince eve geç geldiğim için bana katlanan sevgili oğlum Rüzgar Saner Çiftçi'ye teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 5647

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN	İİİ
İTHAF	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ	Xİ
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	XİV
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	XVİ
ÖZET.....	XX
ABSTRACT.....	XXİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİ.....	4
2.2.SDBY OLAN HASTALAR İÇİN TEDAVİ	
SEÇENEKLERİ.....	5
2.2.1. Hemodiyaliz.....	5
2.2.2. Periton diyaliz.....	6
2.2.3. Böbrek nakli.....	6
2.3. İMMÜN YANIT.....	8
2.3.1. Doğal immün yanıt.....	9
2.3.2. Edinsel immün yanıt.....	10
2.3.2.1.Hüморal immünite.....	10
2.3.2.2. Hücre sel immünite	11
2.3.2.2.1. B lenfositler.....	11
2.3.2.2.2. T lenfositler.....	12
2.3.2.2.3. NK hücreler.....	16
2.4. ALLOİMMÜN YANIT.....	16
2.4.1. MHC sınıf I molekülleri.....	17
2.4.2. MHC sınıf II molekülleri.....	18
2.4.3. MHC sınıf III molekülleri.....	19

2.4.4. MHC moleküllerinin işlenmesi.....	19
2.4.4.1. Sitozolik antijenlerin MHC sınıf I yolu ile işlenmesi.....	20
2.4.4.2. Veziküllere alınmış olan antijenlerin MHC sınıf II yolu ile işlenmesi ..	21
2.4.5. Nakilde doğal immün yanıt.....	21
2.4.6. Nakilde edinsel immün yanıt.....	22
2.4.7. Allotanıma	22
2.4.7.1. Doğrudan tanıma	22
2.4.7.2. Dolaylı tanıma	22
2.4.8. T hücre aktivasyonu.....	23
2.5. ALLOGRAFT REJEKSİYON TİPLERİ.....	27
2.5.1. Hiperakut rejeksiyon.....	29
2.5.1.1. Akselere rejeksiyon.....	30
2.5.2. Akut rejeksiyon.....	30
2.5.2.1. Hücre aracılı akut rejeksiyon	30
2.5.2.2. Antikor aracılı akut rejeksiyon (Akut hümorale rejeksiyon).....	31
2.5.3. Kronik rejeksiyon (Kronik allograft nefropatisi).....	31
2.6. BÖBREK NAKLİ SONRASI DÖNEM.....	33
2.7. BÖBREK NAKLİNDE KULLANILAN İMMÜNSUPRESİF TEDAVİLER ...	33
2.7.1. İmmünsupresif ilaçların gelişim tarihçesi.....	33
2.7.2. İmmünsupresif ilaçların kullanım amacı.....	34
2.7.3. Böbrek naklinde rutin klinik kullanımda immünsupresif tedavi.....	37
2.8. İMMÜNSUPRESİF İLAÇLAR.....	38
2.8.1. Kalsinörin inhibitörleri.....	38
2.8.1.1. Siklosporin (CsA).....	39
2.8.1.2. Takrolimus (FK506).....	40
2.8.2. Anti proliferatif ilaçlar.....	41
2.8.2.1. Azatiopürin (İmuran).....	41
2.8.2.2. Mikofenolat mofetil (MMF).....	41
2.8.2.3. Mikofenolat sodyum (MYF).....	42
2.8.3. Kortikosteroidler (Prednizon, Metilprednizolon).....	42
2.8.4. Poliklonal antikorlar.....	43
2.8.4.1. [Anti timosit globulin (ATG), Anti lenfosit globulin (ALG)].....	43

2.8.4.2. [İnter venöz immünglobulin (IVIG)].....	44
2.8.5. Monoklonal antikorlar.....	45
2.8.5.1. OKT3 (Muronomab-CD3).....	45
2.8.5.2. Anti-CD25 monoklonal antikorlar (Baziliksımab, Daklizumab).....	45
2.8.5.3. Anti-CD52, anti-CD20 monoklonal antikorlar (Alemtuzumab, Rituksımab).....	45
2.8.6. mTOR inhibitörleri.....	45
2.8.6.1. Sirolimus (Rapamisin).....	46
2.8.6.2. Everolimus (Certican).....	47
2.9. İMMÜNSUPRESİF İLAÇLARIN KAN DÜZEYLERİNİN İZLENİMİ.....	47
2.9.1. İlaç yanıtını etkileyen faktörler.....	48
2.9.2. Genetik farklılığa göre ilaçların metabolizma ve etkilerinin bireyler arasında değişmesi.....	49
2.9.2.1. İlaç farmakokinetiğinde genetik faktörlere bağlı değişiklikler.....	50
2.9.2.1.1. İlaç metabolize edici enzimler.....	51
2.9.2.1.1.1. Sitokrom p450 (CYP) enzimleri.....	52
2.9.2.1.1.1.1. CYP3A enzimleri.....	54
2.9.2.1.2. Multidrug resistance-çoklu ilaç direnci [(MDR-1)-(ABCB1)] geni.....	57
2.9.2.2. İlaç farmakodinamiğinde genetik faktörlere bağlı değişiklikler.....	58
2.9.2.3. Enzim indüksiyon ve inhibisyonunun genetik faktörlere bağlı değişiklikler.....	58
3. GEREÇ VE YÖNTEM	60
3.1. GEREÇLER.....	60
3.1.1. Hasta grupları.....	60
3.1.2. Kontrol grubu.....	60
3.1.3. Kullanılan cihazlar.....	60
3.1.4. Kullanılan sarf maddeler.....	61
3.1.5. Kullanılan kimyasal malzemeler.....	61
3.1.6. Kullanılan enzimler.....	62
3.1.7. Kullanılan primerler.....	63
3.1.8. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) yönteminde kullanılan enzimler ve özellikleri.....	64
3.1.9. Deoksiribonükleozid trifosfat (dNTP) seti.....	64

3.1.10. Kullanılan tamponlar.....	64
3.1.10.1. Elektroforez tamponları.....	64
3.1.10.2. RFLP yönteminde kullanılan tamponlar.....	65
3.1.10.3. Agaroz jel.....	65
3.1.10.4. Polimeraz zincir reaksiyon (PZR) karışımı.....	65
3.1.11. Elektroforez analizinde kullanılan standartlar.....	65
3.2. YÖNTEMLER.....	66
3.2.1. Periferik kandan DNA izolasyonu.....	66
3.2.2. PZR.....	67
3.2.2.1. PZR'nin bileşenleri.....	68
3.2.2.2. Primerlerin hazırlanması.....	68
3.2.2.3. PZR reaksiyon karışımı.....	68
3.2.2.4. PZR programları.....	68
3.2.2.5. Agaroz jelin hazırlanması.....	70
3.2.2.6. PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforezinde görüntülenmesi.....	70
3.2.3. RFLP.....	70
3.2.3.1. Restriksiyon enzim kesimi.....	71
3.2.3.1.1. CYP3A5*3 polimorfizmi için PZR ürününün SspI enzimi ile kesilmesi.....	71
3.2.3.1.2. CYP3A5*6 polimorfizmi için PZR ürününün DdeI enzimi ile kesilmesi.....	71
3.2.3.1.3. CYP3A4*4 polimorfizmi için PZR ürününün BsMAI enzimi ile kesilmesi.....	72
3.2.3.1.4. CYP3A4*6 polimorfizmi için PZR ürününün HinfI enzimi ile kesilmesi.....	72
3.2.3.1.5. CYP2C19*2 polimorfizmi için PZR ürününün MspI enzimi ile kesilmesi.....	73
3.2.3.1.6. MDR-1 C3435T polimorfizmi için PZR ürününün MboI enzimi ile kesilmesi.....	73
3.2.3.1.7. MDR-1 G2677T polimorfizmi için PZR ürününün BanI enzimi ile kesilmesi.....	74
3.2.4. İmmüsupresif ilaçların kan düzeylerinin saptanması.....	74

3.2.4.1. CsA kan düzeyinin saptanması.....	74
3.2.4.1.1. EMIT yöntemi ile saptanması.....	75
3.2.4.1.2. CEDIA yöntemi ile saptanması.....	76
3.2.4.2. FK506 kan düzeylerinin saptanması.....	77
3.2.4.2.1. MEIA yöntemi ile saptanması.....	77
3.2.4.2.2. CEDIA yöntemi ile saptanması.....	78
3.2.5. İstatistiksel yöntemler.....	79
4. BULGULAR.....	81
4.1 KONTROL VE HASTA GRUBUNA AİT BULGULAR.....	81
4.1.1. Kontrol ve hasta grubuna ait demografik bilgiler.....	81
4.1.2. Kontrol ve hasta gruplarının CYP3A5, CYP3A4, CYP2C19, MDR-1 gen polimorfizminin genotip ve alel sıklığı.....	92
4.1.3. CYP3A5, CYP3A4, MDR-1 gen polimorfizminin CsA, FK506 kan düzeyleri ile arasındaki ilişki.....	101
4.1.3.1. CYP2C19 ve CYP3A5 genotiplerinin birlikteliği ile Lansoprazolon kullanan ve kullanmayan hastalarda FK506 kan düzeyinin ilişkisi.....	107
4.1.4. CYP3A5 gen polimorfizminin iki ilaç grubu arasında rejeksiyon tipleri ile ilişkisi.....	112
4.1.5. CYP3A5 gen polimorfizminin hastalık etyolojisi ile arasındaki ilişki.....	113
4.1.6. CYP3A5, CYP3A4, MDR-1 gen polimorfizminin kreatinin düzeyleri ile arasındaki ilişkisi.....	114
5. TARTIŞMA.....	116
KAYNAKLAR.....	135
ETİK KURUL KARARI.....	153
ÖZGEÇMİŞ.....	154
YAYINLAR.....	155

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1: 2008 yılı KBY hastalarının etyolojik nedenlere göre dağılımı

Tablo 2.2: KBY'nin evreleri

Tablo 2.3: Rejeksiyon tipleri

Tablo 2.4: İmmüsupresif ilaçların tarihsel gelişimi

Tablo 2.5: Rutin klinik kullanımı olan immüsupresif ilaçlar

Tablo 3.1: Primerlerin özellikleri

Tablo 3.2: Restriksiyon enzimleri ve özellikleri

Tablo 4.1: Kontrol ve hastaların yaş ve cinsiyetleri

Tablo 4.2: Hastalara ait demografik bilgiler

Tablo 4.3: İki ilaç grubu arasında hasta ve verici HLA uyumları ve anti-HLA antikorlarının karşılaştırılması

Tablo 4.4: Hasta grubunun sensitizasyon bilgileri

Tablo 4.5: Hastaların kullandığı immüsupresif tedavi

Tablo 4.6: İki ilaç grubu arasında rejeksiyon oranları

Tablo 4.7: İki ilaç grubu arasında rejeksiyon oranları ile HLA uyumu

Tablo 4.8: İki ilaç grubu arasında akut rejeksiyon tipi

Tablo 4.9: Rejeksiyon tipleri ve anti-HLA antikorları

Tablo 4.10: İki ilaç grubunda hastaların kullandığı immüsupresif tedavi protokolleri ve rejeksiyon tipleri arasındaki ilişki

Tablo 4.11: İki ilaç grubu arasında rejeksiyonlu hastaların sensitizasyon bilgileri

Tablo 4.12: Akut rejeksiyonlu hastaların anti-rejeksiyon tedavileri

Tablo 4.13: İki ilaç grubunda nakil sonrası komplikasyonlar

Tablo 4.14: Kontrol ve hasta grubunda CYP3A5 gen polimorfizminin

genotip ve alel sıklığı

- Tablo 4.15:** CsA ve FK506 gruplarının CYP3A5 gen polimorfizminin genotip ve alel sıklığının karşılaştırılması
- Tablo 4.16:** Hasta ve kontrol grubunda CYP3A4 gen polimorfizminin genotip ve alel sıklığı
- Tablo 4.17:** CsA ve FK506 gruplarının CYP3A4 gen polimorfizminin genotip ve alel sıklığı
- Tablo 4.18:** Hasta ve kontrol grubunda CYP2C19 gen polimorfizminin genotip ve alel sıklığı
- Tablo 4.19:** Kontrol grubu ve FK506 ilaç grubu arasında CYP2C19 gen polimorfizminin genotip ve alel sıklığı
- Tablo 4.20:** Kontrol ve hasta grubunda MDR-1 gen polimorfizminin genotip ve alel farkı
- Tablo 4.21:** İki farklı ilaç grubunda MDR-1 C3435T ve MDR-1 G2677T gen polimorfizminin genotip ve alel sıklığı
- Tablo 4.22:** CYP3A5 gen polimorfizmi ve CsA kan düzeyleri ile arasındaki ilişki
- Tablo 4.23:** CYP3A5 gen polimorfizmi ve FK506 kan düzeyleri ile arasındaki ilişki
- Tablo 4.24:** CYP3A4 gen polimorfizmi ve CsA kan düzeyleri ile arasındaki ilişki
- Tablo 4.25:** CYP3A4 gen polimorfizmi ve FK506 kan düzeyleri ile arasındaki ilişki
- Tablo 4.26:** Lansoprozolon kullanan ve kullanmayan hasta grubunda CYP2C19 ve CYP3A5 genotip gruplarının birlikteliğinin FK506'nın kan düzeyi ile ilişkisi

Tablo.4.27: MDR-1 gen polimorfizmi ve CsA kan düzeyleri ile arasındaki ilişki

Tablo 4.28: MDR-1 gen polimorfizmi ve FK506 kan düzeyleri ile arasındaki ilişki

Tablo 4.29: İki ilaç grubu arasında akut rejeksiyon ve CYP3A5 polimorfizminin sıklığı

Tablo 4.30: İki ilaç grubu arasında kronik rejeksiyon ve CYP3A5 gen polimorfizminin sıklığı

Tablo 4.31: Hastalık etyolojisi ve CYP3A5 gen polimorfizmi ilişkisi

Tablo 4.32: CYP3A5 gen polimorfizminin kreatinin düzeyleri ile ilişkisi

Tablo 4.33: MDR-1 gen polimorfizminin kreatinin düzeyleri ile arasındaki ilişkisi

ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 2.3.1 :** Doğal immünite elemanları
- Şekil 2.3.2:** Edinsel immün sistemin bileşenleri
- Şekil 2.3.3:** Edinsel immün yanıt elemanları
- Şekil 2.3.4:** Lenfositlerin olgunlaşma aşamaları
- Şekil 2.3.5:** Edinsel immün yanıtın evreleri
- Şekil 2.4.1:** MHC lokusunun genleri
- Şekil 2.4.2:** MHC sınıf I molekülünün yapısı
- Şekil 2.4.3:** MHC sınıf II molekülünün yapısı
- Şekil 2.4.4:** Sitolitik antijenlerin MHC sınıf I yolu ile işlenmesi
- Şekil 2.4.5:** Veziküllere alınmış antijenlerin MHC sınıf II yolu ile işlenmesi
- Şekil 2.4.6:** Alloantijenlerin doğrudan ve dolaylı yolla tanınması
- Şekil 2.4.7:** CD3 kompleksi
- Şekil 2.4.8:** T lenfositlerin aktivasyonuna yol açan moleküller
- Şekil 2.4.9:** T lenfositlerde sinyal iletim yolları
- Şekil 2.4.10:** T hücre aktivasyonunda ikinci uyarıların rolü
- Şekil 2.5.1:** Hiperakut rejeksiyon
- Şekil 2.5.2:** Kronik rejeksiyon
- Şekil 2.7.1:** İmmüsupresif ilaçların T hücre aktivasyon yolağı üzerine etkileri
- Şekil 2.9.1:** Faz 1 ve faz 2 enzimleri
- Şekil 2.9.2.A:** Faz 1 enzim oksidasyonu
- Şekil 2.9.2.B:** CYP'deki reaksiyon basamakları
- Şekil 2.9.3:** CYP enzim sisteminin karaciğerde dağılımı
- Şekil 2.9.4:** CYP enzimlerinin ilaç metabolizmasına katkıları

Şekil 4.1: Hastaların SDBY nedenlerinin iki ilaç grubunda dağılımları

Şekil 4.2: İki ilaç grubu arasında hasta ve vericilerin yakınlık ilişkisi

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ABCB1	: Çoklu ilaç geni
ADH	: Alkol dehidrogenaz
AHG	: Anti human globulin
ALG	: Anti-lenfosit globin
AP-1	: Aktive transkripsiyon faktörü-1
ASCM	: Akım sitometri çaprazlama
ASH	: Antijen sunan hücre
ATG	: Anti-timosit globulin
ALG	: Antilenfosit globulin
ATN	: Akut tubüler nekroz
ATP	: Adenozin trifosfat
Aza	: Azatiopürin
BCRP	: Meme kanser rezistance proteini
Bç	: Baz çifti
C	: Sabit
Ca ⁺²	: Kalsiyum
CD	: Yüzey reseptörü-Cluster of differentiation
CEDIA	: Klonlanmış enzim donör immunoassay-Cloned Enzyme Donor Immunoassay
CI	: Güvenlilik aralığı-Confidence interval
CLIP	: Sınıf II ilişkili değişmez zincir-class II associated invariant chain peptide
CM	: Çaprazlama/Cross-match
CMV	: Sitomegalovirus
CsA	: Siklosporin
CYP	: Sitokrom p450
DH	: Dendritik hücre
dNTP	: Deoksiribonükleozid trifosfat
DPD	: Dihidroprimidin dehidrogenaz

DSA	: Donör spesifik antikor
DTH	: Gecikmiş tip hipersensitivite
EDTA	: Etilen daimin tetra asetik asit-Ethylene daimine tetraacetic acid
EMIT	: Enzimle birleştirilmiş immunoassay teknik/Enzyme Multiple Immunoassay Technique
ER	: Endoplazmik retikulum
ERK	: Hücre dışı sinyal-düzenli kinaz
F	: Female-kadın
FDH	: Foliküler dendritik hücre
FK506	: Takrolimus
FKBP	: Takrolimus bağlayan protein
GFR	: Glomerul filtrasyon hızı
GGF	: Gecikmiş graft fonksiyonu
GDP	: Guanozin difosfat
GRE	: Glukokortikoid yanıt elemanları
GST	: Glutasyon-S-transferaz
GTP	: Guanozin trifosfat
HD	: Hemodiyaliz
HDL	: High density lipoprotein-yüksek ağırlıklı lipoprotein
HLA	: Human Leukocyte Antigen-İnsan Lökosit Antijen
Ig	: Immünglobulin
IL	: Interlökin
IMPD	: Inozin monofosfat dehidrogenaz
INF	: Interferon
IP3	: Inozitol 1,4,5 trifosfat
ITAM	: İmmünreseptör tirozin baz aktivasyon motif
IVIG	: İntravenöz immünglobulin
İle	: İzolösin
JNK	: c-jun amino termal kinaz
KAN	: Kronik allograft nefropatisi

KBY	: Kronik böbrek yetmezliği
KGN	: Kronik glomerulonefrit
Kg	: Kilogram
LDL	: Low dansity lipoprotein-düşük ağırlıklı lipoprotein
Li	: Değişmez zincir-İnvariant zincir
M	: Boy
M	: Male-erkek
MAP	: Mitojen aktive protein
MDR	: Multidrug resistance-çoklu ilaç geni
MEIA	: Mikropartikül enzim immunoassay-Microparticle Enzyme Immunoassay
MgCl ₂	: Magnezyum klorur
MGC	: Microgenics
MHC	: Major Histocompatibility Complex-Büyük doku uygunluk kompleksi
MMF	: Mikofenolat mofetil
MNL	: Mononükleer lenfosit
MPA	: Mikofenolik asit
MPGN	: Membranoproliferatif glomerulonefrit
MRP	: Multidrug resistance'a eşlik eden protein
MYF	: Mikofenolat sodyum-Myfortic
NADPH	: Nikotin adenin dinükleotid fosfat
NaOH	: Sodyum hidroksit
NAT	: N-asetiltransferaz
NFAT	: Aktive T hücrelerinin nükleer faktörü
NKF/DOQI:	National Kidney Foundation, Dialysis Outcomes Quality Initiative
NK	: Naturel killer-Doğal öldürücü
NK-κB	: Transkripsiyon nükleer faktör kappa B
OKT3	: Muromonab-CD3
OR	: Odss ratio-odss oranları
PAMPS	: Patojen ilişkili moleküler örgüler-pathogene associated molecular patterns
p-gp	: P- glikoprotein

PLC	: Fosfolipaz C
PRA	: Panel reaktif antikor
PNL	: Polinükleer lenfosit
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
SAPD	: Sürekli ayaktan periton diyalizi
SDBY	: Son dönem böbrek yetmezliği
SNP	: Tek nükleotid polimorfizmi-Single nucleotid polymorphism
SSPD	: Sürekli siklik periton diyalizi
SPSS	: Statistic packet of social science
sTL	: Sitotoksik T hücre
TAP1	: Antijen sunulumu ile ilişkili taşıyıcılar
TAP2	: Antijen sunulumu ile ilişkili taşıyıcılar
TBE	: Tris-Borik asit-EDTA
TGF	: Tumor growth factor- Tümör büyüme faktörü
THR	: T hücre reseptörü
Th	: Yardımcı T hücre
Tm	: Erime sıcaklığı
Treg	: Düzenleyici T hücre
Tris-HCL	: Trizma hidroklorik asit-Trizma hydrochloride
TNF	: Tümör nekrozis faktör
TND	: Türk Nefroloji Derneği
TOR	: Target of Rapamycin-Rapamisin'in hedefi
UDP	: Uridin difosfat
UGT	: UDP-glukuroniziltransferaz
X ²	: Ki kare-chi square
V	: Değişken
ZAP-70	: Zeta ilişkili protein-70

ÖZET

Şentürk Çiftçi H. Böbrek Nakli Yapılan Hastalarda CYP3A, CYP2C VE MDR-1 Polimorfizminin Kalsinörin İnhibitörlerinin Farmakokinetiği İle İlişkisi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul. 2012.

Anahtar Kelimeler: Böbrek nakli, immünsüpresif ilaçlar, CYP3A polimorfizmleri, MDR-1 polimorfizmleri, farmakokinetik

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 5647

Böbrek nakli son dönem böbrek yetmezliğinde en güncel tedavi şeklidir. Böbrek nakilli hastalarda, graftın nakledilmesinden sonraki durumu immünsüpresif tedaviden büyük oranda etkilenir. Nakil sonrası hem immünsüpresif tedavinin toksisitesini hem de rejeksiyon riski arasındaki dengeyi sağlamak güçtür. Graft sağkalımı ve iyi hasta izlemi için immünsüpresiflerin yakın monitörizasyonu gerekmektedir. Böbrek nakilli hastalarda kullanılan siklosporin (CsA) ve takrolimus (FK506)'un standart doz uygulaması sonrasında kandaki düzeyi kişiler arasında belirgin değişkenlikler göstermektedir. CYP3A5, CYP3A4 ve MDR-1 gen polimorfizmlerinin bu ilaçların emilimini ve metabolizmalarını değiştirdiği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir.

Bu tez çalışmasının amacı, CsA ve FK506 kullanan böbrek nakilli hastalarda CYP3A5, CYP3A4 ve MDR-1 polimorfizmlerinin doz gereksinimleri ve kan düzeyi/doz oranları üzerindeki etkilerini araştırmaktır. Bu çalışmaya, canlı vericiden nakil olmuş, 200 hasta ve 150 kontrol dahil edilmiştir. Hasta ve kontrol grubuna ait CYP3A5, CYP3A4, C3435T, G2677T genotipleme polimeraz zincir reaksiyonu ile yapıldı. PZR'yi takiben restriksiyon enzim kesimi ile genotipler tespit edilmiştir. CYP3A5 geni için CYP3A5*1*1 genotipi kontrol grubunda istatistiksel açıdan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p=0.037). CYP3A5*3*3 genotipli hastaların FK506 kan düzeyi/doz oranları CYP3A5*1*1 genotipli hastaların FK506 kan düzeyi/doz oranlarından daha yüksek bulunmuştur ve bu hastalara verilen dozların daha düşük olduğu gözlenmiştir (p<0.05). MDR-1 G2677T polimorfizminde TT genotipindeki hastalar GG ve GT genotipine sahip hastalara göre daha düşük FK506 dozlarına gereksinim gösterirken, bu hastaların FK506 kan düzeyi/doz oranları diğerlerine göre anlamlı derecede yükseklik göstermiştir (p<0.05). CYP3A5 polimorfizmlerinin FK506 ve lansoprazolon arasında ilaç etkileşimlerini etkileyebileceğini vurgulamışlardır. Lansoprazolon kullanan hasta grubunda CYP2C19*1*1/CYP3A5*1*3 genotipli hastaların FK506 kan düzeyleri CYP2C19*1*1/CYP3A5*1*1 ve CYP2C19*1*1/CYP3A5*3*3 genotipli hastaların FK506 kan düzeylerinden daha yüksek saptanmıştır (p=0.0001).

İmmünsüpresif tedavideki ilerlemelere rağmen hala akut rejeksiyon görülebilmektedir. Bu tez çalışmasında da CsA kullanan grupta 11 hastada (% 5.5), FK506 kullanan grupta 22 hastada (% 11.0) akut rejeksiyon olduğu görülmüştür (p=0.04). Gruplar arası farkın nedeninin CsA grubundaki hastaların HLA uyumlarının daha iyi olması ve MMF ile kombinasyonundan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada CYP3A5*1*1 genotipine sahip hastaların akut rejeksiyon oranı (% 7.0) CYP3A5*3*3 genotipine sahip hastaların akut rejeksiyon geçirme oranından (% 1.0) daha fazla bulunmuş olup istatistiksel açıdan bu fark anlamlı çıkmıştır (p=0.002). Sonuç olarak, CYP3A5, CYP3A4 genleri ile ilgili polimorfizmlerin diğer toplumlara

göre Türk toplumunda az görüldüğü saptanmıştır. Bu tez çalışmasındaki veriler, bu polimorfizmlerinin belirlenmesinin, CsA, FK506 kan düzeyi/doz ayarlanmasında, hedef düzeylere ulaşmakta ve nefrotoksisite/rejeksiyon risklerinin azaltılmasında kliniğe yardımcı olabileceğini göstermektedir.

ABSTRACT

Şentürk Çiftçi H. The Relationship between CYP3A, CYP2C and MDR-1 Polymorphisms and the Pharmacokinetic of Calcineurin Inhibitors in Patients with Kidney Transplantation. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Medical Biology. PhD Thesis. İstanbul.2012.

Key Words: Kidney transplantation, immunosuppressive drugs, CYP3A polymorphisms, MDR-1 polymorphisms, pharmacokinetic

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 5647

Kidney transplantation is the most recent treatment for End Stage Renal Disease. The state of the patient with kidney transplant after the graft is transplanted is highly affected by and immunosuppressive treatment. After transplantation, it is hard to maintain the balance between toxicity caused by immunosuppressive treatment and rejection risk. Close monitoring is required for survive of good patient and graft survival. The blood level of Cyclosporine (CsA) and tacrolimus (FK506) after standard dose application of the drugs to patients with renal transplant showed significant difference between individuals. It is showed with various research that absorption and metabolism of these drugs are changed by CYP3A5, CYP3A4 and MDR-1 gene polymorphisms.

The aim of this research is to investigate, in patients with renal transplant using CsA and FK506, the effect of CYP3A4, CYP3A5 and MDR-1 polymorphisms on dose requirement and blood level/dose ratios. 200 patients had transplants from living donors and 150 controls were included to this study. CYP3A5, CYP3A4, C3435T, G2677T genotyping for patient and control groups were performed using polymerase chain reaction PCR. Following PCR, genotypes were determined using restriction fragment length polymorphism. For CYP3A5 gene, CYP3A5*1*1 genotype was found high in control group which is statistically significant ($p=0.037$). The ratio of blood level/dose of FK506 for patients with CYP3A5*3*3 was found higher than of patients with CYP3A5*1*1 genotype, and the dose given to these patients were observed to be lower ($p<0.05$). In MDR-1 G2677T polymorphism, patients with TT genotype was found to require lower FK506 dose compared to patients with GG and GT genotypes, and the ratio of blood level/dose was found significantly higher for these patients compared to the others ($p<0.05$). CYP3A5 polymorphisms may affect drug interactions between FK506 and lansoprazolon. Blood levels of FK506 the patients group using lansoprazole having the CYP2C19*1*1/CYP3A5*1*3 genotypes were higher than in those having the CYP2C19*1*1/ CYP3A5*1*1 and CYP2C19*1*1/CYP3A5*3*3 genotypes.

In spite of development in immunosuppressive treatments, acute rejection can still occur. In this thesis study, 11 patients in CsA using group (5.5%) and 22 patients in FK506 using group (11.0%) experienced acute rejection ($p=0.04$). The difference between the groups are thought to be due to higher HLA compatibility in CsA group and its combination with MMF. In this thesis study, acute rejection rate for patients with CYP3A5*1*1 genotype (7.0%) was found higher than the rate acute rejection for patients with CYP3A5*3*3 genotype (1.0%), and this was found statistically significant ($p=0.002$). As a conclusion, polymorphisms

concerning CYP3A5, CYP3A4 genes are observed less in Turkish population than in other populations. The data in this thesis study shows that detecting these polymorphisms may be helpful clinically in maintaining blood level/dose ratio for CsA and FK506, reaching target levels, and in lowering risks of nephrotoxicity and rejection.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kronik böbrek yetmezliği (KBY), kronik seyirli böbrek hastalarında ilerleyici nefron kaybı sonucunda böbrek fonksiyonlarının giderek bozulması ile ortaya çıkan ve kalıcı olarak glomerül filtrasyon hızının (glomerular filtration rate-GFR) azalması ile kendini gösteren bir tablodur. KBY gelişen hastalarda renal replasman tedavilerinden birine başlanması gerekmektedir. Bunlar; hemodiyaliz, periton diyalizi ve böbrek naklidir. Böbrek nakli bu hastalarda uygulanan en iyi tedavi seçeneklerinden biridir (1). Böbrek fonksiyonları iyice bozulan ve KBY'nin son dönemindeki hastalara canlı veya kadavra vericiden alınan sağlam böbreğin nakledilmesidir. Böbrek nakli yapılan hastalarda yaşanan önemli sorunlardan biri, nakil edilen organın alıcı tarafından reddidir. Nakli yapılan böbreğin reddinin engellenmesi için immünsupresif tedavi uygulanmaktadır (1,2). Son zamanlarda kullanılan immünsupresif ilaçların etkinliğindeki artış ile etkili immünsupresyon sağlanmış ve rejeksiyon oranlarının azaldığı, graft sağkalımının ise arttığı bildirilmektedir (2,82,85). Tedavide kullanılan ilaçlardan kalsinörin inhibitörleri [siklosporin (CsA) ve takrolimus (FK506)] en yaygın kullanılanlardandır (83,87,88). Bu ilaçlar allografta karşı oluşan immünolojik cevabın farklı basamaklarını hedef almaktadırlar. CsA, Tolpocladium inflatum adlı mantardan izole edilen 11 amino asitli siklik bir polipeptiddir. CsA siklofilin olarak tanımlanan bazik bir proteine ve bu kompleks de Ca^{++} ve kalmodiline bağlı bir fosfataz olan kalsinörine bağlanmaktadır. Buna bağlı olarak aktive T hücrelerinin nükleer faktörünün sitozolik formunun defosforile olmasını sağlar ve IL-2 geninin transkripsiyonu engeller (89,91,92). FK506, Streptomyces tsukubaensis'den elde edilmiş bir makrolid laktondur. FK506, fonksiyonel olarak bağlanma halkası ve efektör bölge olarak isimlendirilen iki kısımdan oluşmaktadır. Bağlanma domaini aracılığı ile FK506 bağlanma proteini (FKBP)'ne bağlanarak bir kompleks yapar. Bu kompleks, efektör kısım aracılığı ile kalsinörine bağlanarak IL-2'nin gen ekspresyonunu engellemektedir (91,92).

Bu ilaçlar kritik doz ilaç özelliğine sahip olduğundan, kan düzeylerinin izlenmesi optimum dozlarının ayarlanmasında önemlidir. Düzeylerinin düşük olması yetersiz immünsupresif etkiye, dolayısı ile rejeksiyon riskinin artmasına sebep olurken, yüksek düzeyler ise nefrotoksisite ve nörotoksisite gibi yan etkilerin artmasına neden olmaktadır. İlaç etkinliğinde artış ve yan etki sıklığında azalma ilaç tedavisinin bireyselleştirilmesi ile sağlanabilmektedir (83,93).

Bireyselleştirilmiş ilaç tedavisinin oluşturulmasında farmakokinetik, farmakodinamik ve farmakogenetik faktörler rol oynamaktadır. Farmakokinetik, ilacın emilimi, biyoyararlanımı, dağılımı, proteinlere bağlanması, metabolizması ve atılımı ile ilgilenmektedir. Farmakodinamik, zaman için de etki alanındaki ilaç konsantrasyonu ile yan etki arasındaki ilişkiyi incelemektedir. Farmakogenetik ise ilaçları metabolize eden enzimleri ve taşıyıcı proteinlerini kodlayan genlerdeki polimorfik değişimler sonucunda ilaçların, farmakokinetik ve/veya farmakodinamiğinin genetik farklılığa bağlı olarak bireyler arasındaki değişmesini incelemektedir. Farmakogenetik, hastanın genetik profiline göre ilaç etkililiği ve toksisitesinin önceden tespit edilmesini sağlamaktadır. Böylece bireysel ilaç seçimi ve doz ayarlaması yapılabilmektedir (126).

Genetik faktörler ilaç metabolizmasını değiştirerek ya da enzimlerin veya reseptörlerin, substrat ve ligantlarına bağlanma afinitelerini değiştirerek ilaç yanıtını etkileyebilirler. İlaç yanıtını değiştirebilen önemli polimorfik yapılar: ilaç metabolize edici enzimler [sitokrom P450 (CYP) enzimleri, alkol dehidrogenaz (ADH)], ilaç hedef molekülleri (serotoninerjik, dopaminerjik reseptörler) ve hücre membranında yer alan ilaç taşıyıcıları [“multidrug resistance-çoklu ilaç” (MDR-1)-(ABCB1)-(p-gp)]’dır (126).

İlaç metabolizmasının temel basamaklarının gerçekleştiği başlıca organ karaciğerdir. Enzimler, karaciğer dışında: barsaklar, böbrekler, akciğerler ve beyinde, büyük ölçüde hücrelerin düz endoplazmik retikulumunda yer alırlar. CYP monooksijenaz enzim sistemleri, matür eritrosit ve iskelet kası hücreleri dışında tüm memeli hücre tiplerinde ve prokaryotlarda bulunan hem-protein ailesidir. Sitokrom P450 enzim sisteminin aracılığı ile olan biyokimyasal olaylar ile safra ve idrardan atılımlarını mümkün kılan hidrofilik yapıyı kazanırlar. Böbrek naklinden sonra kullanılan CsA ve FK506 karaciğerde CYP enzimlerinden olan CYP3A (CYP3A4, CYP3A5) enzimi ile gastrointestinal sistemden metabolize edildiği görülmektedir. Bunun yanı sıra MDR-1 geninde her iki ilacın taşınmasında farmakokinetiğini etkilediği bilinmektedir (134,137). Böbrek nakilli hastalarda sıkça kullanılan lansoprazolon’un FK506 ile etkileşimi sonucunda FK506 düzeylerinin değişkenlik gösterebileceği ve bu durumun CYP2C19 polimorfizmi ile ilişkisinin olabileceği belirtilmiştir (144).

Bu tez çalışmasında, böbrek nakli sonrası graft reddini önlemek için kullanılan immüsupresif ilaçlardan kalsinörin inhibitörlerinin metabolizmasından sorumlu olan

CYP3A ve MDR-1 genlerindeki olası polimorfizmlerin araştırılması amaçlanmıştır. Böbrek nakilli hastalarda ve sağlıklı bireylerde bu polimorfizmlerin sıklığının saptanması ile hastalarda bu gen polimorfizmlerine ait genotipler ile farmakokinetik (doz, kan düzeyi, kan düzeyi/doz oranı) ilişkisinin kurulması sağlanacaktır. Bunun sağlanması ile de tedaviden yararlanabilecek ya da yan etki geliştirebilecek bireyler önceden belirlenebilecektir. Ayrıca FK506 metabolizasyonunun etkileyebilen lansoprazolonu metabolize eden CYP2C19 gen polimorfizminin araştırılması ve FK506 kan düzeyi ile ilişkisinin kurulması da amaçlanmıştır.

Genetik polimorfizmlerin varlığının tedavi öncesi saptanması, immüsupresif ilaçların tedaviye başlangıç ve idame dozunun önceden tespit edilmesine katkı sağlayabilir. CsA ve FK506 konsantrasyon doz oranını saptamakta, hedef kan düzeylerine ulaşmakta ve rejeksiyon ve ilaçlara bağlı nefrotoksisite riskini azaltmakta yardımcı olacağı öngörüsündeyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİ

Böbrek, esas olarak karışık bir kan filtre sistemidir. Kanın içeriğini, hacmini ve basıncını düzenler. Büyük proteinler hariç kandaki hemen hemen her şey böbrek tarafından süzülmemektedir (1). Dünyada her yıl 1 milyon kişinin 50-250'si son dönem böbrek yetersizliğine girmektedir (2). KBY, kalıcı böbrek fonksiyonunun bozulmasına bağlı olarak sağlıklı fizyolojik denge sağlamak için, gerekli olan uyum mekanizmalarının kaybıdır ve KBY, böbrek hasarının veya glomerüler filtrasyon hızı (GFR)'nin 60ml/dk/1.73 m²'nin altına düşmesi olarak da tanımlanmaktadır (3,4). KBY sıklık ve şiddetinin doğru bir şekilde değerlendirilmesi ve etkin tedavi seçeneklerinin önerilmesi için GFR değerlerini baz alan bir sınıflandırma yapılmıştır (5). Bu sınıflandırmaya göre kronik böbrek hastalığının son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) olarak adlandırılan şiddetli evresinde GFR dakikada 15 ml'den azdır (6). KBY yaşamı tehdit eden, önemli ölçüde iş gücü kaybına ve çeşitli komplikasyonlara yol açan hemen her yaş grubunu özellikle de genç erişkinleri etkileyen bir hastalıktır. Böbrek hastalığının sık rastlanan etyolojileri, kronik glomerulonefrit, hipertansif nefroskleroz, kronik interstisyel nefrit, polikistik böbrek hastalığı ve diabetes mellitus'tur (7,8). Etiyolojide birçok hastalık bulunsa da diabetes mellitus, hipertansiyon ve glomerulonefritler altta yatan temel nedenleri oluşturmaktadır (4,9). Bu konuda Türk Nefroloji Derneği'nin (TND) yaptığı çalışmada elde edilen veriler tablo 2.1'de gösterilmiştir (9).

Tablo 2.1: 2008 yılı KBY hastalarının etyolojik nedenlere göre dağılımı

ETYOLOJİ	HASTA SAYISI	YÜZDE
Diabetes Mellitus	10762	%27,9
Hipertansiyon	10177	%26,4
Glomerülonefrit	9001	%8,7
Polikistik böbrek hastalıkları	1707	%4,4
Piyelonefrit	1616	%4,2
Amiloidoz	793	%2,2
Renal vasküler hastalıklar	477	%1,2
Bilinen diğer nedenler	3005	%7,6
Nedeni bilinmeyenler	6210	%16,1
Kayıp (bilgi yok)	514	%1,3
Toplam	44262	%100

KBY evrelerinin NKF/K/DOQI (National Kidney Foundation, Dialysis Outcomes Quality Initiative)'ye göre yapılan sınıflamasında; SDBY ciddiyeti GFR düzeyine göre kabul edilir (tablo2.2) (10,11,12).

Tablo 2.2: KBY'nin evreleri

Evre	Tanım	GFR (ml/dk/1.73 m ²)
1	Normal veya artmış GFR ile birlikte böbrek hasarı	> 90
2	İlımlı GFR düşüşü ile birlikte olan böbrek hasarı	60-89
3	Orta derecede GFR düşüşü	30-59
4	Ciddi GFR düşüşü	15-29
5	Son dönem böbrek yetmezliği (SDBY)	< 15 veya diyaliz

SDBY'li hasta sayısı her yıl, yapılan böbrek nakli sayısından daha hızlı bir şekilde artmaktadır. TND kayıtlarına göre Türkiye'de 2007 yılı sonu itibariyle herhangi bir böbrek yerine koyma tedavisine ihtiyaç duyan çocuk ve erişkin toplam 46679 kişi vardır (9). Hasta tüm böbrek fonksiyonlarını yitirdiğinde, yaşamayı uzatmaya ve yaşam kalitesini sağlamaya yerine koyma tedavisine başlanmaktadır (7, 8).

2.2. SDBY OLAN HASTALAR İÇİN TEDAVİ SEÇENEKLERİ

SDBY olan hastalarda tedavi seçenekleri; hemodiyaliz, periton diyalizi ya da böbrek naklidir.

2.2.1.Hemodiyaliz

Tüm dünyada SDBY'liği tedavisinde seçilen asıl tekniktir. Diyaliz merkezinde yapıldığı zaman, hemodiyaliz (HD) tedavisi tipik olarak 2.5-5 saat sürmekte ve haftada 3 kez yapılmaktadır. Böbrek yetmezliği sonucunda vücutta birikmiş olan üre, kreatin, potasyum, fosfor gibi zararlı ürünlerin vücuttan atılması gerekmektedir. Bu maddelerin bir membran aracılığıyla kandan temizlenmesi işlemine diyaliz adı verilir (7,8).

2.2.2.Periton diyaliz

Periton diyalizi (PD), peritonu endojen bir diyaliz membranı olarak kullanarak sıvı ve solut transportunu sağlayarak hemodiyalize alternatif oluşturur. Sürekli ayaktan periton diyalizi (SAPD) veya sürekli siklik periton diyalizi (SSPD) olarak yapılır. PD, özel bir diyaliz sıvısının, 1,500-3,000 ml olacak şekilde yer çekiminin etkisiyle periton boşluğuna verilmesi ve belirli bir bekleme süresinden sonra boşaltma işleminin yapılmasından oluşur. Periton membranı yarı geçirgen, diyaliz membranı olarak, solut yükün ekstrasellüler sıvıdan difüzyonla diyalizata geçmesine izin verir. Küçük moleküllerin geçisi HD'e göre göreceli olarak daha az etkiliyken, yüksek moleküllü solutlerin geçisi daha iyidir. Düzenli diyaliz yapılan hastalarda sağkalım süreleri iyileştikçe, iyi rehabilite edilmiş ve tıbbi bakımdan uyumlu hastalarda bile ya uzun süren böbrek yetmezliğinin yada uzamış diyalizin bıkırtıcı komplikasyonları gelişebilmektedir. KBY, toplum sağlığı açısından diğer hastalıklar arasında küçük bir yer işgal etse de diyaliz masrafları en zengin ülkelerin sağlık servisleri için dahi önemli risk oluşturmaktadır. Ayrıca psikolojik açıdan hastaları son derece olumsuz etkileyen bir durumdur. Bu komplikasyonlar böbrek nakli için tıbbi indikasyonları ve tedavi seçeneği olarak böbrek nakli tercihini etkileyebilmektedir (7, 8).

2.2.3.Böbrek nakli

Böbrek nakli SDBY'de uygulanan, kaybedilmiş böbrek işlevlerini yerine koyma tedavisi olarak iyi yaşam kalitesi şansı veren ve bazı durumlarda hastanın yaşamasının tek yolu olarak değerlendirilmektedir (3). İlk başarılı böbrek nakli 1954'te yapılmıştır (13,14). 1960'lı yıllardan bu yana böbrek nakli, KBY'li olan birçok hastanın sağlıklı ve uzun bir hayat sürmesini sağlamıştır (15). Hasta ve verici arasındaki genetik ilişkilere göre dört graft tipi bulunmaktadır. Aynı genetik özelliklere sahip bireyler arasında nakledilen grafta singraft denir. Aynı türün genetik bakımdan birbirinden farklı bireyleri arasında nakledilen grafta allograft denir. Farklı türün bireyleri arasında nakledilen grafta ksenograft, bir doku veya organın aynı bireyde bir yerden başka bir yere nakledilmişse, kullanılan grafta ise otograft adı verilmektedir (16).

Günümüzde böbrek nakli için, canlıdan ve kadavradan organ temin edilmektedir. Bir böbrek naklinin başarısı için etkili faktörler arasında hasta ve vericisi arasındaki İnsan Lökosit Antijenlerinin (Human Leukocyte Antigens=HLA) uyumu, ABO kan grupları uygunluğu, hastada verici HLA'larına karşı oluşmuş antikorların

varlığının belirlenmesi ve immüsupresif tedavi önemli yer tutmaktadır (17). Bilindiği gibi nakledilen dokunun veya organın, kabul yada red edilmesi, HLA genleri tarafından kodlanan proteinlerin kontrolü altındadır. Bunun yanında böbrek nakli olacak hastanın daha önceden yapılmış ve red olmuş nakilleri kadar, gebelik ve kan tranfüzyonlarından dolayı herhangi bir HLA'larına karşı immünize olup olmadığının araştırılması da büyük önem taşımaktadır. Bu araştırmalar yapılmadan gerçekleştirilen nakillerde hiperakut rejeksiyonlar görülebilmektedir. (18,19,20).

Böbrek nakli öncesinde hasta ve verici arasındaki uyumu belirlemek için bir takım immunolojik değerlendirmeler yapılmaktadır. ABO kan grubu testleri tüm alıcı ve vericilere uygulanmaktadır. ABO kan grubu uyumsuzluğu nakil için çok önemli bir engel oluşturmaktadır. Vericinin kan grubu ile potansiyel alıcıların kan grupları mutlaka uygun olmalıdır. ABO uyumsuzluğu olan nakilli hastaların çoğunda hiperakut veya akut rejeksiyon meydana gelmektedir. Rejeksiyonun A ve B kan grubu antijenleri ile vasküler endotel üzerinde reaksiyona giren antikor nedeniyle meydana geldiği tahmin edilmektedir. Bu nedenle organ nakillerinde ilk ve en önemli parametredir. Öncelikle aynı kan grubu olanlar tercih edilmektedir (17, 21). Kadavra nakillerinde ise O kan grubundan A kan grubuna takılması önerilmemektedir. A kan grubundan olan kişiler ya A1 yada A2 alt tipine sahiptir. Bu alt gruplar kişilerde belirlenemediğinden dolayı O kan grubundan A'ya nakil yapılması riskli olabilmektedir. Diğer kan gruplarında ise canlı nakillerde olduğu gibidir (22, 23).

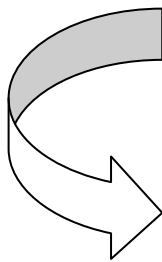
Doku uyumunu belirlemek için hasta ve verici çiftlerine yapılan HLA tipleme serolojik ve moleküler yöntemlere dayanmaktadır. Mikrolenfositotoksitesite olarak da adlandırılan serolojik yöntemde, alloantisserum ve monoklonal (bir tek antijene özgü) antikorlar kullanılarak tersiyer epitoplar ve hücre yüzeyindeki HLA glikoproteinlerinin çapraz reaksiyon veren grupları tanımlanmaktadır. Ancak serolojik yöntemler, yeterli miktarda antisserum olmaması, alellerin birbirinden yeteri kadar ayırt edilememesi, antijen-antikor birleşmesine ve komplemana bağımlı olması, tekrarının zor olması, değerlendirmesinin ölü hücre oranları ile yapılması gibi sebeplerle yetersiz kalabilmektedir. Günümüzde moleküler teknikler ise hızlı ve güvenilir bir şekilde sonuç veren, homozigotluğu kesin olarak saptayabilen yöntemlerdir. Bu teknikler HLA alellerini DNA düzeyinde çözümlayebilmektedir (24, 25).

Bu testlerin yanında özellikle böbrek hastaları açısından çok önemli bir test olan çaprazlama (Cross-Match-CM) testi uygulanmaktadır. CM hasta serumunda vericinin HLA'lerine karşı antikor oluşup oluşmadığını gösteren bir test sistemidir (20). Böbrek nakilli hastalarda anti-HLA antikorları yabancı HLA antijenleri ile karşılaşma sonrası oluşabilir. Bu karşılaşma kan transfüzyonları, gebelik ve önceden geçirilen redler ile gerçekleşmektedir. Nakil öncesi hasta serumunda, anti-HLA antikorları komplemana bağlı lenfositotoksisite testi (lymphocyte Cross-Match, lenfosit CM) ile tayin edilir. Pozitif CM, graftın reddine neden olur. Böbrek naklinde CM'in klinik önemi 1960'lar da saptanmıştır. Pozitif CM sonucu olan bir hastaya yapılan nakil sonunda hiperakut rejeksiyon geliştiği bildirilmiştir. 1980'lerde kadaverik böbrek naklinden sonra erken graft yetmezliği riski %35-50'lerde olduğu belirtilmiştir (26). Bununla birlikte 1990'dan beri bu risk dereceli olarak azalmıştır. Bu düzelleme zamanla böbrek nakillerindeki başarıyı arttırmak amacıyla klasik CM tekniklerine ilave teknikler geliştirilerek sağlanmıştır. Anti-Human Globulin (AHG) ve Akım Sitometri-çaprazlama (Flow Cytometri-Cross-Match- ASCM) gibi daha hassas çaprazlama teknikleri bunlara örnek olarak verilebilir (26). Bir hastanın serumunda HLA'lerine karşı antikorların varlığının saptanması için tarama testi yapılmaktadır ve bu antikorlar da Panel Reaktif antikorlar (PRA) olarak isimlendirilmektedir. Bu antikorlar incelenmeden ve dikkate alınmadan nakiller gerçekleştirilirse hiperakut redler görülebilmektedir (16).

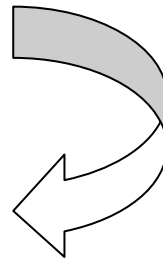
2.3. İMMÜN YANIT

İmmün yanıt birçok hücrenin rol aldığı kompleks bir olaydır. Organizmanın kendisini koruma, kendine yabancı olan maddeyi tanıması ve buna karşı yanıt vermesine immün yanıt denir. İnsan vücudunun kendi doku ve organlarına zarar verebilecek etkenlere karşı direnç gösterme yeteneğine immünite (bağışıklık) adı verilir.

İmmün sistemin kullandığı iki ana savunma sistemi vardır;



Doğal Bağışıklık
(non-spesifik)



Edinsel Bağışıklık
(spesifik)

Mikroorganizmalara karşı savunmada ilk önce doğal immün yanıtlar daha sonra ise edinsel immün yanıtlar devreye girmektedir (27).

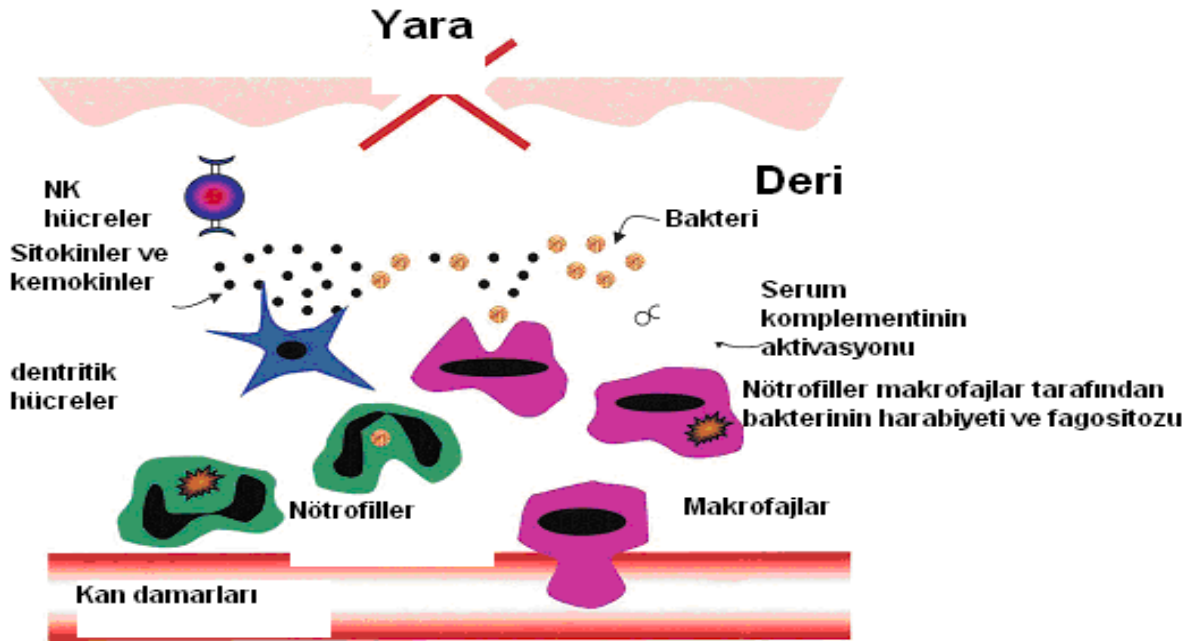
2.3.1.Doğal immün yanıt

Doğal immün sistem edinsel sisteme kılavuzluk yapacak bilgileri toplama ve edinsel immün sistemi aktive etmek üzere organize olmaktadır. Doğal immün sistemi; dış kaynaklı metillenmemiş DNA, virüslere özgü çift iplikli RNA, lipopolisakkaritler gibi bakteriyel duvar proteinleri ve iç kaynaklı ısı şok proteinleri tarafından uyarılır (28).

Doğal immün yanıtın en önemli bileşenleri aşağıda görüldüğü gibidir.

- epitel ve epitelyal yüzeylerde üretilen anti-mikrobiyal maddeler gibi fiziksel (deri, saç, mukoza) ve kimyasal bariyerler (ter, gözyaşı, tükürük, mide asidi, idrar)
- fagositik hücreler (nötrofiller, makrofajlar) ve doğal öldürücü (natural killer-NK) hücreler,
- kompleman sistemi üyelerini içeren kan proteinleri,
- doğal immün sistemi hücrelerinin aktivitelerini düzenleyen ve koordine eden 'sitokin' adı verilen proteinlerdir.

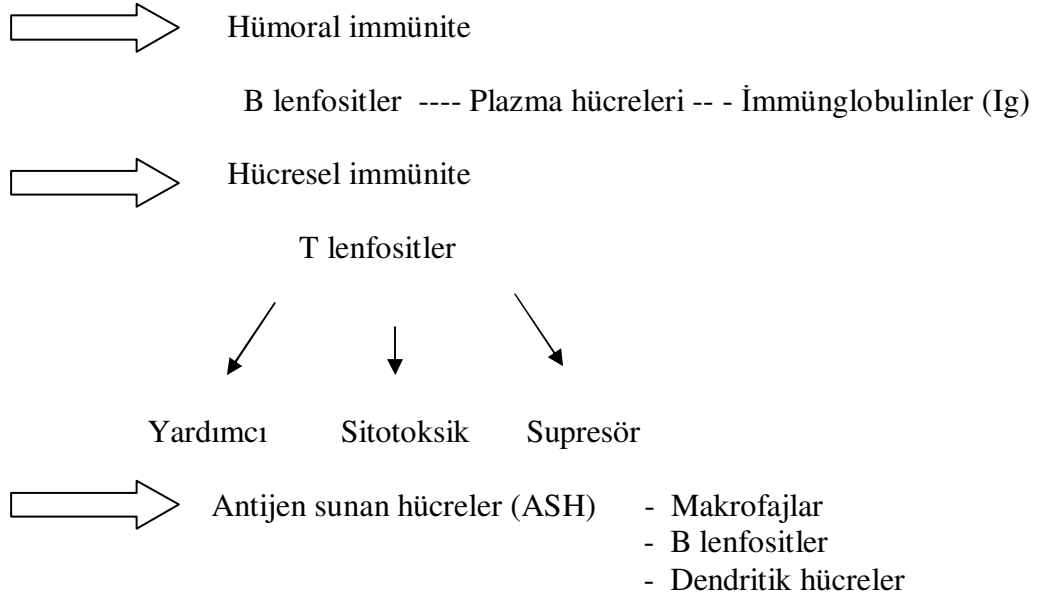
Doğal immünitenin yapı taşları, konak hücrede bulunmayan, buna karşın farklı mikroorganizmalar üzerinde ortak olarak bulunan yapıları tanırlar. Doğal immünite aynı etkenle her karşılaşmasında benzer biçimde yanıt oluşturur (şekil 2.4.1) (27,29).



Şekil 2.3.1: Doğal immünite elemanları

2.3.2. Edinsel immün yanıt

Doğal bağışıklıktaki engelleri aşarak vücudumuza girebilen enfeksiyon etkenlerine karşı, organizmanın kendisini savunmasıdır. Edinsel immün sistemin hedefinde ise özgün yabancı immünojenler ve yabancı proteinlerin epitoplari vardır. Belirgin bir uyarana ya da antijene karşı başlayan olaylardır. Edinsel immün sistemin bileşenleri (şekil 2.3.2);



Şekil 2.3.2: Edinsel immün sistemin bileşenleri

Edinsel immün yanıt farklı pek çok antijene özgül olup aynı antijenle tekrar karşılaşma halinde 'immünolojik hafıza' özelliği sayesinde şiddetini artırır (27, 28, 29). İmmün sistemin farklı bileşenlerinin aracılık ettiği ve farklı mikroorganizma tiplerini ortadan kaldırmak üzere rol oynayan iki çeşit edinsel immün yanıt vardır (27, 29). Hem hümorale hem de hücrele immünite adını alan bu oluşumdaki merkezi olay, T hücrelerinin aktivasyonu ve klonal çoğalmasıdır (şekil 2.3.3) (30, 31).

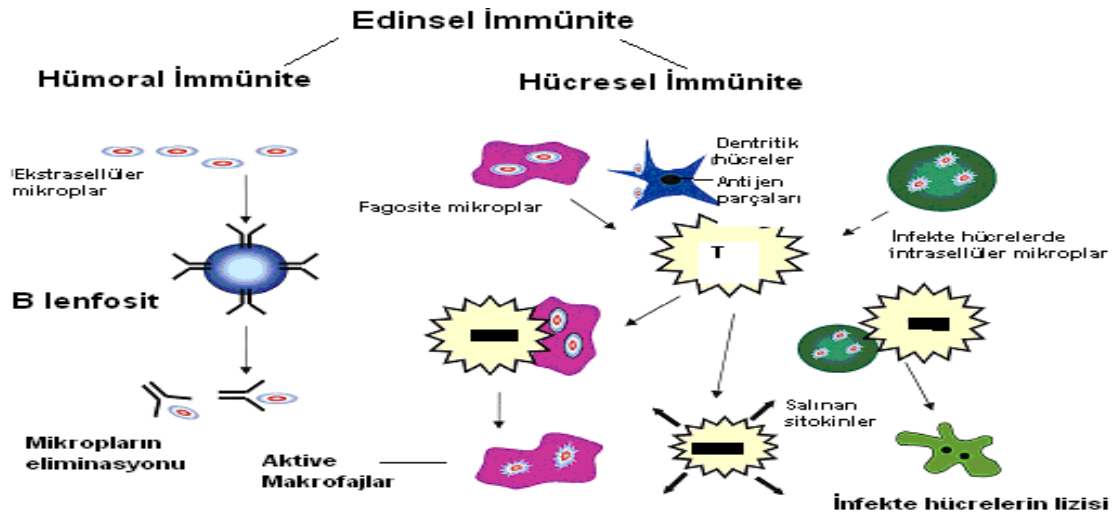
2.3.2.1 Hümorale immünite

Plazma hücreleri tarafından sentez edilen glikoprotein yapısındaki immünglobulinler ile gerçekleşen immün yanıtıdır. Ig'ler antikor olarak da adlandırılmaktadır. Antikorlar mikrobik antijenleri tanırlar, yabancı antijenlerin enfeksiyon oluşturma özelliğini nötralize ederler ve ortadan kaldırılmak üzere çeşitli efektör mekanizmalara yönlendirirler. Hümorale immünite hücre dışı antijenler ve bunların toksinlerine karşı geliştirilen ilk savunma mekanizmasıdır. Antikorlar bu

mikroplara bağlanarak, pek çok farklı efektör mekanizmayı harekete geçirebilecek özelliğindedir (şekil 2.3.3) (32).

2.3.2.2. Hüresel immünite

T lenfositlerin aracılık ettiği immün yanıtıdır. Virüsler ve bazı bakteriler gibi hücre içi yabancı antijenler, fagositler ve diğer konak hücrelerin içerisinde yaşarlar. Bu sebeple dolaşımdaki antikorların bu mikroorganizmalara ulaşması imkansızdır. Bu tip enfeksiyonlara karşı savunmada T lenfositler ya fagosite edilmiş mikroorganizmaları öldürmek üzere makrofajları aktive eder ya da sitotoksik T lenfositler enfekte hücreyi doğrudan öldürür (şekil 2.3.3) (32).



Şekil 2.3.3: Edinsel immün yanıt elemanları

Edinsel immünitenin temel hücreleri lenfositler (T,B ve NK), ASH'ler ve efektör hücrelerdir. Lenfositler yabancı antijenleri özgül olarak tanıyan ve yanıt veren hücrelerdir. Antijenleri tanıma, şekilleri ve işlevlerindeki farklılıklar lenfositlerin alt gruplarını tanımlar.

2.3.2.2.1. B lenfositler

Kanda dolaşan lenfositlerin % 20 – 30 kadarını oluştururlar. B lenfositleri, kemik iliğinde hematopoietik kök hücrelerden gelişimlerine başlar ve memelilerde (insanda) burada olgunlaşmalarını tamamlarlar. Hümorale immuniteden sorumlu hücrelerdir. Kemik iliğinden yapılarak dolaşıma çıkan B hücreler olgunlaştıkça antikor yapacakları antijene göre değişir ve böylece özel bir antikor üretimi için programlanmış olurlar. B hücreleri yüzeylerinde reseptör olarak glikoprotein yapısındaki Ig moleküllerini taşırlar. B lenfositlerinin yüzeyinde IgM, IgD ve IgG'nin Fc kısmına karşı reseptörler vardır. Yüzeylerinde Ig moleküllerini taşıyan B hücreleri, antijenik bir uyarı aldıkları zaman,

aktive T hücreleri ve makrofajlardan salınan çoğalma ve farklılaşma faktörlerinin etkisi altında 12 saat içinde çoğalırlar ve plazma hücrelerine dönüşerek antikor salgırlar (32,33).

2.3.2.2.2. T lenfositler

Kanda dolaşan lenfositlerin % 70 – 80 kadarını oluştururlar. T lenfositleri, kemik iliğinde hematopoietik kök hücrelerden meydana gelmekte ve timosit hücreleri olarak kemik iliğinden timusa göç edip burada olgunlaşmaktadırlar (34,35). Olgunlaşmaları sırasında farklılaşma geçirerek, antijenleri tanımaları için gerekli olan glikoprotein yapıda yüzey reseptörlerini (cluster of differentiation– CD) kazanırlar (33,34).

T lenfositleri yüzeyinde bulunan T hücre reseptör kompleksi, iki farklı yapıdan oluşur. Bunlar; THR (T hücre reseptör) ve CD3'tür. TCR 100 kD ağırlığında olup, Ig gibi, değişken (V) ve sabit (C) domainlerden oluşmuş, heterodimer yapıda bir çift polipeptid zincirden meydana gelmiştir. % 95'i $\alpha\beta$, % 5'i $\gamma\delta$ heterodimeridir. TCR, antijenleri özgül olarak tanıyabilmektedir. CD3 ise her biri 21-26 kD ağırlığındaki 3 membran proteininden oluşmuştur. CD3 kompleksi $\gamma, \epsilon, \delta, \zeta, \eta$ zincirlerin dimer oluşturması ile meydana gelir. η zinciri ile ζ zinciri aynı genden orijin alır. RNA splicing'deki farklılıktan dolayı karboksil terminal uçlarında farklılık vardır. ζ ve η diğerlerinden farklı olarak kısa (9 aa.) external bölge, transmembran bölge ve uzun bir internal kuyruğa sahiptir. Internal kuyruk, η 'da 113 aa., ζ 'da ise 155 aa. dir. CD3'ün transmembran bölgesindeki aspartik asit moleküle (-) yük kazandırır. Bu özellikle, CD3'ün TCR'nin transmembran bölgesinde (+) yüklü olan 1 ya da 2 aa. ile etkileşimini sağlar. CD3'ün sitoplazmik kuyrukları, immünreseptör tirozin baz aktivasyon motif (ITAM) adı verilen bir motif içerir. Bunların sinyal iletilmesinde önemli rolleri vardır. Tirozin kinazlar ile etkileşmektedirler. CD3 molekülünün antijenik sinyali, internal kuyruk aracılığı ile hücre içine ilettiği kabul edilmektedir (34).

T lenfositler ise antikor üretmezler, reseptörleri antikorlardan farklı olarak membrana bağlıdır ve hücre içi mikropların antijenlerini tanıyıp ortadan kaldırmakla görevlidirler. T lenfositlerin antijen özgüllüğü sınırlıdır, bu sebeple yalnızca büyük doku uygunluk kompleksi (Major Histocompatibility Complex-MHC) dahilindeki genlerde kodlanan konak proteinlerine bağlı olan ve diğer hücrelerin yüzeyinde sunulan peptit antijenleri tanırırlar. Sonuç olarak, T hücreleri çözünür antijenleri değil de hücre yüzeyi ile bağlantılı antijenleri tanır (32). T lenfositler işlevsel olarak farklı alt

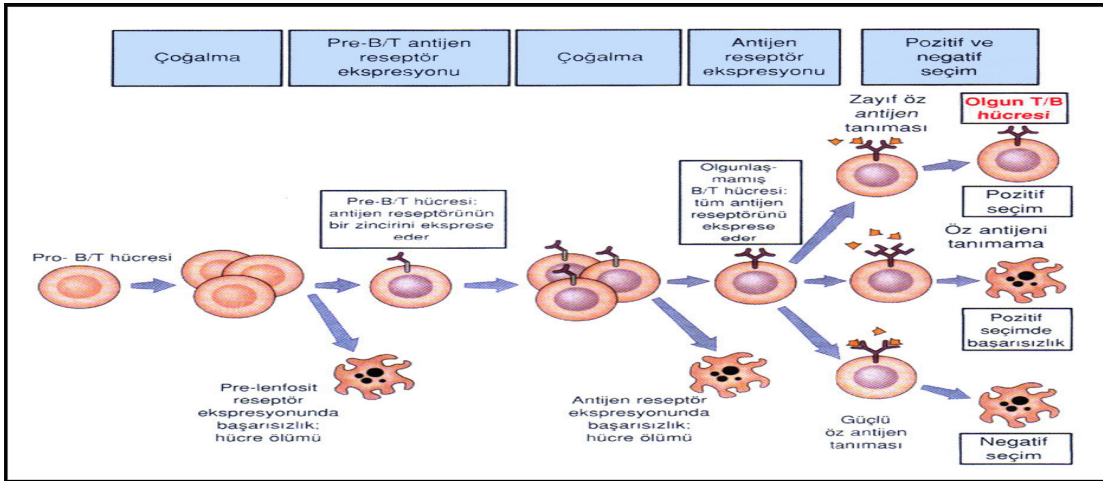
gruplardan oluşurlar. En iyi tanımlanmış olanlar CD4+ [(yardımcı T lenfositler (T hepler-Th)] ve CD8+ [(sitotoksik T lenfositler (sTL)]'dir. Antijenik uyarıyı takiben Th hücreleri sitokin salgılar. Bu sitokinler, T lenfositlere ek olarak B hücreleri, makrofajlar ve diğer lökositlerin de çoğalması ve farklılaşmasını tetiklerler. sTL'ler virüslerle enfekte edilmiş olan hücreler ya da diğer hücre içi mikroplar gibi yabancı antijenleri üreten hücreleri öldürürler. Düzenleyici T hücreleri (T regülatör-Treg) olarak adlandırılan bazı T hücrelerinin işlevi temelde immün yanıtları baskılamaktır. Bu T hücrelerinin oluşumu ve meydana gelişi tam olarak anlaşılamamıştır.

B ve T lenfositler oldukça farklı ve spesifik antijen reseptörleri eksprese ederler ve edinsel immün yanıtların özgüllüğü ve hafızada tutulmasından sorumludurlar. (32,36). Genel olarak, bir antijene karşı immün yanıtın oluşması, onun T lenfositler tarafından tanınmasıyla başlar. Edinsel bağışıklığın başlaması ve gelişmesi için antijenlerin yakalanması ve özel lenfositlere gösterilmesi gereklidir. Antijenler dinlenme halindeki Th lenfositine; monosit, makrofaj, dentritik hücreler (DH), glia hücreleri, derinin langerhans hücreleri gibi ASH'ler tarafından sunulurlar. Mononükleer fagositler ve foliküler dendritik hücreler (FDH) de ASH özelliğine sahip hücrelerdir. B hücreleri de özel şartlarda T hücrelerine antijen sunarlar. Bu hücreler dış ortamdaki hücre içine giren mikrobik ajanları yakalar ve immün yanıtları başlatmak üzere bu antijenleri naif T hücrelerine sunar. (32). Lenfositlerin antijenle aktivasyonu efektör hücreler olarak adlandırılan hücrelerin katılımıyla antijenin ortadan kaldırılmasını sağlar. Aktive olmuş T lenfositler, mononükleer fagositler ve diğer lökositler, immün yanıtların farklı basamaklarında efektör hücreler olarak görev alırlar (32,37).

Hem B hem de T lenfositler, kemik iliğinde ortak bir öncüden köken alırlar. B hücre gelişimi kemik iliğinde devam ederken, T hücre öncülleri timusa göç eder ve olgunlaşır. Olgunlaşmadan sonra, B ve T hücreleri kemik iliği ve timusu terk edip dolaşıma katılır ve periferik lenfoid organlara yerleşirler (32,38). İmmün sistem dokuları T ve B lenfositlerin olgunlaştığı ve antijene yanıt verebilecek hale geldiği kemik iliği ve timusdan oluşan primer lenfoid organlar (üretken, merkezi lenfoid organlar) ile naif lenfositlerin antijenle karşılaştığı lenf nodu ve dalak gibi periferik lenfoid organlardan (sekonder lenfoid organlar) oluşur (39). B ve T hücre olgunlaşması, antijen reseptör gen segmentlerinin somatik rekombinasyonunu ve B hücre öncülerinde Ig moleküllerinin, T hücre öncülerinde ise THR moleküllerinin ekspresyonunu içerir. B

ve T hücrelerinin antijen reseptörleri sınırlı sayıdaki gen segmentinin somatik rekombinasyonu ile oluşan genler tarafından kodlanır (32).

B ve T lenfositler, lenfosit soyunu oluşturmak üzere programlanmış, kemik iliği kökenli ortak bir atadan gelişirler. B hücre olgunlaşması kemik iliğinde ilerlerken, erken T hücre öncülleri timusa göç ederek olgunlaşmalarını burada tamamlarlar. Olgunlaşmış lenfositler özgüllüklerini korumak için olgunlaşmalarının farklı aşamalarında seçilirler. Seçim, antijen reseptörünün ekspresyonu ve reseptörün neyi tanıdığına bağlıdır. Antijen reseptörünü taşımakta başarısız olan öncül lenfositler apoptoz ile ölür. Olgunlaşmamış T lenfositleri kendi MHC moleküllerini tanımak üzere seçilir; bu süreç pozitif seçim olarak adlandırılır. Olgunlaştıktan sonra bu T hücreleri aktive olmak için aynı MHC molekülünü tanımaya ihtiyaç duyarlar. Pozitif seçim, gelişen lenfositlerdeki antijen reseptörünün timustaki MHC moleküllerini tanınması ve doğru (kendi MHC'si ile sınırlı) antijen reseptörleri ile olgunlaşma sürecini tamamlayacağından emin olarak yaşamının devamı ve çoğalması için gereken sinyalleri iletmesine dayanır. Olgunlaşmamış T ve B lenfositleri, sırasıyla kemik iliği ve timusta sunulan kendi antijenlerini yüksek afiniteyle tanımlarıyla da seçilirler. Bu süreç negatif seçim olarak adlandırılır. Negatif seçim ile üretken lenfoid organlar dahil tüm vücutta bulunan, kendi antijenlerine karşı reaksiyon gösterebilen potansiyel olarak tehlikeli lenfositler yok edilebilir (şekil 2.3.4) (40).



Şekil 2.3.4: Lenfositlerin olgunlaşma aşamaları

Lenfositler ve aksesuar hücreler anatomik olarak farklı lenfoid organlarda yoğunlaşmışlardır. Lenfositler kanda da mevcuttur ve antijeni ortadan kaldırmak üzere lenfoid dokular ve antijenin olduğu periferik bölgeler arasında gidip gelebilir (44).

Edinsel immün yanıtın farklı evreleri vardır (40);

- 1) Antijenle karşılaşma ve lenfositler tarafından tanınma,
- 2) Lenfosit aktivasyonu,
- 3) Saldırı,
- 4) Homeostaz-immün yanıtın azalması,

1) Antijenin tanınması

Her birey klonal kökenli çok sayıda lenfositte sahiptir. Her bir klon tek bir öncüden oluşur ve farklı bir antijenik determinantı tanıma ve yanıt verme kapasitesindedir. Bir antijen vücuda girdiğinde daha önceden var olan özgül bir klonu seçer ve onu aktive eder. Bu kavrama klonal seleksiyon hipotezi denir.

2) Lenfositlerin aktivasyonu

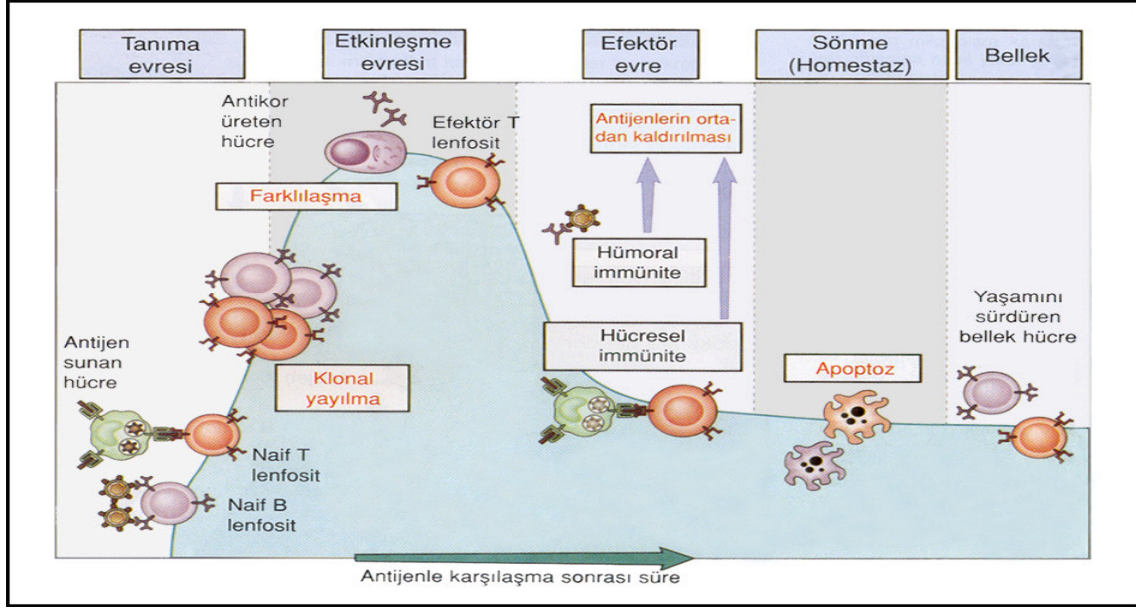
Lenfositlerin aktivasyonu iki sinyale ihtiyaç duyar. İlk sinyal antijenin kendisidir. Bu sinyal immün yanıtın özgülüğünün göstergesidir. İkinci sinyal ise hasarlı dokular ya da mikroplara karşı oluşturulmuş olan doğal immün yanıtın bileşenleridir. Bu ikinci sinyal, immün reaksiyonların yalnızca gerektiği zaman meydana geldiğini ve öz antijenler de dahil olmak üzere zararsız moleküllere karşı gelişmediğinin garantisidir. Lenfositlerin antijenlere ve ikinci sinyallere yanıtları sonucunda yeni proteinlerin sentezi, hücresel proliferasyon ve efektör ile hafıza hücrelerine farklılaşma gerçekleşir (40).

3) Antijenlerin ortadan kaldırılması

Edinsel bağışıklığın bu efektör fazı, doğal bağışıklıkta da görev alan kompleman sistemi ve fagositler de dahil olmak üzere farklı savunma mekanizmalarına ihtiyaç duyar. Bu mekanizmalar, yanıtı oluşturan mikropları ve antijenleri nötralize eder ve ortadan kaldırır.

4) Homeostaz-immün yanıtın azalması

İmmün yanıtın sonunda immün sistem dinlenme haline geri döner. Antijenle uyarılmış lenfositlerin büyük bir kısmı apoptoz ile ortadan kaldırılır. Antijenle aktive olmuş T ve B lenfositlerin bazıları dinlenme evresinde uzun süre yaşayabilen hafıza hücrelerine farklılaşırlar. Bu hafıza hücreleri antijenle bir daha karşılaşıldığında daha hızlı ve etkin bir immün yanıt oluşturmak için gereklidir (şekil 2.3.5) (40).



Şekil 2.3.5: Edinsel immün yanıtın evreleri

2.3.2.2.2. NK hücreler

Üçüncü bir lenfosit grubu ise NK hücreleri olup, bu hücreler virüsler ve diğer hücre içi mikroplara karşı immün yanıtta katılırlar (32).

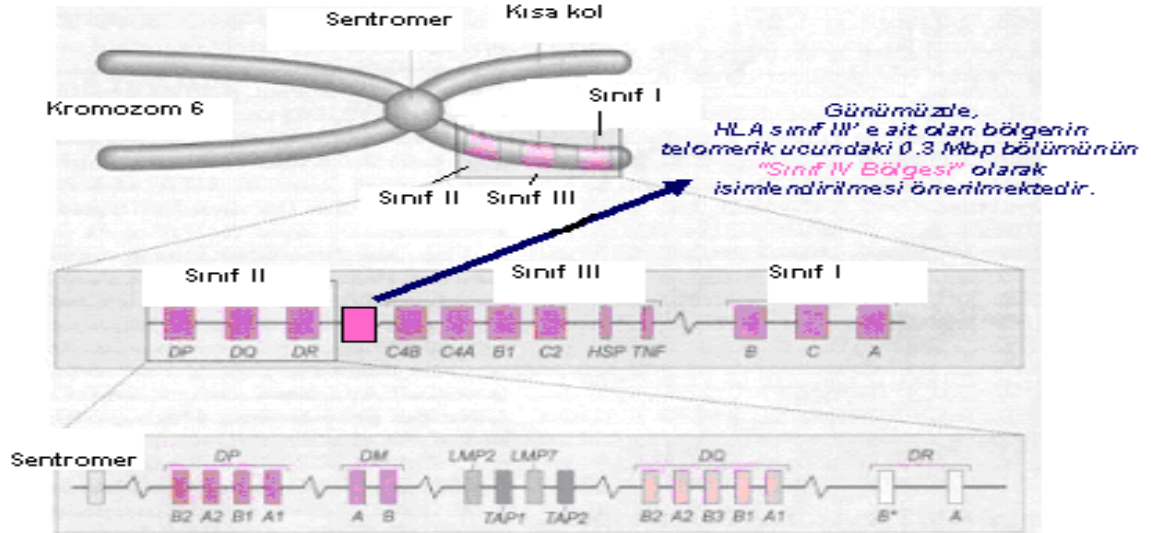
2.4. ALLOİMMÜN YANIT

Alloimmün yanıtın merkezinde T lenfositleri vardır. ASH'ler üzerinde sunulan verici antijenleriyle (alloantijenler) aktivasyonu takiben, allospesifik T lenfositleri çoğalır ve eftör hücrelere farklılaşır veya allograft üzerindeki hasarı ortadan kaldırmaya çalışan diğer hücrelere yardım eder (32). İnsanda alloimmün yanıtın başlamasından sorumlu öz olmayan en önemli antijenler HLA olarak bilinen MHC proteinleri ile gerçekleşir. Hücre yüzeyinde bulunan MHC molekülleri yabancı antijenleri bağlayarak immün sistemin eftör hücrelerine sunar ve immün cevabın başlamasında önemli rol oynar (42,43).

MHC gen bölgesi, 6. kromozomun kısa kolu üzerine yerleşmiş 200'den fazla gen içeren bu bölge 4 centimorgan uzunluğunda olup yaklaşık 4 Mbp'lik yer kaplamaktadır (42,43). MHC, çeşitli hücrelerin yüzeyinde eksprese olan proteinleri kodlayan gen grubunu içerir. Yüksek oranda polimorfik olan bu bölgedeki genler tarafından kodlanan proteinlerin bazıları graft reddinde önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle nakil antijenleri olarak da adlandırılırlar (18,44). 1958'de Dausset, Snell ve Rappaport ilk kez insanda lökositlerde MHC antijenlerini göstermişlerdir. Aynı yıl Van

Rood ve arkadaşları birden fazla kan transfüzyonu yapılmış kişilerin ve çok doğum yapmış kadınların serumlarında lökositlere karşı oluşmuş antikorları göstermişlerdir (45). MHC gen bölgesi ürünleri olan ilk doku antijenleri lökositlerin yüzeyinde tespit edildiğinden HLA olarak tanımlanmışlardır. Daha sonra yapılan çalışmalarda bu antijenlerin sadece lökositlerde değil, doku hücrelerinde de bulunduğu anlaşılmıştır (42, 44, 46).

1930'lu yılların ortalarında R.A. Gorer ve Snell yabancı dokunun reddinde MHC antijenlerinin rol oynadığını belirlemişlerdir (47). MHC molekülleri her bir bireyde eş-baskın (kodominant) olarak eksprese edilir ve MHC kompleksinde üç grup gen bölgesi (Sınıf I MHC, Sınıf II MHC, Sınıf III MHC) tanımlanmıştır (şekil 2.4.1) (42,48).



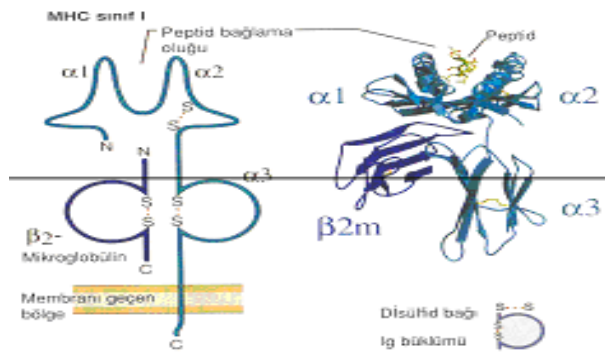
Şekil 2.4.1: MHC lokusunun genleri

2.4.1. MHC sınıf I molekülleri

MHC sınıf I molekülleri, bütün çekirdekli hücrelerde bulunmaktadır. Bu bölge HLA-A, B, C, E, F, G, H, J ve X lokuslarını içermektedir. HLA-A, B, C lokusları klasik sınıf I lokusu olarak polimorfik ve fonksiyoneldir. HLA E, F, G, H, J ve X lokusları ise klasik olmayan lokuslar olarak bilinirler. Bu lokuslar yalancı gen olup herhangi bir protein ürünü kodlamazlar (47). MHC sınıf I molekülleri birbirine kovalent olmayan bir şekilde bağlanmış, amino ucu hücre dışında bir ağır zincir ve kovalent olmayarak bağlı β_2 mikroglobulinden oluşan iki ayrı polipeptid zincir içermektedir. Bunlardan α polipeptid zinciri 44 kD ağırlığında ve 338 amino asit (aa) uzunluğunda birbirine disülfid bağlar ile bağlı üç ilmekten oluşur. N terminal uç ile başlayan molekül, ekstrasellüler hidrofilik bölge (1-281 residue), transmembran hidrofobik bölge (282-306

residue) ve intrasellüler hidrofilik bölge (307-338 residue) olmak üzere üç bölüme ayrılır. Ağır zincirin ekstrasellüler bölgesinde bulunan moleküllerden α_1 ve α_2 membranın distalinde yer alır ve her ikisi birden molekülün peptid bağlama bölgesini oluşturur. Bu bölgeler 1. ve 2. eksonlarda kodlanır ve değişkenliği belirler. Membran proksimalinde yer alan α_3 ise T hücresi üzerinde bulunan CD8 molekülü ile etkileşme bölgesini taşır (48).

15. kromozomda MHC içerisinde ağır zincire ek olarak bir gen tarafından kodlanan β_2 -mikroglobulin, 12 kDa'lık bir alt birimdir. Polimorfik olmayan β_2 -mikroglobulin membrana tutunmadan MHC sınıf I ağır zincirleri ile ilişkilidir. MHC sınıf I moleküllerine bağlanan peptidlerin 8-9 aminoasitten daha uzun olmadığı ve bunların eksojen peptidler olduğu gösterilmiştir. β_2 -mikroglobulin ağır zincir-antijenik peptid ilişkisi için gereklidir. Bu molekül ağır zincir bağlantısını stabilize eder (şekil 2.4.2) (48,49).



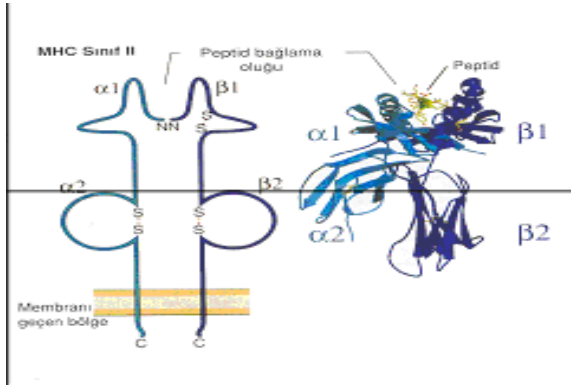
Şekil 2.4.2: MHC sınıf I molekülünün yapısı

2.4.2. MHC sınıf II molekülleri

MHC sınıf II molekülleri, özellikle B lenfositlerde, makrofajlarda, DH'lerde, endotel hücrelerde ve aktive T hücrelerinde bulunur. Makrofaj ve lenfositlerin etkileşiminde rol oynarlar (42). HLA-DM, DN, DO, DP, DQ ve DR olmak üzere altı farklı lokusdan oluşmuştur. DM, DN, DO lokusları yalancı gen olup herhangi bir protein ürünü kodlamazlar. Heterodimer yapısında tip I integral membran proteinleridir. MHC sınıf II molekülleri de birbirine kovalent olmayan bir şekilde bağlanmış iki polipeptid (α ve β) zincir içerir. α zinciri 32-24 kD ve β zinciri de 29- 32 kD ağırlığındadır. MHC sınıf II moleküller α ve β primer aa dizisine ve kristal yapısına göre dört bölgeye ayrılmaktadır.

- a) Amino terminal ekstrasellüler peptid bağlayan bölge,
- b) Ekstrasellüler Ig benzeri bölge,
- c) Transmembran bölge,
- d) Sitoplazmik bölge,

Genetik düzeninde α ve β zincirinin 2. eksonu (α_1 ve β_1) işlevsel olarak peptid bağlama bölgesine uyan değişken bölgeyi kodlar. Bu molekülün değişken bölgesini iki ayrı zincir birlikte oluşturur. Her iki molekülde ekstrasellüler hidrofilik bölge, transmembran hidrofobik bölge ve intrasellüler hidrofilik bölge içerir. Hem α hem de β zincirinin transmembran bölgesinin bulunması bu molekülün stabilizasyonunu artırmaktadır (47). Sınıf II molekülünün ayrılma bölgesi, bir CD4+ T_H hücreesine tanıtmak üzere peptitleri bağlayabilir. Sınıf II molekülünün ayrılma bölgesi açık uçludur ve 11 aminoasitten daha uzun peptitleri bağlayabilir. MHC sınıf II bölgesindeki taşıyıcı proteinler olan (adaptör protein-antijen sunulumu ile ilgili protein-TAP) TAP1, TAP2, LMP2 ve LMP gibi diğer genler HLA molekülünün işlenmesinde ve sunumunda önemli rol oynar (47,50) (şekil 2.4.3).



Şekil 2.4.3: MHC sınıf II molekülünün yapısı

2.4.3. MHC sınıf III molekülleri

MHC sınıf III genleri arasında birkaç kompleman geni (C2, C4a, C4b ve Faktör B), Tümör Nekrozis Faktör üyeleri (TNF- α , TNF- β , LTA, LTB) ve ısı şok proteinlerini kodlayan genler bulunmaktadır. Bu bölge MHC sınıf I ve MHC sınıf II bölgelerinin arasındadır (47, 51).

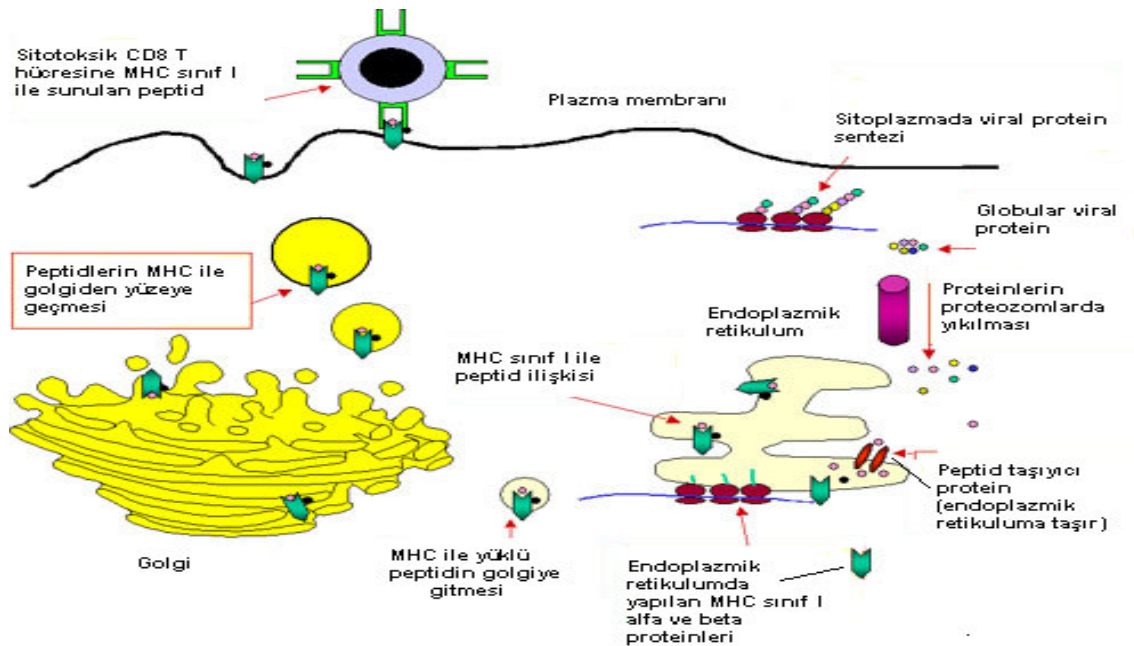
2.4.4. MHC moleküllerinin işlenmesi

Hem hücresel hem de hümmoral oluşumdaki merkezi olay, T hücrelerinin aktivasyonu ve klonal çoğalmasüdür. İmmün yanıt birçok hücrenin rol aldığı karışık bir olaydır. Hücresel immün sistemin aktif hale gelmesi; konak organizmaya bir antijenin

girmesi, ASH'ler tarafından işlenerek lenfositlere sunulması ve lenfositler tarafından tanınmasıyla başlamaktadır. MHC molekülleri peptidleri gösterebilmekte, protein antijenlerini bütün olarak sunmamaktadır. Doğal olarak bulunan proteinleri MHC moleküllerine bağlanabilen peptidlere dönüştüren mekanizmalar bulunmaktadır. Bu dönüştürme "antijen işleme" olarak adlandırılır. Profesyonel ASH'lerce hücre içine alınıp veziküller içine alınan hücre dışı proteinler işlenip MHC sınıf II moleküllerince sunulurken, çekirdekli hücrelerin sitozolünde işlenen proteinler MHC sınıf I moleküllerince gösterilmektedir (52, 53).

2.4.4.1. Sitozolik antijenlerin MHC sınıf I yolu ile işlenmesi

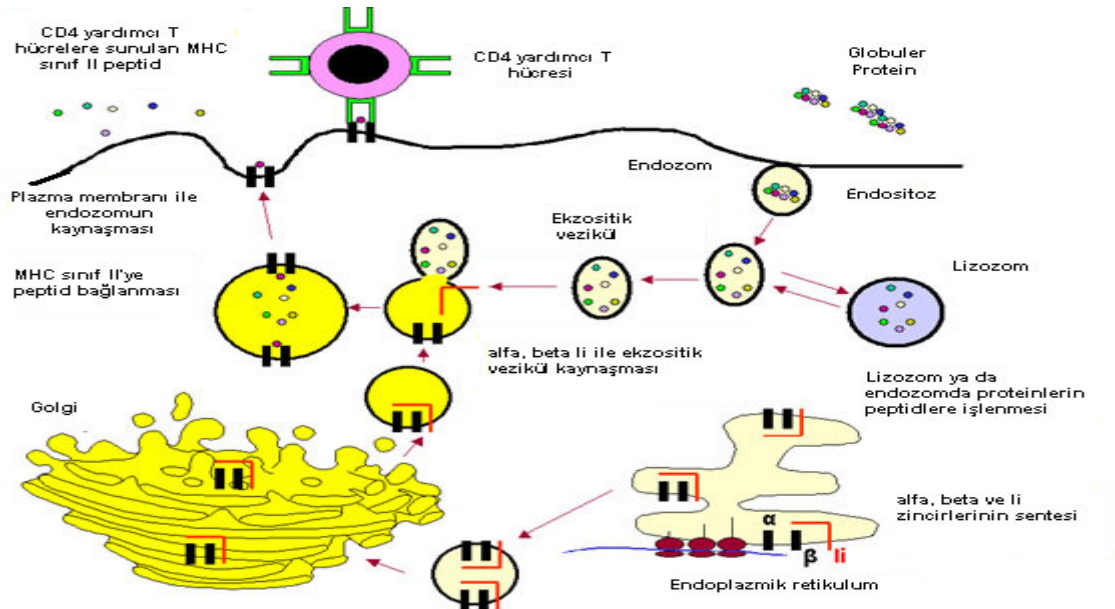
Tüm çekirdekli hücreler MHC sınıf I'i ekspresse etmektedir. MHC sınıf I ilişkili antijen sunumu için proteinler, sitoplazmada bulunan proteozomlar veya diğer proteazlar tarafından parçalanır. MHC sınıf I moleküllerine bağlanabilmelerini sağlayan özelliklere sahip peptidler oluşturulur. Bu peptitler antijen işlenmesiyle ilgili TAP olarak adlandırılan adenozin trifosfata (ATP) bağımlı ve endoplazmik retikulum (ER) zarı üzerinde bulunan bir taşıyıcı tarafından sitoplazmadan ER'a taşınır. ER'da yeni sentezlenmiş MHC- α 2 mikroglobulin dimerleri TAP kompleksine bağlanır ve ER içine taşınan proteinleri alır. Peptidle bağlanmış olan MHC sınıf I moleküllerinden oluşan kararlı kompleks ER'dan çıkar ve Golgi kompleksi vasıtasıyla hücre yüzeyine gider (şekil 2.4.4) (54, 55,56).



Şekil 2.4.4: Sitozolik antijenlerin MHC sınıf I yolu ile işlenmesi

2.4.4.2. Veziküllere alınmış olan antijenlerin MHC sınıf II yolu ile işlenmesi

Sınıf II ilişkili antijen sunumu için, hücre dışı proteinler, asidik pH'de işlev gören enzimler tarafından proteolitik olarak yarıkları yer olan endozomların içine alınırlar. Değişmez zincir (İnvariant zincir-Ii) ile bağlanmış olan yeni sentezlenmiş MHC sınıf II proteinleri ER'den endozomal veziküllere aktarılır. Burada Ii proteolitik olarak yarıklanır ve Ii'nin küçük bir peptid artığı olan ve sınıf II ilişkili değişmez zincir peptid (class II-associated invariant chain peptide-CLIP) olarak adlandırılan molekül de MHC molekülünün peptid bağlayan yarığında HLA-DM molekülleri tarafından uzaklaştırılır. Hücre dışı proteinlerden oluşturulan peptidler MHC sınıf II molekülünün mevcut yarığına bağlanırlar ve trimerik kompleks (MHC sınıf II α ve β zincirleri ve peptid) hücre yüzeyine hareket eder (Şekil 2.4.5) (54,57).



Şekil 2.4.5: Veziküllere alınmış olan antijenlerin MHC sınıf II yolu ile işlenmesi

2.4.5. Nakilde doğal immün yanıt

Doğal yanıtta, nakledilen organdaki inflamasyon ASH'leri aktive eder ve olgunlaşmış sekonder lenfoid organlara göçünü tetikler (27). Doğal bağışıklık sistemi, ister allograft ister istilacı patojenler olsun yabancı antijenlere karşı savunmada ilk tepki veren mekanizmadır. Doğal immün sistemde mikroorganizmalar tarafından sentezlenen ve 'patojen ilişkili moleküler örgüleri (pathogene associated molecular patterns-PAMPS)' tanıyan ve bunlara karşı doğal immün yanıtı kolaylaştıran toll-benzeri reseptörler (toll-like receptor-TLR) vardır. Bugüne kadar, en az 10 TLR belirlenmiştir. TLR'ler bir kez PAMPS ile bağlandığında, evrensel sinyal adaptör proteini olan MyD88

vasıtasıyla bir sinyal yolağını başlatırlar. Bu sayede, NF-kB translokasyonu ile pro-inflamatuar sitokinlerin (TNF- α , IL-1, 6, 8 ve 12) ekspresyonu tetiklenir (38). Bu sitokinler, dendritik hücre (DH)'lerin olgunlaşmasını, sekonder lenfoid organlara göçünü ve T hücre eş-uyarımı için gerekli olan yüzey proteinlerinin (CD40, CD80 ve CD86) ekspresyonunu tetikler. Sekonder lenfoid organlarda, DH'ler naif T hücrelerini aktive ederek immün yanıtın edinsel evresini başlatırlar (27).

2.4.6. Nakilde edinsel immün yanıt

Edinsel bağışık yanıt ise, ASH'ler sekonder lenfoid organlarda antijen spesifik T hücrelerini aktive edip efektör hücre oluşumuna neden olduğu ve bu hücrelerin rejeksiyona aracılık edecekleri allografta göçüne yol açtıklarında başlar. Alloantijenin T hücreleri tarafından tanınması, T hücre aktivasyonu, proliferasyonu, antijenin ortadan kaldırılması ve nihayetinde immün sistemin dinlenme haline geri dönmesi ve hafıza hücrelerinin oluşumunu içeren evrelerden oluşur (27).

2.4.7. Allotanıma

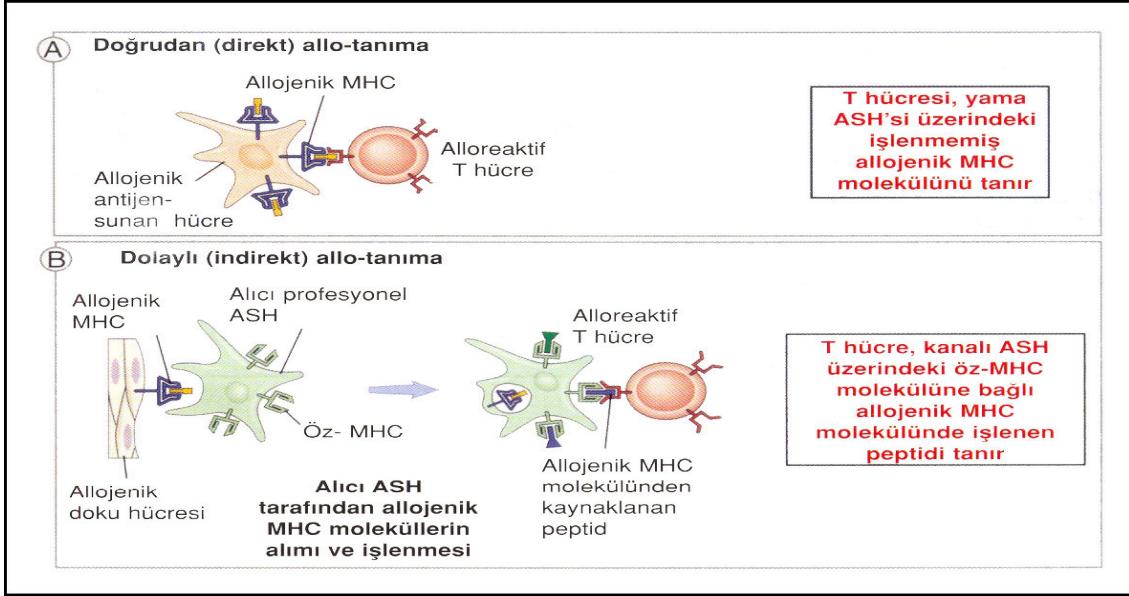
Yabancı nakil antijenleri (alloantijenler) alıcının T hücreleri tarafından tanınır ve bu T hücreleri doğrudan ve dolaylı tanıma olarak adlandırılan iki yolla aktive olabilirler (36).

2.4.7.1. Doğrudan tanıma

Alıcının T lenfositleri, verici ASH'si üzerinde ekspresse olan alloantijenler tarafından tetiklenir. Bu ASH'lere genelde yolcu lökositler denir ve bunlar nakledilen organlardan alıcının sekonder lenf organlarına göç ederler. Bu alloantijenler, verici MHC'si ile kompleks oluşturmuş endojen peptidlerden oluşmaktadır. MHC ile sunulan peptid öz peptid ise alloreaktif T hücresi tarafından 'yabancı' olarak algılanıp T hücre aktivasyonuna yol açar (şekil 2.4.6) (39).

2.4.7.2. Dolaylı tanıma

Verici hücreleri üzerindeki alloantijenler, alıcının ASH'leri tarafından yakalanır, işlenir ve öz MHC molekülünün yarığında alıcı T lenfositlerine sunulur. Doğrudan tanımda daha kuvvetli bir immün yanıt oluşuyor gibi gözükse de her iki tanıma tarafından gerçekleştirilen allotanıma graft rejeksiyonu için yeterli olmaktadır (şekil 2.4.6) (39).

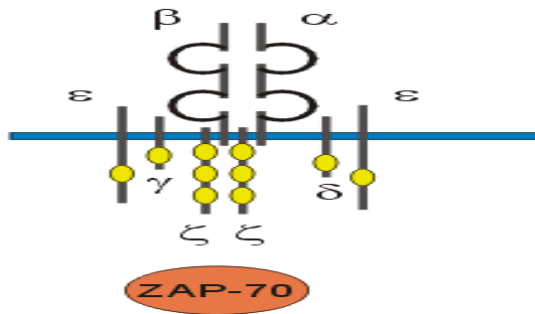


Şekil 2.4.6: Alloantijenlerin doğrudan ve dolaylı yolla tanınması

2.4.8. T hücre aktivasyonu

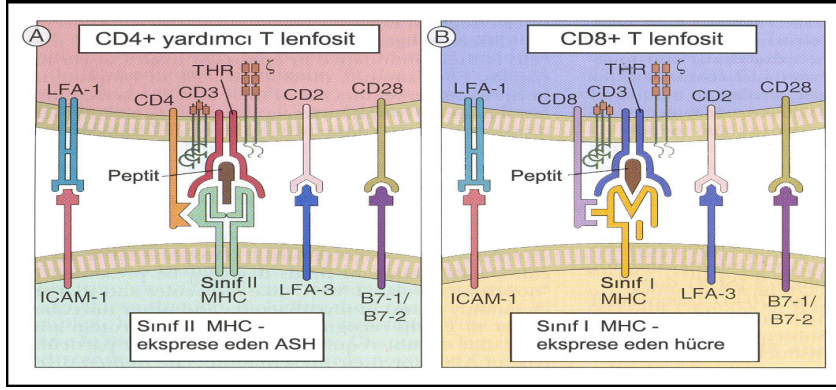
Hem hücresel hem de hümmoral oluşumdaki merkezi olay, T hücrelerinin aktivasyonu ve klonal çoğalmasındır. Eğer ASH yüzeyinde işlenmiş antijenik peptid MHC Sınıf II molekülleri ile birlikte immün sistem hücrelerine sunulursa $CD4^+$ T_H hücre aktivasyonu söz konusudur. Antijen ile T_H hücrelerinin etkileşimi T_H hücrelerinin G_0 fazından G_1 fazına girişini başlatmış olur (30,31).

T hücre aktivasyonundaki ilk olay THR'nün ASH üzerindeki MHC – peptid kompleksine bağlanmasıdır. Bu etkileşim ve oluşan aktivasyon sinyalleri, T hücreleri ve ASH üzerindeki çeşitli yardımcı membran moleküllerini kapsar. THR'nin hücre içi sinyalizasyonu iletme yeteneği, CD3 protein kompleksi aracılığı ile olmaktadır. THR, 3 proteinden oluşan CD3 kompleksi ile kovalen olmayan ve aynı zamanda ζ zinciri adı verilen homodimerik başka bir sinyal proteini ile ilişkilidir (şekil 2.4.7.).



Şekil 2.4.7: CD3 kompleksi

THR, CD3 ve ζ zinciri THR kompleksini oluşturur. THR kompleksinde antijen tanıma fonksiyonu değişken THR α ve β zincirleri tarafından, buna karşılık sinyal fonksiyonları ise bağı/CD3 ve ζ proteinleri tarafından gerçekleştirilir. T lenfositlerinin aktivasyonuna yol açan moleküller şekil 2.4.8’de gösterilmiştir (57, 58,59,60).

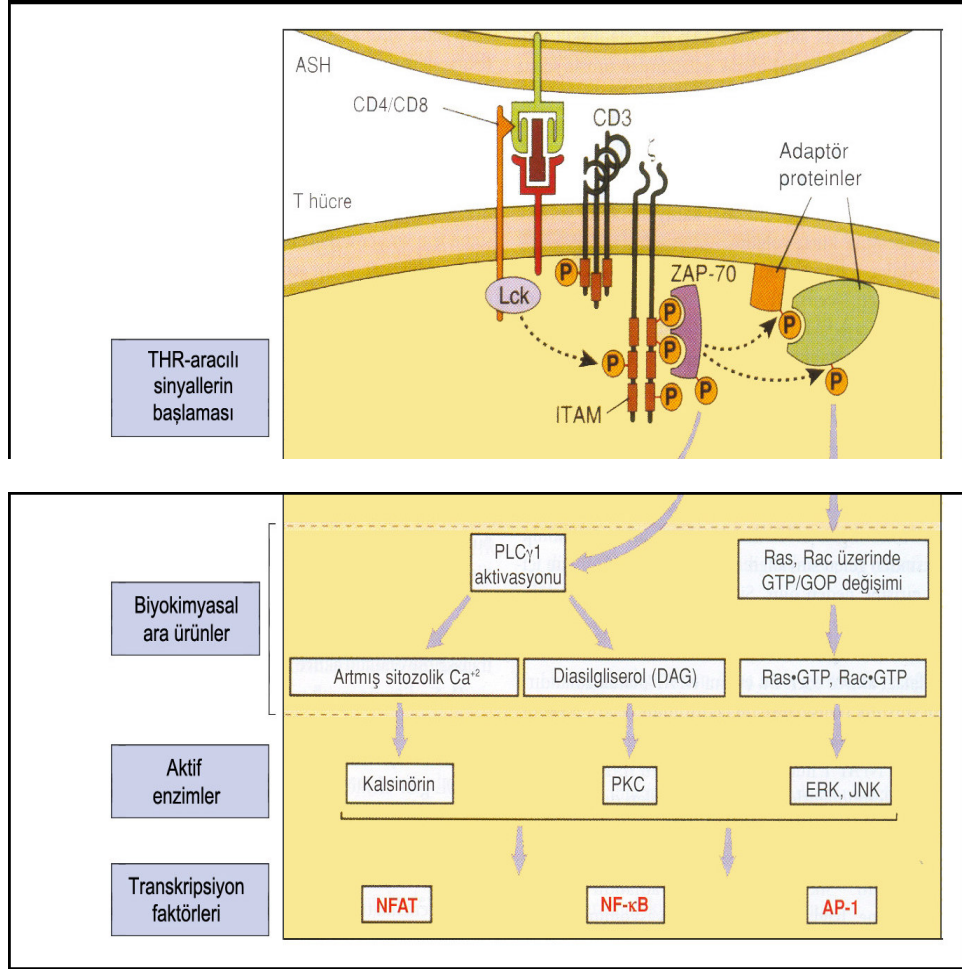


Şekil 2.4.8: T lenfositlerin aktivasyonuna yol açan moleküller

T hücre ile antijenin tanınmasındaki ilişkide etkili olan biyokimyasal yollar enzimlerin aktivasyonunu, adaptör proteinleri ve aktif transkripsiyon faktörlerini içermektedir. THR ve eş reseptörler ASH’de MHC-peptid kompleksi bağlandığı zaman bir araya gelir ve diğer proteinlerin de aktivasyonu söz konusudur. Bu proteinler adezyon, sinyal iletiminde ve T hücrelerin aktivasyonunun başlatılmasında önemlidir. THR kompleksi tarafından başlatılan hücre içi sinyalde bir kez aktive olduklarında Lck, ζ ve CD3 proteinlerinin ITAM’larında bulunan tirozin artıklarını fosforile eder. Z zincirinin fosforile ITAM’ları Lck tarafından da fosforile olan ve böylece enzimatik olarak aktive olan ZAP-70 (zeta ilişkili protein 70 kD ağırlığında) olarak adlandırılan tirozin kinaz için yavaşma bölgesi oluşturur. ZAP-70 THR kompleksi yanında toplanır ve ek sinyal iletim olaylarında aracılık eden adaptör proteinleri ve enzimleri fosforile eder. İki ana sinyal iletim yolu vardır. Bunlar; kalsiyum- aktive T hücrelerinin nükleer faktörü (NFAT) yolu ve Ras/Rac- mitojen aktive protein (MAP) kinaz yolu.

Aktive T hücre NFAT’nün aktivasyonu Ca^{++} iyonlarına bağlıdır. Ca-NFAT yolu ZAP-70 aracılı fosforilasyon ve membran inozitol fosfolipidlerin hidrolizini katalizleyen fosfolipaz C (PLC) olarak adlandırılan enzimin aktivasyonu ile başlatılır. PLC ilişkili fosfolipidlerin yıkım ürünlerinden biri olan inozitol 1,4,5 trifosfat (IP_3) hücre içi stoklardan Ca^{++} iyonlarının serbestleşmesini sağlar. THR kompleksinden gelen sinyallere hücre dışı Ca^{++} ‘nın hücre içine girişine neden olmaktadır. Sitoplazmik Ca^{++} kalmodülin olarak adlandırılan bir proteine bağlanır. Ca^{++} -kalmodülin kompleksi

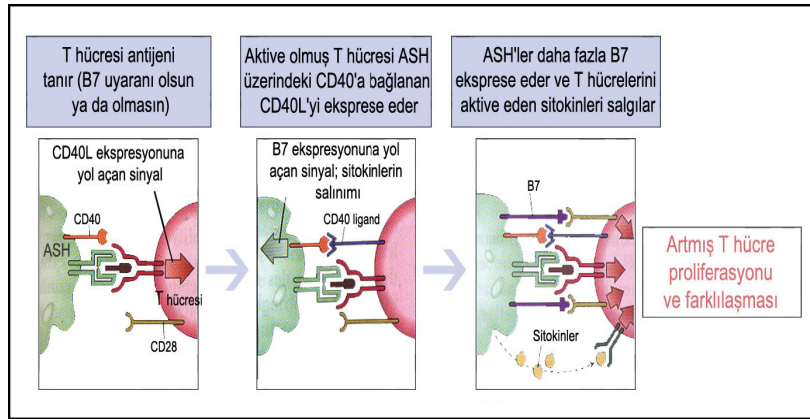
kalsinörin olarak adlandırılan bir fosfatı aktive ederek NFAT olarak adlandırılan sitozolik transkripsiyon faktörünün inaktif formundan fosfatları ayırır. Defosforilasyon gerçekleşince, NFAT T hücre büyüme faktörü IL-2 ve IL-2 reseptör içeriklerini kodlayan genleri de içeren birkaç genin promotör bölgesine bağlanarak aktivasyonun gerçekleştiği nükleus bölgesine göç eder. Klinik olarak önemli immünsüpresif ajanlar olan siklosporin ve takrolimus etkilerini kalsinörin etkisini inhibe ederek gösterir. (şekil 2.4.9) (37). Ras/Rac-MAP kinaz yollarında ise, guanozin trifosfat (GTP) bağlayan Ras ve Rac proteinlerin içerir. Bu proteinler GTP'ye adaptör proteinlere ve MAP kinaz ailesinden birini aktive eden kaskad proteinlerine bağlandığı zaman aktive olurlar. ZAP-70 bağımlı fosforilasyon ile ilişkili yollar ve plazma membranında adaptör proteinlerin birikimi, Ras veya Rac birikimine neden olur. Bu birikim GTP/guanozin difosfat (GDP)'nin değişimi ile aktivasyona neden olur. Ras-GTP ve Rac-GTP belirli MAP kinazların aktivasyonuna neden olur. MAP kinazlarda hücre dışı sinyal-düzenli kinaz (ERK) ve c-jun amino terminal kinaz (JNK), c-fos olarak adlandırılan diğer proteinin fosforilasyonunu uyarır. C-fos ve fosforile c-jun, bazı T hücre genlerinin transkripsiyonunu arttıran aktive transkripsiyon faktörü-1 (AP-1) oluşumu için bir araya gelir (37). THR sinyal iletimine katılan diğer biyokimyasal olaylar serin-treonin kinaz olarak adlandırılan protein kinaz C (PKC)'nin ve transkripsiyon faktör nükleer faktör-(NK-κB)'nin aktivasyonunu içerir. PKC, IP3 gibi membran inozitol lipidlerin fosfalipaz C-aracılı hidrolizi ile oluşan diaçilgliserol tarafından aktive olur. T hücreye özgül PKC izoformu, PKC-Φ, NK-κB'nin aktivasyonu ile bağlantılıdır. NK-κB dinlenme halindeki T hücrelerinin sitoplazmasında bulunur ve I KB olarak adlandırılan inhibitöre bağlanır. Antijen tanınması ile oluşan THR sinyalleri bağlanan inhibitör NK-KB'nin fosforilasyonuna ve ayrılmasına neden olur ve NK-κB serbestleşir, bazı genlerin transkripsiyonunun aktive edildiği nükleusa hareket eder (şekil 2.4.9) (37).



Şekil 2.4.9: T lenfositlerde sinyal iletim yolları

MHC -peptid kompleksi ile THR-CD3 etkileşimi, T hücre proliferasyonu ve yardımcı veya sitotoksik T hücrelerine farklılaşması için yeterli değildir. T lenfositler üzerinde eksprese olan eş-uyaran moleküller tarafından sağlanan ikinci bir uyarana ihtiyaç vardır. Bu uyarın yolları, ASH ve T lenfositler arasında sıkı bir 'immünolojik sinaps' oluşmasına katkıda bulunur. Alloimmünitinin tetiklenmesi eş-uyaran moleküller CD28 ve CD40 ligantıdır (CD40L veya CD154). ASH-T hücre etkileşimi sırasında ASH üzerindeki B7-1 (CD80) ve B7-2 (CD86) dinlenme halindeki T lenfosit yüzeyindeki CD28'e bağlanır. CD28'in çapraz bağlanması, T hücre aktivasyonunu tetikler ve hücre içi kinazların katıldığı bir sinyal iletimi başlar. Sonuçta, artmış ve sürekli THR-CD3 sinyalizasyonunu takiben IL-2 üretimi ve T hücre proliferasyonu artar. CD28'in aksine CD40L eş uyarın molekülü sadece aktif lenfositler üzerinde eksprese edilir. CD40L reseptörü olan CD40, profesyonel ASH ve endotelial hücre yüzeyinde mevcut olan bir glikoproteindir. CD40L-CD40 kompleksi, T hücrelerinin efektör fonksiyonlarını 3 şekilde artırır. İlk olarak, DH üzerindeki CD40, B7-1 ve B7-2 ekspresyonunu artırır ve

IL-12 üretimini uyarır. Bu aktivasyon adımları, DH'lerin CD4+ T hücrelerin proliferasyonunu ve CD8+ T hücrelerin sTL'lere farklılaşmasını uyarır. İkinci olarak, B lenfositleri üzerindeki CD40'ın T hücreleri tarafından bağlanması, edinsel hümmoral immün yanıtların oluşması ve IgM'in IgG'ye izotip dönüşümü için gereklidir. Üçüncü olarak, monosit ve makrofajlar üzerinde CD40'ın T hücreleri tarafından bağlanması, lökositlerin inflamasyon alanına göç etmesi için gerekli olan hücre adezyon moleküllerinin üretimini artırır (şekil 2.4.10) (41).



Şekil 2.4.10: T hücre aktivasyonunda ikinci uyarıların rolü

T hücre aktivasyonu için bu ikili uyarı, diğer sitokinlerin salınmasını sağlayan, IL-2 ve IL-2 reseptör genlerinin transkripsiyonunu aktive etmek üzere, CD4 T hücrelerini tetiklemektedir. Daha sonra sitokinlerin reseptörlerine bağlanması ile oluşan üçüncü uyarı, tüm T hücre aktivasyon kaskadının hücre bölünmesine doğru ilerlemesine olanak sağlamaktadır. Sonuçta antijene özgül T hücre sayısında artış olmaktadır. IL-2'nin temel rolü T hücre çoğalmasını uyarmaktır ve bu nedenle IL-2 T hücre büyüme faktörü olarak da isimlendirilir (61).

2.5.ALLOGRAFT REJEKSİYON TİPLERİ

Günümüzde, immünsüpresif tedavide büyük başarılar elde edilmesine karşın, rejeksiyon halen büyük sorun olarak görülmektedir. Rejeksiyon, graft yetmezliğinin en önemli sebebidir. Grafta karşı immün sistemin cevabı 3 safhaya ayrılır: yabancı antijenlerin tanınması, antijene karşı spesifik lenfositlerin aktivasyonu ve graft rejeksiyon evresidir (62,63,64). Genel olarak rejeksiyonun hiperakut, akut ve kronik olmak üzere 3 temel şekli gözlenir. Hepsi birbirinden farklı olmakla birlikte, akut ve kronik rejeksiyon aynı zamanda olabilir (65). Rejeksiyon tipleri ve immünolojik mekanizmalar Tablo 2.3'de gösterilmiştir.

Tablo 2.3: Rejeksiyon tipleri

Rejeksiyon tipi	Meydana geliş süresi	Nedeni	Antikor aracılı	Hücre aracılı
Hiperakut	Dakikalar-saatler	Önceden oluşmuş antikorlar	+++	-
Akselere	Günler	Sensitize T hücrelerinin yeniden aktivasyonu	++	+
Akut hüresel	Günler-haftalar	T hücrelerinin primer aktivasyonu	+	+++
Akut vasküler			+++	+
Kronik	Aylar-yıllar	İmmünolojik olan ve olmayan faktörler	++	+

Nakledilmiş bir böbrekteki çeşitli yapısal lezyonların sınıflandırması ve evrelendirmesinde organize ve istikrarlı bir yaklaşım geliştirmek amacıyla, Kanada'nın Banff şehrinde düzenlenen bir dizi konferansı takiben geliştirilen Banff sınıflaması genel hatlarıyla aşağıdaki gibidir (66);

1- Normal

2- Antikor aracılı değişiklikler

- * Aktif rejeksiyona dair morfolojik bir kanıtın olmaması, C4d birikimi
- * Akut antikor aracılı rejeksiyon
- * Kronik aktif antikor aracılı rejeksiyon

3- Sınırdaki değişiklikler

4- T hücre aracılı rejeksiyon

- * Akut T hücre aracılı rejeksiyon
- * Kronik aktif T hücre aracılı rejeksiyon

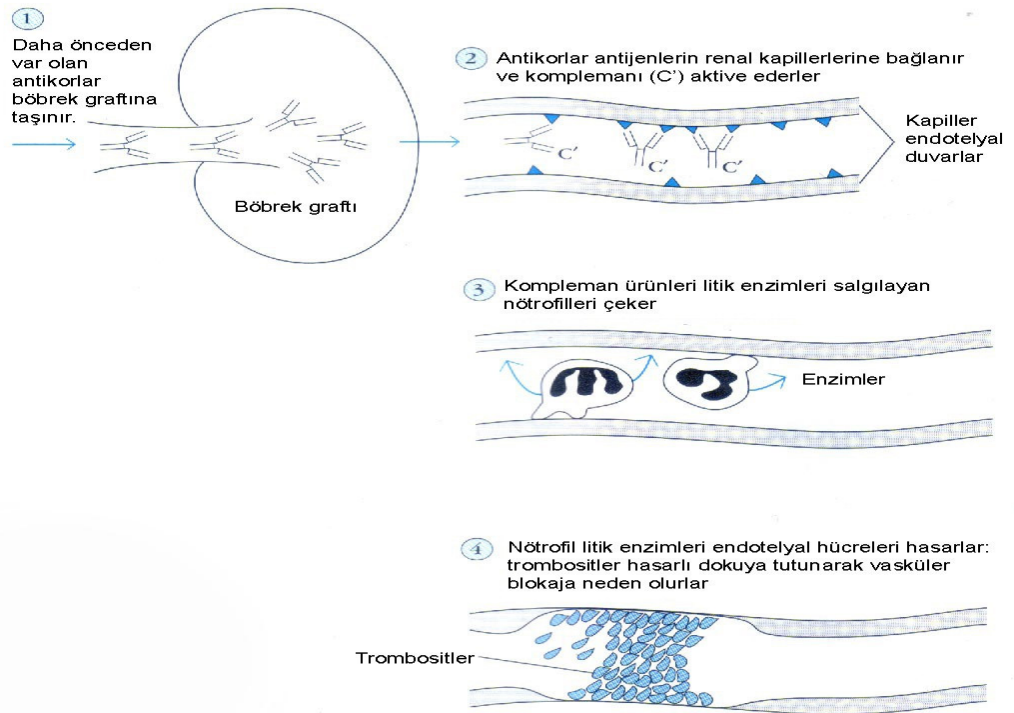
5- İnterstisyel fibrozis ve tübüler atrofi

6- Diğer

- * Kronik hipertansiyon
- * Kalsinörin inhibitör toksisitesi
- * Kronik obstrüksiyon
- * Bakteriyal pyelonefrit
- * Viral enfeksiyon

2.5.1.Hiperakut rejeksiyon

Hiperakut rejeksiyon, verici endotelial antijenlerine bağlanan, hastada daha önceden oluşmuş antikorlar aracılığı ile gerçekleşen bir olaydır. Hasta kan damarlarının graft damarlarına anostomozundan sonra dakikalar içerisinde oluşur. Hiperakut rejeksiyon da nakledilen doku damarlarında hızlı trombotik oklüzyon ve iskemik nekrozla karakterize bir tablodur (21,30). Hiperakut rejeksiyonun sebeplerinden birisi ABO uyumsuzluğudur. Hastanın dolaşım sisteminde mevcut olan verici ABO kan grubu ile uyumsuz hemaglutininler, endotelyumdaki glikolipid yapılara bağlanır. Allograftların hiperakut rejeksiyonu olduğu zaman, genellikle yabancı MHC molekülleri gibi protein alloantijenlere karşı veya vasküler endotelial hücreler üzerinde daha az saptanan alloantijenlere karşı doğrudan IgG antikorları ile yönlendirilir. Böyle antikorlar genellikle daha önceki kan transfüzyonları, daha önceki nakiller ve çok sayıdaki gebeliklerle oluşabilir. Bu reaksiyonda, antikorun bağlanması komplemanı aktive eder. Antikor ve kompleman intravasküler trombozu ilerleten graft endotelyumunda bir takım değişiklikleri başlatır. Endotelial hücreler, trombosit adezyonunu ve agregasyonunu yönlendiren von Willebrand faktörün yüksek moleküler ağırlıklı formlarını salgılar (şekil 2.5.1) (21).



Şekil 2.5.1: Hiperakut rejeksiyon

Endotelial hücreler normalde inhibe edici koagülasyon antitrombin III ile etkileşen hücre yüzey heparan sülfat proteoglikanlarını kaybeder. Kompleman aktivasyonu, aktive olan trombositlerle subendotelial temel membran proteinlerinin açılmasına ve endotelial hücrenin yaralanmasına sebep olur. Bu olaylar tromboz ve vasküler oklüzyona katkıda bulunur. Transplante edilen organ dönüşümsüz iskemik hasara uğrar. Böbrek nakillerinde, hiperakut rejeksiyon riski nakil öncesi yapılan CM testi ile önemli ölçüde ortadan kaldırılabılır.

2.5.1.1. Akselere rejeksiyon

Eğer alloreaktif antikorların titresi düşükse, hiperakut rejeksiyon birkaç günün üzerinde yavaşça gelişebilir. Bu durum akselere rejeksiyon olarak isimlendirilir. Çünkü başlangıç tipik akut rejeksiyondan daha erkendir. Nakilden sonraki yirmi dört saat ile dördüncü gün arasında ortaya çıkmaktadır. Genellikle, önceki nakiller ve kan transfüzyonları, graft antijenlerine karşı duyarlılık kazanmış hastalarda gelişmektedir ve bu olay immünolojik hafıza yanıtını düşündürür. Rejeksiyonun gelişimi hızlıdır ve hücrenel ve antikor aracılığında gelişen hasarı gösterir. Grafttaki hücrenel infiltrasyon çok yoğun olmayabilir. Bu olayın immün baskılama olayları zor olabilir ve graft erkenden kaybedilebilir (21, 30,62).

2.5.2. Akut rejeksiyon

Genellikle naklin birinci haftasından sonra başlayan T hücreleri makrofajlar ve antikorlarla yönlendirilen vasküler bir olay ve parankimal bir yaralanmadır. Klinikte en sık saptanan rejeksiyon tipidir. Genellikle nakil sonrası 7. gün ve 90. günlerde oluşur. Genellikle akut rejeksiyonların % 75 kadarı erken dönemde ortaya çıkar. Sonraki dönemde çıkan akut rejeksiyonlar geç akut rejeksiyon olarak adlandırılır ve hem tedaviye olan yanıtları hem de prognoza olan etkisi daha kötüdür. İki farklı immünopatolojik mekanizma akut rejeksiyonu iki alt gruba ayırır (62,64).

2.5.2.1. Hücre aracılı akut rejeksiyon

Akut rejeksiyonun en sık görülen türüdür. Serum kreatinin asemptomatik artışı, ateş, graft duyarlılığı, idrar miktarında azalma, tansiyonda yükselme gibi belirtilerle ortaya çıkar. Hücre aracılı akut rejeksiyonda histopatolojik olarak, intertisyumun mononüklear lenfositler (MNL) ya da bazen eozinofiller ile infiltrasyonu, tubülitis denen, tubüler epitelyum hücrelerindeki dejeneratif değişikliklere eşlik eden, tubül lümen ve duvarına yayılmış lenfosit ve monosit görüntüsü ile karakterizedir. Polinüklear lenfosit (PNL) infiltrasyonu görülmez (62). Akut hücrenel rejeksiyon

geçiren graflarda mevcut olan hücrel infiltrasyonlar graft alloantijenleri için spesifik sTL'ler için belirgin olarak zenginleştirilir. sTL spesifik genleri kodlayan RNA'lar için hassas ters yönlü polimeraz zincir reaksiyonu çalışmalarıyla gösterildiği gibi renal graft biyopsilerinde sTL'lerin varlığı, klinik akut rejeksiyonun spesifik ve hassas bir göstergesidir. Hücre aracılı akut rejeksiyonların büyük kısmı yüksek doz steroid tedavisine cevap verir (67, 68, 69, 70, 71).

2.5.2.2. Antikor aracılı akut rejeksiyon (Akut hümorale rejeksiyon)

Rejeksiyonun seyrek görülen bir şeklidir. Antikor aracılı akut rejeksiyon, vericinin kan grubu ya da HLA antijenlerine karşı nakilden sonraki hafta ya da aylarda yeni oluşan antikorların yarattığı tablodur. Akut hümorale rejeksiyon, graft kan damarlarındaki bazı hücrelerde nekroz ile karakterize bir durumdur (72, 73).

Klasik vasküler tip ve vasküler katılımın olmadığı tip olmak üzere iki tipi vardır:

a) Klasik vasküler tip

Yaygın olmayan bir rejeksiyon tipidir ve birincil olarak duvarda fibrinoid nekroz ile lenfosit, monosit ve nötrofil proliferasyonunu da içeren nekrotizan arteritle karakterizedir. Hiperakut rejeksiyon da antikor aracılıdır ancak başlangıçta inflamatuvar ya da fibrinoid bir bileşenin olmaması ile antikor-aracılı vasküler rejeksiyondan ayrılır (72, 73, 74, 75).

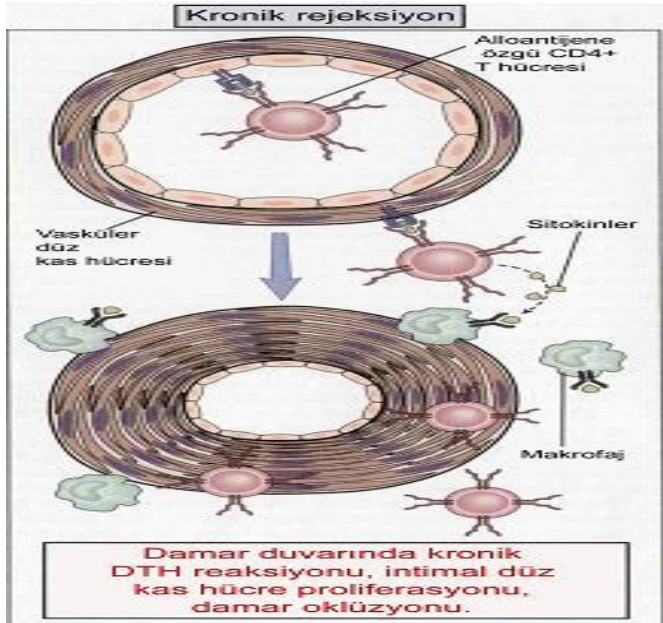
b) Vasküler olmayan tip

Bu tip akut hümorale rejeksiyonun daha yaygın şeklidir. Histopatolojik olarak, peritübüler kapillerde kompleman 4 (C4)'ün bir yıkım ürünü olan C4d'nin birikimi ya da arteriyel fibrinoid nekroz görülür (73, 74, 75). C4d, peritübüler kapiller endoteline veya bazal membran kollajenine kovalent olarak bağlanır ve hümorale rejeksiyonla ilişkili kompleman aktivasyonu için bir belirteçdir (76).

2.5.3. Kronik rejeksiyon (kronik allograft nefropatisi)

Kronik rejeksiyon, uzun dönemdeki graft fonksiyon bozuklukları için kullanılan genel bir tanımdır. Kronik allograft nefropatisi terimi kronik rejeksiyon yerine tercih edilen bir terimdir (77, 62, 64, 75). Kronik rejeksiyon, uzun dönemde oluşan normal organ yapısının kaybı ve fibrozis ile karakterizedir. Arterler, tübüller, interstisyum ve glomerüllerde kronik değişiklikler meydana gelir. Patogenezi karmaşıktır; tekrarlayan belirgin ya da gizli akut rejeksiyon epizodları (allojenik faktörler) ile böbrek vericisi ve hastasına bağlı immünolojik olmayan etmenler de bu sürece dahil olur. Kronik değişikliklerin çoğu immünolojik aracılı olan ya da olmayan kronik organ hasarının

farklı şekillerinden kaynaklanabilir. İmmünolojik nedenler arasında HLA uyumu, geçirilmiş akut rejeksiyon atakları, PRA düzeyi, DSA varlığı, sitomegalovirüs (CMV) enfeksiyonu ve yetersiz immünsupresyon yer alır. İmmünolojik olmayan faktörler, nakil zamanındaki iskemik hasar, hipertansiyon, hiperlipidemi, proteinüri, ilaç toksisitesi, nefroskleroz, kısmi obstrüksiyon, reflü ve kronik enfeksiyon, hasta ve verici yaşı, ırk, cinsiyet, graftaki nefron sayısı sayılabilir (77, 62,64,75,78). Histopatolojik olarak, interstisyel infiltrasyon ve fibrozis, tübüler atrofi, glomerüloskleroz, bazal membranda membranoproliferatif glomerülo nefrit (MPGN)'ye benzer çift kontur görünümü, damar duvarında kalınlaşma, lümeninde daralma gözlenir (62, 64,75). Birçok durumda graft arteriyel oklüzyonları intima düz kas hücrelerinin proliferasyonunun bir sonucu olarak oluşur. Bu olay 'graft arteriosklerozisi' olarak isimlendirilir. Graft arteriosklerozisi sıklıkla başarısız kalp ve böbrek nakillerinde görülür (30,69). Lezyonlar açıkça vasküler yaralanma bulgusu olmaksızın oluşur. Vasküler intimada düz kas hücre proliferasyonu organ parankimasının kronik gecikmiş tip hipersensitivite (delayed type hypersensitivity-DTH) reaksiyonunun özel bir formunu gösterebilir. Organ parankimasının ve kronik DTH reaksiyonları graft kan damar duvarındaki alloantijenlerle aktive olan lenfositlerin düz kas hücre büyüme faktörleri salgılamak için makrofajları uyarmaktadır (şekil 2.5.2) (30, 79, 80).



Şekil 2.5.2: Kronik rejeksiyon

2.6. BÖBREK NAKLİ SONRASI DÖNEM

Gecikmiş graft fonksiyonu, akut rejeksiyon epizodları, nefrotoksik ajanlar, hipertansiyon, dislipidemi, infeksiyonlar ve diyabeti içeren erken nakil sonrası komplikasyonlar böbrek naklinden sonra hem kısa hem de uzun dönemde mortalite ve morbidite üzerine etkilidir. Bu dönemde ortaya çıkabilecek sorunları ve uygulanması gereken tedavileri iyi bilmek hem graft sağkalım hem de hasta sağkalımına katkısı olacaktır (81). Böbrek nakli yapıldıktan sonraki ilk bir iki ay hastanın yakın takibi gerekmektedir. Anastomoz bölgesinden idrar kaçakları, renal arter ve ven trombozları, üriner sistem tıkanmaları en sık rastlanan erken dönem komplikasyonlarıdır. Bu problemlere erken müdahale yapılmazsa graft kaybına yol açabilir. Bu faktörlerin dışında uzun süreli hipotansiyon ve arrest öyküsü, böbreğin uygun olmayan şartlarda saklanması, kan grubu, DSA'lar ile rejeksiyon başlıca sorunlardır. Akut kalsinörin toksisitesi, iskemik akut tübüler nekroz, hiperakut rejeksiyon, akselere veya akut rejeksiyon gibi nedenlerin ayırıcı teşhisinin acilen yapılması gerekmektedir. Böbrek nakli olmuş bir bireyin tedavisi nakil allograft fonksiyonunun nakil sonrası ilk bir haftadaki graftın durumu ile belirlenir (82).

2.7. BÖBREK NAKLİNDE KULLANILAN İMMÜNSÜPRESİF TEDAVİLER

2.7.1. İmmünsupresif ilaçların gelişim tarihçesi

İmmünsupresif ilaç kullanımı öncesinde organ naklinde karşılaşılan başarısızlık, çeşitli immünsupresif ilaçların geliştirilmesi sayesinde yerini giderek artan başarılarla bırakmıştır. Organ naklindeki ilerlemeler büyük oranda, immün nedenlere bağlı allograft rejeksiyonunu önleyen immünsupresif uygulamalardaki gelişmelere paralel olmuştur. Organ nakli uygulamasında immünsupresif ilaçların kullanımını anlamak için immünsupresif ilaçların tarihsel gelişimi tablo 2.4'de gösterilmiştir (83,84).

Tablo 2.4: İmmüsupresif ilaçların tarihsel gelişimi

Yıl	İmmüsupresif ilaçların keşfi ve kullanımı
1950	İmmünolojik hastalıklarda steroidlerin kullanımı
1954	İlk başarılı böbrek nakline total vücut ışınlaması uygulanması
1959	6 merkaptopürin (6-MP) veya Metotreksat (MTX)
1960	Azatiopürin (Aza)'nin kullanıma girmesi
1976	Fare kaynaklı monoklonal antikorlar (Muromonab-CD3/OKT3) ve anti CD25 antikor (IL-2 reseptör)
1978	Siklosporin (CsA)in kullanıma girmesi ve üçlü tedavilerin uygulanması
1981	Anti-CD3'ün kliniğe girişi
1985	Monoklonal antikorların (Muromonab-CD3/OKT3) ve anti CD25 antikor (IL-2 reseptör) kullanıma girmesi
1988	FK506'nın keşfi ve kullanımı
1991	Mikofenolat mofetil (MMF)'in klinik rutine girmesi
1998	Sirolimus (Rapamisin)'un kullanımın kliniğe girmesi
2005	Monoklonal antikorlardan simulect (Basiliximab) ve zenapax (Daklizumab) kullanılması
2006	Everolimus kullanıma sunulması

2.7.2. İmmüsupresif ilaçların kullanım amacı

İmmüsupresif tedavide esas amaç, hastada ilaçların en az yan etkiyle, grafta karşı farmakolojik spesifik bir tolerans oluşturarak rejeksiyon olayının oluşumunu (Antijeni tanıma-kostimulasyon-prolifersayon) engellemektir. Antijen tanınmasında ve rejeksiyon olayının oluşmasında kilit pozisyonunda bulunan T hücrelerinin antijeni fark etme ve çoğalma, farklılaşma ve T hücre klonlarının oluşumu ve antikor yapımı işlevinin baskı altına alınmasıdır (83,84). İmmüsupresif tedavide etki iki şekilde olmaktadır;

1-) Non spesifik **2-) Spesifik**

1-) Non spesifik immüsupresif tedavide, immün sistemin aktivasyonunu antijene bağlı olmaksızın durdurur. Bu yöntem spesifik olmayıp immün sistemin işlevini, kaskadın her evresinde baskılayıp bozduğu için hastaya enfeksiyonlara ve maliniteye karşı hassas hale getirmektedir. Günümüzde kullanılan non spesifik yöntemler doz ayarlanmalarıyla ve kombine edilerek selektivite oluşturacak tarzda uygulanır.

Günümüzde en sık kullanılan nonspesifik immüsupresif ilaçlar steroidler, anti lenfosit globulinlerdir.

2-) Spesifik immüsupresif tedavide ise anti allograft cevabı, infeksiyonlara duyarlılık artışını durduran tedavi protokolleri ile yapılan immün baskılamadır. Kullanılan spesifik ajanlar ise CsA, FK506, Sirolimus, everolimus, MMF, MYF'dir. Rutinde klinik kullanımı olan immüsupresif ilaçlar tablo 2.5'de görülmektedir.

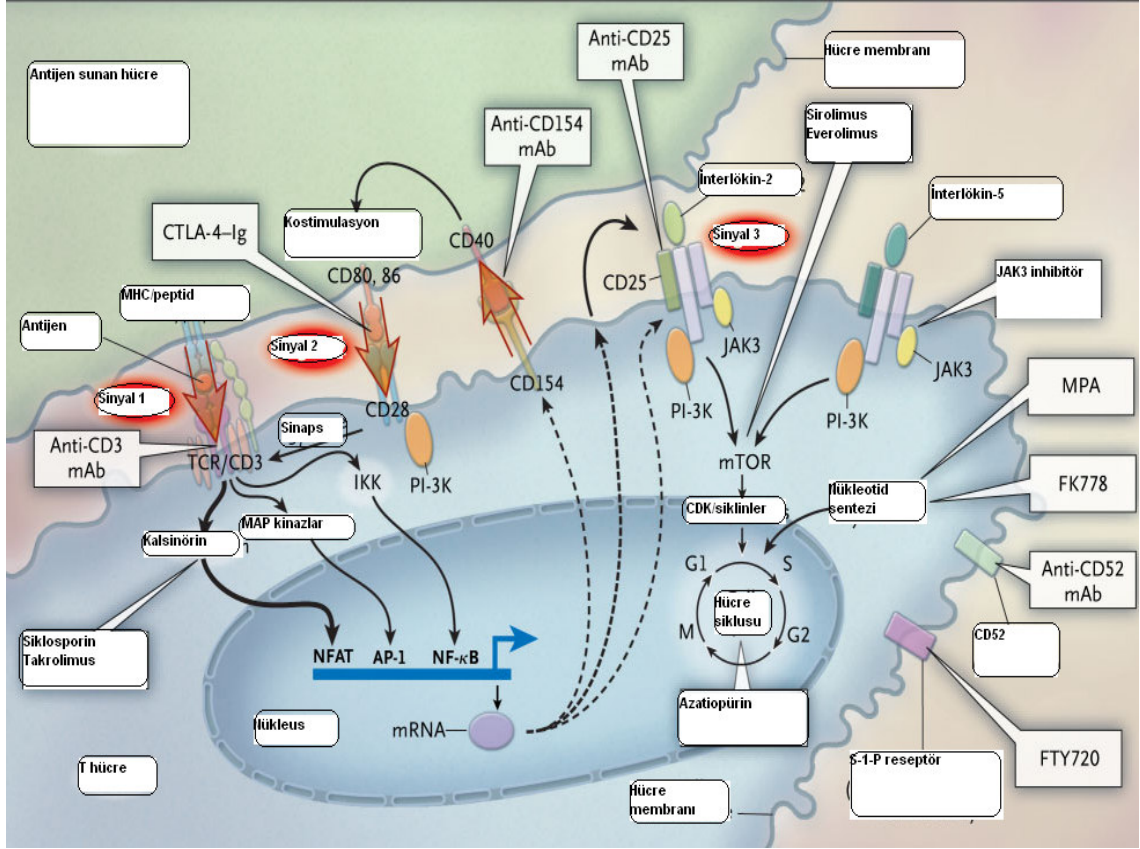
Tablo 2.5: Rutin klinik kullanımı olan immüsupresif ilaçlar

Kalsinörin inhibitörleri	CsA
	FK506
Anti proliferatif ilaçlar	Aza
	MMF
	Mikofenolik asid (MYF)
Kortikosteroidler	Prednizolon
	Metilprednizolon
Poliklonal antikorlar	Antitimosit globulin (ATG)
	Antilenfosit globulin (ALG)
	İntravenöz immunglobulin (IVIG)
Monoklonal antikorlar	Muromonab-CD3 (OKT3)
	Basiliximab (anti-CD25 monoklonal antikorlar)
	Daklizumab
mTOR inhibitörleri	Sirolimus
	Everolimus

Bütün başarılı immüsupresif protokollerin ortak hedefleri:

- 1- T hücre aktivasyonunu önlemek.
- 2- Sitokinlerin yapımına ya da sitokin-reseptör ilişkisiyle aktivasyon ve klonizasyona engel olmak.
- 3- Endotel hücre aktivasyonunu, antijen ekspresyonunu önlemektir.

T hücre aktivasyonu ve sonrasındaki hücresel proliferasyon için gerekli üç sinyalin bilinmesi ve klinikte kullanılan bu immüsupresif ilaçların etkili oldukları sinyal yolları şekil 2.7.1'de gösterilmiştir (85).



Şekil 2.7.1: İmmünespresif ilaçların T hücre aktivasyon yolağı üzerine etkileri

Sinyal 1: Antijene özgü sinyaldir. ASH'ler tarafından T hücre reseptörlerinin uyarılmasıyla oluşur ve CD3 (Cluster of differentiation-CD) kompleksi aracılığıyla iletilir. ATG, OKT3 ve CsA, FK506 gibi kalsinörin inhibitörleri sinyal 1'i hedefleyen ilaçlardır.

Sinyal 2: Antijene özgü olmayan, eş-uyaran sinyaldir. ASH üzerindeki B7 molekülü ile T hücresi üzerindeki CD28'in birleşmesi ile oluşur. CTLA-4 Ig ve anti-CD154 bu sinyal üzerine etkili olabilecek umut verici iki ilaç olup, klinik kullanımları ile ilgili çalışmalar devam etmektedir.

Sinyal 3: Sinyal 3, tüm T hücre aktivasyon kaskadının hücre bölünmesine doğru ilerlemesine olanak sağlar. Eğer THR ikinci uyarı olmaksızın tetiklenirse, hücre anejrik duruma geçmektedir ki bu koşulda hücre sadece inaktif değil fakat aynı zamanda daha sonraki tüm aktive edici sinyallere de yanıtsız kalır. Sinyal 3'ü hedefleyen ilaçlar baziliksımab, daklizumab, sirolimus, MMF ve aza'dır (85).

2.7.3. Böbrek naklinde rutin klinik kullanımda immüsupresif tedavi

Organ reddini önlemek için çok fazla sayıda ilaç geliştirilmiştir ve hedef stratejilere yönelik çalışmalar devam etmektedir. İlaçların tek başına kullanılmaları istenmeyen yan etkilerini arttırmaktadır. Farklı grup ilaçların birlikte kullanımları hem sinerjik etki sağlanmakta, hem de doz azaltımını mümkün kılarak istenmeyen yan etkileri önlemekte, böylece graft yaşamı ve hasta yaşamının kalitesinde artma mümkün olmaktadır (83, 84, 86).

Klinikte immüsupresif tedavi protokolleri aşağıdaki şekilde özetlenebilir.

- a) İndüksiyon tedavisi
- b) İdame tedavisi
- c) Anti-rejeksiyon tedavisi

a) İndüksiyon tedavisi

Nakil öncesi ve nakil sonrası erken dönemde akut rejeksiyonların en sık görüldüğü devre olarak ön görülüp profilaktik yoğun immüsupresif ilaç yüklemesinin yapıldığı yöntemdir. Güçlü immün baskılamanın toksik yan etkileri olacağından indüksiyonun uzun süreli kullanılması mümkün değildir. İndüksiyon ilaç ve kombinasyonlarının seçimi, hastaların ve graftın durumuna göre yapılmaktadır (82,83).

b) İdame tedavisi

Nakil sonrası erken ve geç dönemde kullanılır. Zamanla güçlü immün baskılamanın gereği ortadan kalkacağından, ilaçların kan konsantrasyonlarının belirli doygunluğa ulaşacağı için sonrasında daha düşük dozlarla ilaç kombinasyonları kullanılarak idame tedavisi uygulanmaktadır. İdame tedavisi güçlü değildir, uzun dönemde sürekli kullanılacağından, rejeksiyonu önleyen ama az yan etki ve toksisite sağlayan bir yaklaşımdır (83).

c) Anti-rejeksiyon tedavisi

Rejeksiyon tedavisi de indüksiyon tedavisine benzerdir. Graftı kurtarmak amacıyla kısa sürede yoğun immün baskılama uygulanmaktadır. Rejeksiyonun geri döndürülmesini takiben tekrar idame tedavisine ilaç dozları ayarlanması yapılarak geri dönülmektedir (83). Tedavi protokolüne göre sınıflama aşağıda görülmektedir.

İNDÜKSİYON TEDAVİSİ	İDAME TEDAVİSİ	REJEKSİYON TEDAVİSİ
* Steroidler	* Steroidler	* Steroidler
- Prednizolon	- Prednizolon	- Prednizolon
- Metilprednizolon	- Metilprednizolon	- Metilprednizolon
* Monoklonal antikorlar	* Kalsinörin inhibitörleri	* Monoklonal antikorlar
- OKT3	- CsA	- OKT3
- Basiliximab	- FK506	- Rituximab
- Daklizumab	* TOR inhibitörleri	* Poliklonal antikorlar
- Rituximab	- Sirplimus	- ATG
- Alemtuzamab	- Everolimus	- ALG
* Poliklonal antikorlar	* Antiproliferatifler	
- ATG	- Aza	
- ALG	- MMF	
	- MYF	

2.8. İMMÜNSUPRESİF İLAÇLAR

2.8.1. Kalsinörin inhibitörleri

Kalsinörin inhibitörleri solid organ (böbrek, karaciğer, kalp, akciğer) naklinde kullanılan immünsupresif ilaçlardır. Kalsinörin inhibitörleri, böbrek naklinde immünsupresif tedavinin temel taşı oluşturmaktadır. Bunların kullanıma girmesi ile akut hücresel rejeksiyon sıklığında azalma ve graft sağkalımın da iyileşmeler görülmüştür. İmmün yanıtı seçici olarak baskılamaktadır. Steroidlerden farklı olarak nötrofillerin fagositik fonksiyonlarını baskılamazlar. Aynı zaman da aza'da olduğu gibi kemik iliğini baskılayıcı etkileri yoktur (84, 87, 88, 89). Kalsinörin inhibitörlerinin immün baskılama etkileri, kendilerine özgü sitoplazmik proteinleri ile bileşik oluşturmasına bağlıdır. Kalsinörin inhibisyonu, T hücre aktivasyonunu artıran kritik sitokin genlerinin ekspresyonunu bozmaktadır. Başarılı düzeyde kalsinörin inhibitörü temelli immünsupresif tedavisi alan hastalar, konak savunmasında yeterli düzeyde immün yanıt işlevlerini sürdürebilirler (84). Bu grup için de CsA ve FK506 yer alır (88, 89). Kalsinörin inhibitörü ilaçların en önemli yan etkisi nefrotoksitedir. Doza bağlı olarak böbrek kan akımında ve filtrasyon hızında azalma ile geri dönüşümlü böbrek vazokonstriksiyona yol açar. Bu yüzden doza bağlı olarak kreatinin değerlerinde geçici bir yükselme görülür. Vazokonstriksiyon, hipertansiyon ve sodyum tutulumunu da artırır. Uzun dönem kalsinörin inhibitörü kullanımı sonrası yaygın olarak kronik interstisyel fibrozis görülebilir.

2.8.1.1. Siklosporin (CsA)

CsA “Tolypocladium inflatum” (gams) isimli mantardan elde edilen, 1200 kilodalton (kDa) ağırlığında ve bir tanesi özgün olmayan 11 aminoasitten oluşan lipofilik siklik bir polipeptiddir. Aminoasitlerinin çoğu hidrofobik olması nedeniyle sadece organik çözücüler ile lipidlerde çözünür. 1978’de ilk olarak Calne ve arkadaşları tarafından kullanılmıştır (90).

Pasif olarak diffüzyonla hücre sitoplazması içine girmektedir (91). CsA sitozolde bulunan molekül ağırlığı 15.000 kDa olan siklofilin olarak tanımlanan bazik bir proteine bağlanmaktadır. Siklofilin bir cis-trans peptidil prolin izomerazı olup immünofilin (immünsupresif ilaçları bağlayan) ailesine aittir. Siklofilin ve CsA kompleksi immünsupresif molekülü oluşturur. Bu kompleks Ca^{++} ve kalmoduline bağlı bir fosfataz olan kalsinörine bağlanmaktadır. Kalsinörin interlökin-2 (IL-2) geninin çoğaltıcı bölgesinin aktivasyonunu sağlayan Ca^{++} ’a bağlı sinyalin iletilmesinde rol oynar. NFAT’yı defosforile ederek NFAT’ın inaktif formundan fosfatları ayırır. Defosforilasyon gerçekleşince, NFAT T hücre büyüme faktörü IL-2 ve IL-2 reseptör içeriklerini kodlayan genleri de içeren birkaç genin promotör bölgesine bağlanarak aktivasyonun gerçekleştiği nükleus bölgesine göç eder. Böylece nükleusda IL-2 geninin transkripsiyonu engellenmiş olur. Buna bağlı olarak kalsinörünün inhibisyonu, T hücre aktivasyonu ile çoğalmasını sağlayacak olan pek çok sitokin [(IL-4, interferon-gama (IFN- γ) ve tümör nekrotizan faktör (TNF- α) ekspresyonunu ve CD40 ligand)] geninin, h-ras ve c myc gibi proto-onkogenlerin transkripsiyonunu da bozar. Ayrıca IL-2 ve sitotoksik T lenfosit oluşumunu inhibe eden tümör büyüme faktörü (TGF- β)’nin ekspresyonunu artırmaktadır (92, 93).

CsA oral alımını takiben gastrointestinal sistemden özellikle de ince bağırsaktan yavaş, kısmen ve değişkenlikler göstererek emilir. Yarı ömrü sekiz saat olan CsA’nın kandaki pik konsantrasyonuna 2-4 saatte ulaşmaktadır ve biyoyararlılık %30 civarındadır. Emilim sonrasında kanda primer olarak eritrosit, lökosit, plazma ve lipoproteinlere bağlanmaktadır. Yaklaşık 30 kadar metabolite dönüşen CsA’nın %90’ı safra yolu ve % 1’i değişmeden atılmaktadır. Metabolizması karaciğerde CYP (CYP3A4, CYP3A5) enzimleri tarafından olmaktadır. Emilimdeki farklılıklar, çeşitli ilaçlarla gösterdiği etkileşimler, nefrotoksisite gibi faktörler nedeniyle CsA dozunun tespiti son derece önemlidir. CsA’nın başlangıç dozu 8-10 mg/kg/gün’dür. Bu doz tedricen azaltılarak 6 ay içinde 3-5 mg/kg/gün civarına indirilir. CsA doz

ayarlamalarında ve uygun dozun belirlenmesinde temel, CsA kan düzeyinin saptanmasıdır. Çünkü terapötik aralığı oldukça dardır. Nakil sonrası ilk üç ay için CsA kan düzeyleri 175-350 ng/ml idame tedavisinde ise 50-150 ng/ml arasında olmasına özen gösterilmelidir (82). CsA'nın çok ciddi yan etkileri vardır. En önemli yan etkisi yüksek konsantrasyonlarda nefrotoksisitedir. Diğer yan etkiler ise, malign tümör gelişim sıklığı, nörotoksisite, hepatoksisite, akne, diş eti hiperplazisi, ateş ve kıllanma sayılabilmektedir (84,94).

2.8.1.2. Takrolimus (FK506)

FK506 olarak bilinen takrolimus "Streptomyces tsukubaensis"den elde edilen molekül ağırlığı 804 kDa olan makrolid türevi bir antibiyotik bileşendir. Yüksek derecede lipofilik olan bileşik, yapı ve bağlanma yerleri farklı olsa da CsA'ya benzer yolağın inhibisyonu ile benzer bir etki gösterir. CD4+ Th lenfositleri inhibe eder.

FK506, hücre içi etki mekanizmasında sitoplazmada yer alan immünofilin grubundan olan FK506 bağlayıcı protein (FKBP-12)'e bağlanmaktadır. FKBP-12'de siklofilin gibi cis-trans peptidil proлил izomerazıdır. FKBP-12 ve FK506 kompleksi immünsupresif molekülü oluşturur. Bu kompleks Ca^{++} ve kalmoduleline bağlı bir fosfataz olan kalsinörine bağlanmaktadır. Kalsinörin IL-2 geninin çoğaltıcı bölgesinin aktivasyonunu sağlayan Ca^{++} 'a bağlı sinyalin iletilmesinde rol oynar. NFAT'yı defosforile ederek NFAT'ın inaktif formundan fosfatları ayırır. Defosforilasyon gerçekleşince, NFAT T hücre büyüme faktörü IL-2 ve IL-2 reseptör içeriklerini kodlayan genleri de içeren birkaç genin promotör bölgesine bağlanarak aktivasyonun gerçekleştiği nükleus bölgesine göç eder. Böylece nükleusda IL-2 geninin transkripsiyonu engellenmiş olur. Ayrıca diğer aktivasyon genlerinin transkripsiyonu da engellenmiş olur (92,93).

FK506 oral alımını takiben üst sindirim sisteminden ve hızlı bir şekilde olmaktadır ve safraya bağlı değildir. Yarı ömrü sekiz saat olan FK506'nın biyoyararlılığı %20 civarındadır. Metabolizması karaciğerde CYP (CYP3A4 ve CYP3A5) enzim grubu tarafından olmaktadır. Emilimdeki farklılıklar, çeşitli ilaçlarla gösterdiği etkileşimler, nefrotoksisite gibi faktörler nedeniyle FK506 dozunun tespiti son derece önemlidir. FK506'nın başlangıç dozu 0,1-0,2 mg/kg/gün'dür. Bu doz 12 saat ara ile ikiye bölünmektedir. Nakilden sonra ilk aylarda kan düzeyi 10-15 ng/ml daha sonraki aylarda da 5-10 ng/ml olarak tutulmalıdır. CsA'dan in vitro olarak 100 kat daha güçlü ama yan etkileri şiddetli ve terapötik aralığı daha dardır. FK506'nın ciddi yan

etkileri arasında nefrotoksisite, diyabet, titreme, malign tümör gelişim sıklığı, nörotoksisite, diyare sayılabilmektedir (84, 85,94).

2.8.2. Anti proliferatif ilaçlar

Standart immünsüpresifler olarak kabul edilen bir diğer grup ilaç anti proliferatifler olup, tamamlayıcı ilaçlar olarak da adlandırılırlar. Bu grupta temel olarak Aza ve MMF yer alır.

2.8.2.1. Aza (İmuran)

Purin antimetaboliti olup, 6-merkaptopürinin nitroimidazol türevidir. Güçlü bir mitotik inhibitördür. Aza aktiflenmeden önce karaciğerde metabolize olur. Önce glutathione S-transferaz enzimi ile farmakolojik olarak inaktif olan 6-MP'e dönüştürülür. 6-MP, karaciğerde ve bağırsaklarda farmakolojik olarak aktif metabolit 6-thioisonisik aside dönüştürülür. Karaciğerde metabolize olduktan sonra oluşan aktif metabolitler purin sentezini önlemektedir (95). Hücre siklusunun sentez fazında inosinik asitten adenilik ve guanilik asit sentezini engelleyerek pürin sentezi prekürsörlerinin birbirine dönüşümünü önler ve negatif feedback ile de novo pürin sentez aktivasyonunu baskılayarak hem DNA hem RNA sentezini engellemiş olur. DNA sentezini engelleyerek lenfositlerin çoğalmasını ve birçok fonksiyonunu inhibe eder. Genetik replikasyonu durdurur, hücre bölünmesini baskılar. T hücre ve B hücre çoğalmasını azaltmış olur.

İlk kez 1961'de kullanılan azatiopürin, kısa bir dönem sonra SDBY'nin tedavi yöntemlerinden biri haline gelmiştir. Aza'nin en büyük yan etkileri myelosit baskılanması, lökopeni, dermatitis'dir (96).

2.8.2.2. Mikofenolat mofetil (MMF)

MMF, birkaç penisilyum türlerinin fermantasyon ürünü olup immünsüpresif özellikte mikofenolik asidin (MPA) ön ilacı morfolinoetil esteridir. İlacın molekül ağırlığı 433 kDa'dur. MPA, inozin monofosfat dehidrogenazın (IMPDH) geri dönüşümlü bir inhibitörüdür. IMPDH, de-novo pürin sentezinde hız kısıtlayan kritik bir enzimdir ve inozinden guanozin nükleotid oluşumunu katalizler. MPA aracılığıyla guanozin nükleotidlerin deplesyonunun lenfositler üzerine antiproliferatif etkileri vardır. T ve B hücrelerinin çoğalmasını engellemektedir. MMF, etki şekli açısından kalsinörin inhibitörleri ve sirolimustan oldukça farklıdır. Sitokin üretimini ya da antijenin tanınmasını takiben meydana gelen olayları engellemez (97).

Oral alımı takiben hızlı ve tam olarak emilir ve tamamına yakını presistemik de-esterifikasyon ile aktif formu olan MPA'de hidrolize olur. MPA, %97-99 serum albüminine bağlı bulunur. MPA glukuronid (MPAG), MPA'nın majör metabolitidir. Aktif tubuler sekresyon yolu ile idrara atılır. MAPG; barsak bakterileri tarafından MPA'e tekrar dekonjuge edilir ve daha sonra kolondan tekrar emilir. Alınımından sonra çok hızlı bir şekilde emilir ve 6 ile 12 saat sonra plazmada ikinci bir MPA pik gözlenebilir.

Aza'den farkı lenfositler üzerine olan seçici etkileridir. In vitro olarak MMF, T ve B hücre proliferasyonunu bloke etmekte, antikor oluşumunu önlemekte ve sTL oluşumunu inhibe etmektedir. MMF aynı zamanda lenfositler üzerindeki adezyon moleküllerinin ekspresyonunu da azaltarak vasküler endotel hücrelere bağlanmayı engeller (97,98,99).

1960'lı yıllarda nakilde immünsupresif ilaç olarak kullanılmadan önce antibiyotik, antineoplastik özellikleri üzerine çalışmalar yapılmıştır. MMF, 250-1.500 mg/gün 2 x 1 kullanılmakta, enterik kaplı mikofenolat Na ise 325-650 mg/gün 2 x 1 kullanılmaktadır. FK506 ile birlikte kullanımda enterohepatik dolaşımının etkinliği CsA'ya göre artmaktadır. Kan seviyeleri ve eğri altındaki seviyesi artmış olabilir. Bazen kan düzeylerine bakmaya ihtiyaç duyulabilir (83, 100,101). En ciddi yan etkisi gastrointestinal sistem kanaması, diyare, bulantı, kemik iliği toksisitesi ve lökopenidir (97).

2.8.2.3. Mikofenolat Sodyum [(Mycophenolic acid-Myfortic (MYF)]

Böbrek nakilli hastalarda, organ reddinin profilaksisi kullanılmaktadır. CsA ve kortikosteroidlerle aynı anda kullanılmalıdır. Penisilyum türevidir. MPA'in ön ilacı morfolinoetil esteridir. Pürin sentezini baskılamaktadır. Antiproliferatif etkisi ile T ve B hücrelerinin çoğalmasını engellemektedir (97).

2.8.3. Kortikosteroidler (Prednizon, metilprednizolon)

Kortikosteroidler ilk olarak 1960'lı yıllarda rejeksiyon tedavisi için kullanılmış olup klinik nakillerde merkezi bir role sahiptirler. Kortikosteroidlerin immünsupresif etkileri makrofajlar, T hücre, B hücre ve endotel hücrelerini etkileyerek immünsupresif ve anti inflamuar etki oluştururlar (102). Hidrofobiktirler ve hücre içine difüze olup burada 90 kDa ağırlığındaki ısı şok proteini ile ilişkili bulunan sitoplazmik reseptörlere bağlanırlar. Sonuç olarak, ısı şok proteini ayrıştır ve steroid-reseptör kompleksi glukokortikoid yanıt elemanları (glucocorticoid response elements-GRE) olarak

adlandırılan DNA dizilerine bağlandıkları nükleusa geçerler. GRE dizileri pek çok sitokin geninin kritik promotör bölgelerinde bulunmuştur ve steroid-reseptör kompleksinin GRE'ye bağlanmasının, sitokin genlerinin transkripsiyonunu inhibe ettiği düşünülmektedir. Kortikosteroidler aynı zamanda pek çok sitokin kodlayan genlerin uyarılmasında önemli bir role sahip bir transkripsiyon faktörü olan NF- κ B'nin nükleusa translokasyonunu inhibe eder. Kortikosteroidler IL-1, IL-2, IL-3, IL-6, TNF- α ve IFN- β ekspresyonunu inhibe eder. Sonuçta, T hücre aktivasyon sürecinin tüm evreleri inhibe olur (103, 104,105).

Kortikosteroidlerin oral emilimi iyi olup, %70-90'ı plazma proteinlerine bağlanır. Organ naklinin öncesi ve sonrasında yüksek doz steroid tedavisi (300-2.500 mg) uygulanır. İndüksiyon sonrası ilk 6 ay da 5-10 mg/gün 'e, 1-2 yıl için de 5 mg/gün'e geçilir. Akut hücrel rejeksiyon tedavisinde 125-1.000 mg/gün olarak 2-3 gün süreyle verilir ve 4-8 haftada doz azaltılır. Kortikosteroidlerin tedavisinin hipertansiyon, hiperglisemi, osteoporoz, hiperlipidemi, büyüme geriliği gibi pek çok yan etkisi olduğundan, mümkün olan en kısa sürede doz azaltılması gerekmektedir (104,105).

2.8.4. Poliklonal antikorlar

2.8.4.1. Anti timosit globulin (Atgam-ATG), Anti lenfosit globulin (Tymoglobulin-ALG)

İmmün mekanizmanın elemanlarına karşı oluşturmuş antikorlar, rejeksiyon profilaksisi ve rejeksiyonun geri döndürülmesinde kullanılmaktadır. Dolaşımdaki ve dokudaki lenfositleri seçici olarak azaltarak, ya da opsonize ederek etki ederler. Poliklonal antikorlar, at ya da tavşanların kültüre edilmiş insan lenfoblastları, dalağı ya da timusundan köken alan hücrelerle immünize edilmesiyle üretilmiştir. Poliklonal antikorlar, daha sonra anti-eritrosit ve anti trombosit antikorlarının temizlenmesini içeren bir dizi işlemle saflaştırılır (84). Poliklonal antikorların etki mekanizması tam olarak anlaşılacakla birlikte T hücre belirteçine karşı yönelmiş sitotoksik antikorlar içerir. T hücre cevabını bozarlar ve bu etki tedavi kesildiği zamanda da devam etmektedir. Uygulandıktan sonra periferik kan lenfositlerinde depresyon meydana gelir. Özellikle T lenfositler olmak üzere lenfositler lize olur ya da retikuloendotelial sistem tarafından temizlenir. Antikor lenfositlerin yüzey antijenlerini de maskeleyebilir. ATG kullanımı ile uzamış lenfopeniyle karşılaşılabilir ve CD4 alt kümesi uzun yıllar boyunca baskılanmış olarak kalabilir (106, 107). Bu rejimler klinikte 1) steroide dirençli

rejeksiyon veya artrit içeren rejeksiyon tedavisinde, 2) yüksek oranda sensitize veya 3 aydan daha kısa bir süre içerisinde immünolojik olarak rejekte olmuş ikinci nakillerin tedavisinde, 3) kadaverik böbrek nakillerinde CsA'nın tam doz kullanımından önce başlangıçtaki akut tübüler nekroz (ATN) esnasında dördü tedavinin bir parçası olarak kullanılırlar. Rejeksiyon ve indüksiyon tedavisi olarak tedavi 7-10 gün verilir. Ciddi erken ve geç yan etkiler oluşabilir (106,107). İlk uygulama sonrasında üşüme, titreme ve eklem ağrıları sık görülmektedir (108).

2.8.4.2. IVIG

Standart IVIG preparatları yaklaşık olarak 5000-10000 verici plazmasından elde edilmektedir. Çok sayıda vericiden hazırlanması nedeniyle vericilerin doğal infeksiyon ve immünizasyon ile oluşmuş çok çeşitli tipteki antikorlarını içerirler. Kullanımda olan IVIG preparatları, IgA ve IgG subgrupları yönünden aralarında küçük farklılıklar içerirler. Ticari bir IVIG preparatı %95 ve üzeri IgG, % 2.5'den az IgA ve IgM içerir. IgG altgrupları; IgG1 % 55-70, Ig G2 % 30-38, Ig G3 % 0-6, Ig G4 % 0.7-2.6 olarak bulunur. Saf immünglobulin glukoz, maltoz, glisin, sukroz, mannitol veya albumin ile stabilize edilir. IVIG'nin ortalama yarı ömrü üç haftadır. IgG molekülü, dört polipeptid zincirden (iki hafif, iki ağır) oluşmaktadır. Hem hafif hem de ağır zincirlerin değişken (V) ve sabit (C) olarak belirtilen bölümleri mevcuttur. Bir hafif ve bir ağır zincir disülfid bağla kovalent olarak bağlanır. Hafif ve ağır zincirin değişken kısımları kovalent olmayacak şekilde bağlanmıştır ve antijen bağlayan kısmı oluşturmaktadır. IgG nin hücrelerle bağlantısını IgG'nin Fc kısmı sağlamakta ve Fc reseptörleri aracılığıyla fagositlerde, B hücre ve diğer antijen sunan hücrelerle karşılıklı iletişim meydana gelmektedir (109).

İlk olarak hümoral immün yetmezlik hastalıklarının tedavisi için geliştirilmiş olan havuzlanmış insan gama globulin preparatları bugün artık pek çok otoimmün ve inflamatuvar hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. IVIG'in etki mekanizması karmaşıktır. Yüksek oranda sensitize hastalarda IVIG, anti-HLA'yı inhibe eder. Anti-HLA, reaktif T ve B hücrelerinin uzun süreli baskılanmasına neden olur. IgG sentezi için gerekli olan sitokin sinyalizasyonu inhibe edilir. Ayrıca alloimmünizasyon, T hücre reseptörünün engellemesi yolu ile inhibe edilir. IVIG immünsüpresif aktivitesinden çok immün düzenleyici etkisiyle tanınır ve kullanımında immünsüpresyonun bilindik komplikasyonları yoktur (110).

2.8.5. Monoklonal antikolarlar

2.8.5.1. Muromonab-CD3 (OKT3)

Anti-CD3 monoklonal antikoru bu gruptan anti rejeksiyon tedavisinde kullanılan tek preparat OKT3'tür. 1987 yılında klinikte kullanıma sunulmuştur. CD3'ün ϵ zincirine karşı oluşturulmuş monoklonal antikoları CD3+Th hücrelerinin modülasyon ve temizlenmesini sağlamaktadır. CD3 reseptörünün ϵ parçası ile etkileşime girerek hücrenin ölümünde etkilidir (111).

2.8.5.2. Anti-CD25 monoklonal antikolarlar (Baziliksımab, Daklizumab)

IL-2 reseptörünün α -zincirine karşı hedeflenmişlerdir. Reseptörü sadece aktive T hücrelerinin üzerinde bulunur. Antikorum reseptöre bağlanması ile IL-2 aracılı yanıtlar bloke edilir. Böylece IL-2'nin üretimini azaltan kalsinörin inhibitörlerinin etkisini artırır. Akut rejeksiyon epizodlarını tedavi etmek için değil önlemek için tasarlanmışlardır (112). Baziliksımab ve daklizumab benzer iki bileşen olup CsA ve kortikosteroidlerle birlikte kullanıldıklarında akut rejeksiyon epizodlarının insidansını azaltma kapasiteleri vardır. Her ikisi de mürin monoklonal antikoları olarak köken alırlar sonrasında ise genetik mühendisliğiyle molekülün büyük kısmı insan IgG'si ile yer değiştirir. Baziliksımab'ın IL-2 reseptörü için olan afinitesi daklizumabın reseptör için olan afinitesinden daha büyüktür (113).

2.8.5.3. Anti-CD52, anti-CD20 monoklonal antikolarlar (Alemtuzumab, Rituksımab)

Alemtuzumab T-hücre, B-hücre, monosit/makrofaj ve NK hücre gibi CD34 hücrelerde bulunan membran glikoproteini CD52'ye karşı oluşturulmuş monoklonal antikolarlardır (114). Calne ve ark. tarafından nakil sonrası hastalarda düşük doz CsA monoterapisi ile kombine olarak rejeksiyona karşı profilaktik olarak indüksiyon tedavisinde kullanılmış, 5 yıllık graft sağkalımında artış bildirilmiştir (115). Rituksımab anti-CD20 monoklonal antikordur. Antikor ilişkili rejeksiyon ve şiddetli T-hücre ilişkili rejeksiyonda kullanılabilir. Nakil öncesi oluşan alloantikoların baskılanmasını sağlamaktadır (116).

2.8.6. mTOR inhibitörleri

mTOR, hücre bölünmesi sürecindeki anahtar bir düzenleyici enzimdir. 'TOR' inhibitörleri etki mekanizmaları bu kinazın inhibisyonu ile yakından ilişkili olan benzer iki immüsupresif ilacı içerir (84).

2.8.6.1. Rapamisin (Sirolimus)

Sirolimus 1997 yılında FDA tarafından klinik kullanım için ve 2002 yılında da Avrupa’da CsA tedavisine destek ilaç olarak lisans almıştır (117).

Sirolimus FK506’ya benzeyen makrolid bir antibiyotik bileşen olup, “Streptomyces hygroscopicus” tan elde edilmektedir. IL-1, -2, -3, -4, -6, -7, -12 ve -15 gibi sitokinlere ek olarak alloantijenlerle de uyarılan T hücre proliferasyonunu bloke eder. Ayrıca B hücrelerinin antijen ve sitokinle sağlanan proliferasyon ve farklılaşmasını da engeller (118).

Sirolimus ve mTOR (memeli hedef rapamisin-mamalian Target of Rapamune) hücre içinde immunofilin FKBP-12 ye bağlanır. IL-2 gibi sitokinler ve CD28-B7.1 gibi eş-uyaran proteinler, sirolimusun hedefi olarak bilinen bir kinaz olan mTOR’u aktive ederler. Sirolimus, FKBP12 ile bir kompleks oluşturur. Sirolimus/FKBP12 kompleksi belirli proteinlerin fosforilasyonunu düzenleyen mTOR'a bağlanır. mTOR inhibisyonu translasyon aktivitesi, DNA sentezi ve protein sentezinde azalmaya neden olarak hücre döngüsünün G1'den S fazına geçisini bloke eder (117,118).

Nefrotoksik olmayan, rejeksiyon için geniş çaplı antiproliferatif etki gösteren bu ilacın CsA ile sinerjistik olarak çalıştığı ve eş güçte olduğu bulunmuştur (117). mTOR inhibitörlerinin ana kullanım alanı, idame immünsüpresyon tedavisinde kalsinörin inhibitörüne bağlı nefrositotoksisite ve tümör varlığındadır (118). Bazı çalışmalar da ise CsA ile birlikte kullanımın da tek başına CsA kullananlardan daha yüksek kreatinin düzeylerine yol açtığı gösterilmiştir (119).

İlaç kombinasyonlarda aşırı immünsüpresyon ve trombositopeni, hipertansiyon, karaciğer enzimlerinde yükselme doza bağımlı olarak meydana gelebilen en sık yan etkilerdir. Diğer yan etkileri arasında; anemi, lökopeni, trombositopeni, hipokalemi, hipomagnezemi, ateş, yara iyileşmesinde gecikme, hiperlipidemi, oral ülser ve nonenfeksiyöz interstisyel pnömoni, periferik veya fasiyal ödem, nadiren de lisinopril alanlarda anjiyo ödem ve gastrointestinal sistem belirtileri görülebilmektedir (120,121). İdame doz olarak 2 mg/kg/gün olarak veya 5 mg/kg/gün olarak kullanılmaktadır. Sirolimus ilaç doz ayarlaması kan düzeyinin takibi ile yapılmaktadır (122). Dengeli renal nakilli hastalarda tekrarlanan dozlardan sonra terminal yarı ömrü 62 saattir. Buna karşılık, etkinlik yarı ömrü daha kısa olup, ortalama sabit kan konsantrasyonları 5-7 gün sonra oluşur.

Sirolimus hem CYP3A4, hem de P-glikoprotein substratıdır. Sirolimus geniş çapta o-demetilasyon ve/veya hidrosilasyona uğrayarak metabolize edilir. Hidroksil, demetil ve hidroksidemetil dahil yedi ana metaboliti tam kanda saptanabilmektedir. Sirolimus insan tam kanındaki ana bileşik olup, immunosupressif etkide % 90'dan fazla payı vardır. Sağlıklı gönüllülere tek doz [14C] sirolimus verildiğinde, radyoaktivitenin çoğunluğu (% 91.1) feçes, az miktarı da (% 2.2) idrar yolu ile atılır (118, 119).

2.8.6.2. Everolimus

Everolimus, sirolimus gibi mTOR inhibitörlerindedir. Kimyasal yapı olarak sirolimusa benzer makrolid türevidir (123,124). Everolimus proliferasyon sinyal inhibitörü olarak büyüme faktör aracılı sinyal transdüksiyonu inhibe eder. Everolimus büyüme faktör reseptörüne bağlanarak p70S6 kinazı baskılayarak IL-2, IL-15 aracılığı ile T ve B hücre çoğalmasını G1'den S evresine geçişde durdurur (125). Sirolimus'dan farklı farmakokinetik özellikleri vardır. Özellikle, everolimus 28 saat daha kısa yarı ömür ve kan konsantrasyonu 4 gün sonra kararlı duruma erişmekle sirolimus'dan farklıdır. En sık yan etkileri arasında hiperlipidemi, artmış serum kolesterol ve trigliserid düzeyleri, anemi, proteinüri görülebilmektedir (124). Kalp nakilli hastalarda kardiyak allograft vaskülopati insidansını ve şiddetini azaltmada everolimus aza'den daha etkindir (123). Metabolizması karaciğerde CYP enzim grubu tarafından olmaktadır (126). Emilimdeki farklılıklardan dolayı certican dozunun tespiti de önemlidir. Başlangıç dozu 0,75 mg/kg/gün'dür. Kan düzeyi 3-8 ng/ml olacak şekilde ayarlanmalıdır (124).

2.9. İMMÜNSUPRESİF İLAÇLARIN KAN DÜZEYLERİNİN İZLENİMİ

Böbrek nakilli hastalarda uygulanan immünsupressif tedavide yeterli immünsupresyon ile ilaç toksisitesi arasındaki dengeyi sağlamak tedavinin etkinliği açısından önemlidir. İmmünsupressif tedavinin izlemi ile tedavi edici ve toksik dozajlar belirlenebilir ve gerekli hedeflere ulaşılabilir. Kan düzeyi ölçümü, yeterli immün baskılamada ve toksisitenin önlenmesinde yol gösterici olabilmektedir. Özellikle CsA ve FK506'nın kan düzeylerinin tespit edilmesi tedavi açısından gereklidir. Hasta ve hastalararası metabolizmanın değişiklik göstermesi çok dar terapötik olmaları sebebi ile bu iki ilacın kan düzeylerinin ölçülmesi böbrek nakli olan hastanın yönetiminin doğası gereğidir. Her iki ilacın karaciğer mikrozomal enzim sisteminde bulunan CYP3A tarafından ve p-glikoprotein yolu ile metabolizması, ilaç kinetiğinin hastalar arasındaki büyük değişkenliği, ilaç etkileşimleri doz ayarlamasının önemini vurgulamaktadır. CsA

ve FK506 sık kullanılan birçok ilaçla etkileşebilir ve bu nedenle ilaç etkileşimleri yakından takip edilmelidir. Mikrozoal enzimlerden özellikle CYP3A sistemini etkileyen herhangi bir ilaç, bu ilaçların kan düzeyini etkileyebilir. Bu enzimi inhibe eden maddeler bu ilaçların metabolizmasını azaltıp kan düzeyini arttırabilir. Bunun aksine CYP3A aktivitesini indükleyen ilaçlar metabolizmayı arttırır ve kan seviyesini azaltabilir. İlaçların kan ve doku konsantrasyonu, etkililik ve toksisitesinin oluşmasında farmakokinetik, farmakodinamik ve farmakogenetik faktörler rol oynamaktadır (127). Burada ilaç yanıtını etkileyen faktörler, genetik farklılığa göre ilaçların metabolizma ve etkilerinin bireyler arasında değişmesi, ilaç taşıyıcı enzimler ve genler rol oynamaktadır.

2.9.1. İlaç yanıtını etkileyen faktörler

İlaçların vücuttaki etkisi çok çeşitli faktörler tarafından değiştirilebilir. Bu faktörlerden bazıları ilacın farmakokinetiğini değiştirmek suretiyle ilacın etki yerindeki konsantrasyonunu değiştirebilir. Bu faktörler arasında yaş, vücut ağırlığı, emilim, ilacın veriliş yolu ve zamanı, çevresel faktörler sayılabilir. İlaçla tedavinin amacı hastalık etkilerini azaltmak, hastalıkları önlemek ve kontrol altında tutmaktır. Bunun için toksik düzeylere ulaşmayacak kadar yeterli ilaç dozlarını hedef dokulara ulaştırmak gereklidir. İlaçların vücutta ortaya çıkış hızını, etkisinin şiddetini ve ilacın etki süresi ile mekanizmalar farmakokinetik olarak bilinir. Farmakokinetik, ilaçların emilimi (absorbsiyon), dağılımı (distribüsyon), metabolizması (biyotransformasyon) ve atılımı (eliminasyon) ile ilgilenmektedir. Farmakokinetik, kısaca vücudun ilaca ne yaptığıyla ilgilenir. Bu süreç içinde organizma ilacı metabolitlerine ayırıştırır ve ilacın plazma konsantrasyonunu oluşturarak, ilacın dokulara dağılmasına neden olur (128).

Emilim: İlacın uygulama yerinden kan veya lenf dolaşımına geçmesidir. İlaç emilimini değiştiren etkenler; molekül büyüklüğü, ilacın yağda çözünürlüğü, iyonize olup olmadığı sayılabilir.

Dağılım: İlacın, uygulandığı yerden emildikten sonra önce kan dolaşımına ardından da vücuda dağılması olayıdır. İlaçlar kanda albümin gibi büyük proteinlere bağlanarak taşınır. Bu bağlanma % olarak ifade edilir ve albümine bağlı olan ilaç kısmı damardan dışarı çıkamaz Bu nedenle proteine yüksek oranda bağlanan ilaçların etki süresi uzundur.

Metabolizma: İlacın karaciğer veya diğer dokular tarafından kimyasal olarak başka maddelere (metabolit) dönüştürülmesidir. Vücuda giren çeşitli kimyasal

maddeleri etkisizleştirmek (detoksifiye etmek) için evrimsel süreçte milyonlarca yıl boyunca uyum sağlamış olan karma işlevli oksidaz enzim sistemi (mikrozomal enzimler veya sitokrom p450 enzimleri olarak da bilinir) bu olaydan sorumludur. Vücuttaki diğer enzimlerden farklı olarak mikrozomal enzimler daha önce hiç karşılaşılmamış olan bir maddeyi (örneğin bir ilacı) tanıyıp onu etkisizleştirmek için molekülü parçalamak ve/veya bir başka molekül eklemek suretiyle başka maddelere dönüştürür (metabolitler).

Atılım: İlacın ve veya metabolitinin idrar, safra, solunum havası gibi yollar aracılığıyla vücuttan atılmasıdır (128).

2.9.2. Genetik farklılığa göre ilaçların metabolizma ve etkilerinin bireyler arasında değişmesi

Genetik yapıdaki değişikliğe bağlı olarak belirli protein tiplerinin, enzimlerin, yapısının bozulduğu ya da eksik olduğu ve buna bağlı olarak da bazı metabolizma hastalıklarının olduğu bilinmektedir. İlaçların elimine edilmesi de büyük ölçüde enzimler aracılığı ile yapılan metabolik değişmelere bağlı olduğu için genetik yapıdaki değişiklikler bazı kişilerde ilaçların farmakokinetiğinde değişmelere neden olmaktadır. İlaçlara karşı farklı yanıt reseptörlerin değişikliğine veya azalmasına da bağlı olabilir. Yeni moleküllerin tedavide ilaç olarak kullanılmaya başlanması ile tedavide görülen etki ve yan etkilerin farklılıkları, tedavi etkinliklerinin farklılıkları ilaca verilen yanıtında bireylerarası değiştiğini ve bu değişikliğin nedenin de, yaş ve ırk, ilaçların metabolizmalarında görevli organların fonksiyonları, eşzamanlı alınan ilaç tedavisi, ilaç etkileşimleri farmakogenetik kavramının yaygınlaşmasına yol açmıştır. Bireylerin ilaçlara yanıtındaki farklılığını genetik çerçevede inceleyen bilim dalına farmakogenetik denir. Bireyler arası ve ilaçlar arası yanıt farklılıklarını açıklamaya çalışan ve bu farklılıkların genetik temelini araştırır. Kavram olarak, ilk ortaya çıktığında bireyler arası farklılığı incelerken, geliştikçe populasyonlar arası farklılıkla da ilgilenmeye başlamıştır. Genetik faktörler; ilaç metabolizmasını, bireylerde ilaçların eliminasyon hızını, ilaç reseptörlerinin ve hedef hücrelerdeki diğer yapıların niteliğini ve niceliğini değiştirerek ilaç etkisini bireyler arasında, etnik gruplar ve ırklar arasında değişkenlik göstermesinde önemli rol oynarlar (129). İlaç etkisinin bireyler arası değişiklik göstermesine yol açan genetik mekanizma, kısmi polimorfizmler ve bir kısmı da fenotipler şeklinde tanımlanır. Polimorfizm çok çeşitlilik anlamında bir sözcüktür. Organizmalarda birden fazla yapısal çeşitlilik gösteren proteinlere polimorfik proteinler denmektedir (130). Genetik polimorfizm, normal popülasyonda bir lokusta iki veya

daha fazla alelin belli bir sıklıkta görülmesi şeklinde tanımlanırken, en az iki fenotipin bulunduğu ve bu fenotiplerden birisinin frekansının % 1'den fazla olduğu durumdur. Polimorfizmler tek baz değişimi sonucu oluştuklarından tek nükleotid polimorfizmi (single nucleotid polymorphism-SNP) olarak adlandırılır. SNP'ler yaklaşık her bin bazda bir meydana gelmektedir (131). Genetik faktörler ilaç metabolizmasını değiştirerek ya da enzimlerin veya reseptörlerin, substrat ve ligantlarına bağlanma afinitelerini değiştirerek ilaç yanıtını etkileyebilirler. İlaç etkisinin genetik polimorfizme göre değişiklik göstermesi üç grup altında toplanabilir.

- 1- İlaç farmakokinetiğinde genetik faktörlere bağlı değişiklikler,
- 2- İlaç farmakodinamiğinde genetik faktörlere bağlı değişiklikler,
- 3- Enzim indüksiyon ve inhibisyonunda genetik faktörlere bağlı değişiklikler tarafından etkilenmektedir,

2.9.2.1.İlaç farmakokinetiğinde genetik faktörlere bağlı değişiklikler

Enzimlerin sentez hızının ve/veya niteliğinin genetik polimorfizm göstermesidir. Enzim sentez ettiren genin olmaması, eksik olması veya inaktif olması durumunda bu enzim üzerinden olan ilaç metabolizması meydana gelmez. İlacın substrata özgülüğü değişir. Bazı polimorfizmler sadece gende mevcuttur ve fenotipe yansımaz. Bu tür polimorfizmlerin klinik açıdan önemi yoktur. İlaç metabolizmasından sorumlu enzimlerin sentezinin veya yapısının bozulmuş olduğu fenotipe yavaş metabolize edici, normal olduğu fenotipe ise hızlı metabolize edici denir. Yavaş metabolizerlerde ilaç atılımı azalır, ilacın etkisi şiddetlenir ve toksik etkiler ortaya çıkabilir. Bazende enzim normale göre fazla oluşur ve ilacın yıkılması çok hızlanır, bu özelliği gösteren bireylere de çok hızlı metabolize edici denilmektedir. İlaç yanıtını değiştiren önemli polimorfik yapılar bulunmaktadır. Bunlar; ilaç metabolize edici enzimler [CYP enzimleri, alkol dehidrogenaz (ADH), dihidroprimidin dehidrogenaz (DPD), n-asetiltransferazlar (NAT), UDP-glukuroniziltransferaz (UGT), glutatyon-S-transferaz (GST)], ilaç hedef molekülleri (serotoninerjik, dopaminerjik reseptörleri), ilaç taşıyıcılarıdır (127). Böbrek naklinde kullanılan immünsüpresifler ile bu enzimlerin ilişkisine bakıldığında; CsA ve FK506'nın CYP3A ve hücre membranında yer alan MDR-1 geni ürünü olan p-gp yolu ile gastrointestinal sistemden metabolize edildiği ve bu her iki ilacın farmakokinetiğini etkilediği bilinmektedir (127).

2.9.2.1.1. İlaç metabolize edici enzimler

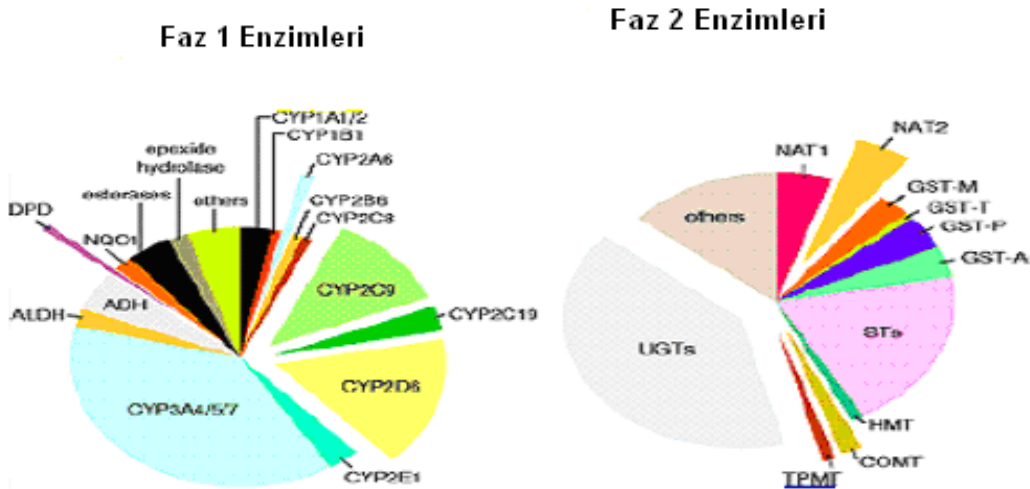
Günümüzde, ilaçların vücuda uygulandıkları andan itibaren çeşitli enzimlerin etkisine maruz kaldıkları bilinmektedir. İlaçların bu şekilde enzimlerle biyotransformasyona uğramasının amacı ilacı metabolitlerine ayırarak, vücuttan atılacak hale getirmektir. Bu enzimatik olaylar 4 ana grupta toplanır;

1. Oksidasyon
2. İndirgenme
3. Kopma
4. Konjugasyon

Bunlardan ilk üç reaksiyona faz 1 reaksiyonları, dördüncüye ise faz 2 reaksiyonları denir.

Faz 1 enzimleri: CYP, ADH ve DPD enzimlerinden oluşur. Faz 1 enzimleri ile yapılan reaksiyonlar; oksidasyon, indirgenme ve kopmadan oluşmaktadır. Ana bileşiğe ya işlevsel bir grup ekler ya da ana bileşikteki işlevsel bir grubu maskeler. Faz 1 reaksiyonları genellikle farmakolojik aktivitenin kaybolmasına neden olmakla beraber ilaç aktivitesinin gecikmesine ya da artmasına da neden olabilir. Faz 1 biyotransformasyon ürünleri hızla idrar içine atılmazlarsa endojen bileşiklerle reaksiyona girerek suda çözünürlüğü çok yüksek olan konjugatları oluştururlar. İlaçların vücuda girebilmeleri için lipofilik yapıda ve atılabilmeleri için hidrofilik yapıda olmaları gerekir.

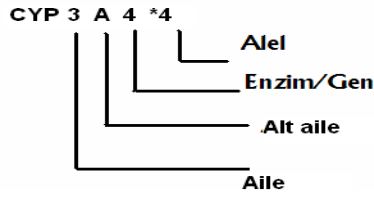
Faz 2 enzimleri: NAT, UGT, GST enzimlerinden oluşur. Faz 2 reaksiyonlarında ise oluşan polar metabolit daha polar hale gelmektedir (şekil 2.9.1.) (132).



Şekil 2.9.1: Faz 1 ve Faz 2 enzimleri

2.9.2.1.1.1. Sitokrom p450 (CYP) enzimleri

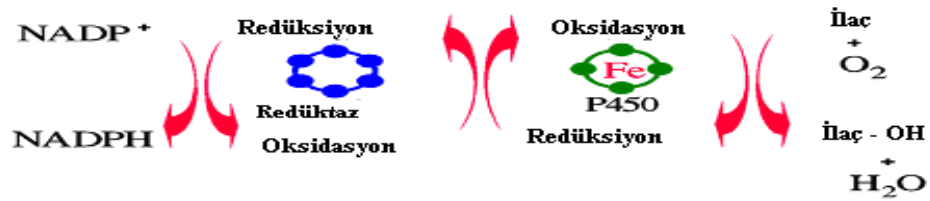
CYP süper gen ailesi, yapısı ve fonksiyonuyla çok geniş bir enzim ailesini oluşturmaktadır. CYP enzimlerinin, amino asit dizi benzerliklerine göre sınıflandırmalarında, yapısal ve fonksiyonel olarak birbirlerine yakın olan CYP enzimleri bir araya gelmektedir. CYP enzimleri ilk olarak aile ve alt aile olarak ayrılmaktadır. Buna göre amino asit dizilimi yönünden en az % 40 benzerlik gösteren enzimler aynı aile içinde yer almaktadır (133). Aynı alt aile grubunda ise aminoasit dizilim benzerliği en az %55 olmaktadır. Bu özelliklere göre yapılan sınıflandırma sonucunda; 17 aile ve çok miktarda alt aile ortaya çıkmıştır. Bu 17 ailenin 9 tanesinin kolesterol ve steroid hormon sentezi ile ilgili olduğu, 4 tanesinin mitokondriyonda bulunduğu ve elektron taşıma zinciri ile ilgili olduğu vurgulanmaktadır (133,134). Bu enzimlerin isimlendirmesinde; CYP sitokrom p450'yi ifade eder, P harfi proteini; 450 sayısı proteinin absorbans değerini; sonra gelen rakam aile numarasını, aileden sonra gelen harf alt aileyi ve en son kullanılan sayı ise bu alt aile içindeki enzimi simgelemektedir (CYP3A4 gibi) (134,135).



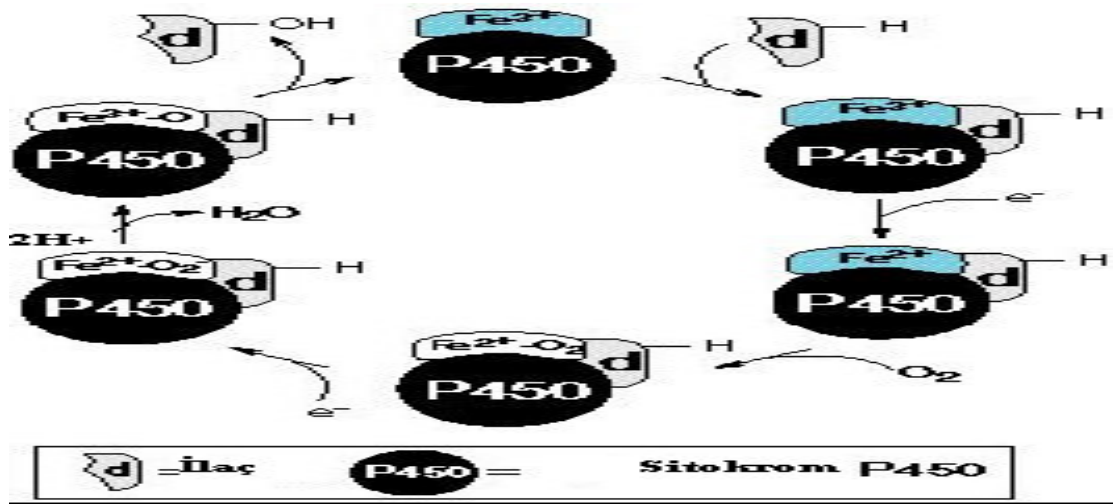
Her bir enzim için en yaygın ya da “ wild-type-yabanıl tip” alel, “*1” olarak isimlendirilir ve mutant alleler ise *2, *3, *4 şeklinde isimlendirilir. Yabanıl tip alel genellikle normal enzim aktivitesini gösterir ama her zaman her olgu da böyle olmayabilir. Günümüzde, CYP enzimlerinin 57 aktif 58 yalancı genlerinin olduğu ve 434’den fazla aleli kodladığı bilinmektedir (136). En büyük enzim ailelerinin ise CYP1 (CYP1A1 ve CYP1A2), CYP2 (CYP2A, CYP2B, CYP2C, CYP2D, CYP2E1, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C17, CYP2C18, CYP2C19) ve CYP3 (CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7, CYP3A43, CYP3A5P1, CYP3A5P1) olduğu gösterilmektedir (135,136).

İlaçlar ve ksenobiyotiklerin çok büyük bir bölümünün metabolizmasında en önemli görevi bu enzim ailesi üstlenmektedir. Bu enzim ailesi p450 bağımlı mono oksijenazlar veya karışık oksidazlar olarak adlandırılmaktadır. CYP enzimleri mikrozomal hemoproteinlerden oluşan bir hem protein ailesidir (135). CYP ve NADPH-Sitokrom c (P450) redüktaz endoplazmik retikulumun fosfolipid matriksinde gömülü olarak bulunmaktadır. Mikrozomlardan hazırlanan süspansiyonlardan

karbondioksit gazı geçirildikten sonra indirgeyici bir ajan varlığında spesifik bir absorbands spektrumu verirler. Bu işlem sırasında indirgenmiş hem proteinine karbondioksit bağlanır ve 450 nm’de pik yapan bir spektrum elde edildiğinden CYP olarak adlandırılır (137). NADPH (nikotinamid adenin dinükleotid fosfat)-Sitokrom c’nin görevi elektron transferi yapmaktır. CYP’lerin katalizlediği genel reaksiyon bir monooksijenaz reaksiyonudur ($\text{NADPH} + \text{H}^+ + \text{O}_2 + \text{RH} \rightarrow \text{NADP}^+ + \text{H}_2\text{O} + \text{R-OH}$). İki oksijen atomundan yalnızca biri substrata katıldığı için bu ismi alır. R herhangi bir ilaç, yağ asidi ve karsinojen olabilir. Reaksiyon basamakları şekil 2.9.2.A ve şekil 2.9.2.B’de görülmektedir (135).

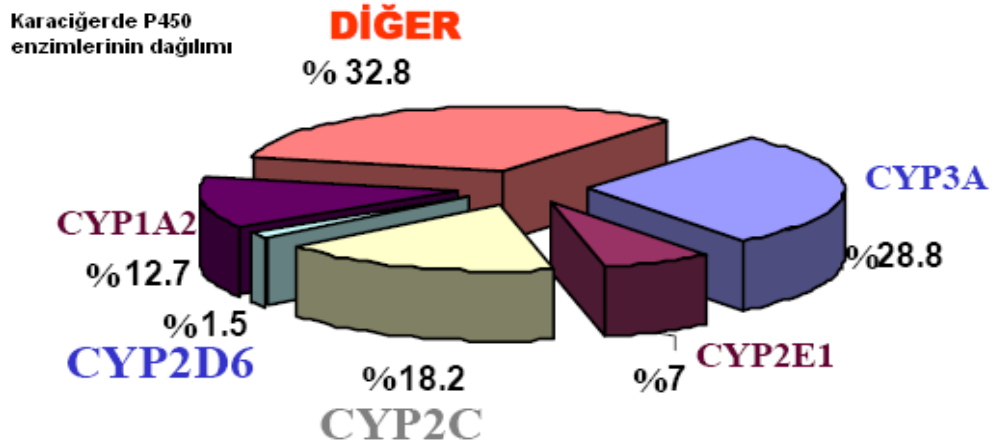


Şekil 2.9.2. A: Faz 1 enzim oksidasyonu



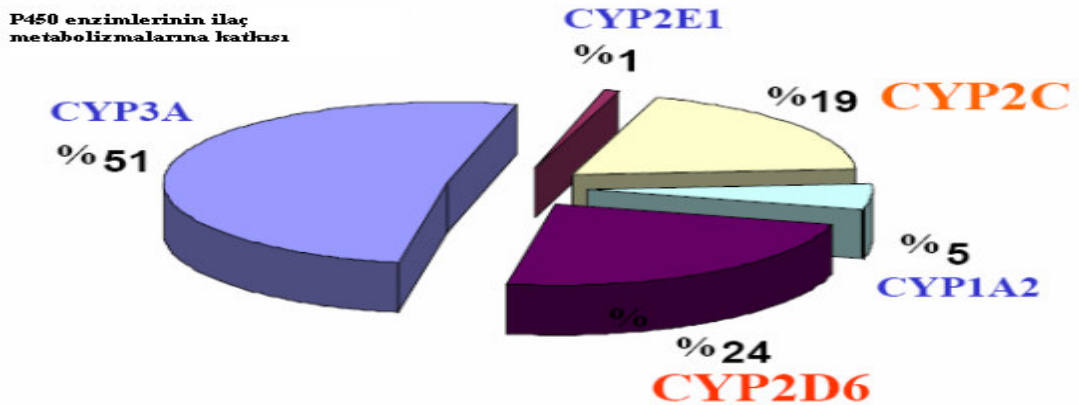
Şekil 2.9.2. B: CYP'deki reaksiyon basamakları

Metabolize eden enzimlerin bazıları az veya çok (matür eritrosit ve iskelet kası) tüm hücrelerde bulunur. Büyük kısmı ise spesifik olarak belirli organlarda (karaciğer, gastrointestinal sistem, mukoza ve lümeni, böbrek, akciğer) bulunurlar. Metabolizmada başrol oynayan organ karaciğerdir ve dağılımı şekil 2.10.3.'de görülmektedir (şekil 2.9.3).



Şekil 2.9.3: CYP enzim sisteminin karaciğerde dağılımı

Günümüzde bilinen 70 kadar p450 ailesinden 17 tanesi insanlarda bulunmaktadır. Bu kadar geniş aileye rağmen, ilaçların büyük çoğunluğu çok küçük bir enzim grubu tarafından metabolize edilirler. En fazla ilaç metabolize eden enzimler; CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 ve CYP3A4. Bu enzimlerin hepsinde de genetik değişkenlik söz konusudur. Bu enzim ailelerinden CYP1, CYP2 ve CYP3 aileleri daha çok ilaçların ve diğer ksenobiyotiklerin metabolizmasını gerçekleştirmektedir. İlaç metabolizmasına katkıları şekil 2.9.4.'de görülmektedir (135,138).



Şekil 2.9.4: CYP enzimlerinin ilaç metabolizmasına katkıları

2.9.2.1.1.1. CYP3A enzimleri

CYP3A alt ailesi, protein seviyeleri bireyden bireye farklılık göstermesine rağmen insan karaciğerindeki toplam p450 içeriğinin yaklaşık % 40'ını oluşturmaktadır. Günümüzde kullanılan ilaçların % 50'sinden fazlasının metabolizmasında rol alan önemli enzim grubudur. CYP3A5 enziminin önemli substratları arasında immünsupresif

ilaçlar (CsA, FK506, Sirolimus) bulunmaktadır ve bu ilaçları dar terapötik özellik ve farmakokinetik açıdan bireyler arasında geniş çeşitlilik göstermektedirler. CYP3A enziminin ekspresyonu çoğunlukla karaciğer ve ince barsakta olmaktadır. Yedinci kromozomun uzun kolu üzerinde (7q22) olup 231 kilo baz (kb) büyüklüğündedir. CYP3A alt ailesi temelde CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7 ve CYP3A43'den oluşan dört aktif gen ve CYP3A5P1, CYP3A5P2 olarak isimlendirilen iki tane yalancı gen bölgesi içermektedir. CYP3A7 geninin ekspresyonu doğumdan sonra azalmaktadır (135,139).

CYP3A4; CYP3A4 toplam CYP içeriğinin % 30-40'ını oluşturmaktadır. İlaçların yaklaşık yarısı bu enzim tarafından metabolize edilmektedir. CYP3A4 enziminin ekspresyonu kalın ve ince barsakta, prostatta, memede ve en fazla karaciğerde bulunmaktadır. İnsan karaciğerinde ve ince barsakta en çok bulunan CYP enzimidir. İnsan karaciğer mikrozomlarında gerçekleşen terapötik ilaçların, yağ asitleri, steroidlerin, ksenobiyotiklerin metabolizmasında önemli bir role sahiptir. Karaciğerde ve diğer dokulardaki CYP3A4 seviyeleri çeşitli ilaçlar, pestisidler ve karsinogenler ile artabilir veya mutasyonlar ile azalabilmektedir (140). CYP3A4 geni, yedinci kromozomun uzun kolu üzerinde yer almaktadır (7q21.3-q22.1). On üç eksona sahip ve 27.592 baz çiftinden (bç) oluşmaktadır. 57.29 kDa ağırlığında olup endoplazmik retikulum membranına bağlı olarak bulunur. CYP3A4 için 16 çeşit alel saptanmıştır. Çeşitliliklerin çoğu polimorfizm olarak karakterize edilmiştir (140). Özellikle CYP3A4*4, *5, *6, *18, *1B alellerinin ilaç metabolizmasında bireylerde P450'nin aktivitesini azalttığı ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır (141,142). Son yıllarda özellikle ince barsakta CYP3A4 ile birlikte çalışan ve membranlar arası bir dışa atılım pompası olan p-gp önem kazanmıştır. Bir çok ilacın ilk geçiş metabolizmasına uğramasına ve atılımına sebep olmaktadır. CYP3A ve p-gp'nin inhibisyonu veya indüksiyonu bunların substratı olan ilaçların doğrudan olarak ilk geçiş metabolizmasını ve biyoyararlanımını etkilemektedir (143).

CYP3A5; CYP3A5 enzimi, kolonda, böbreklerde, akciğerde, özafagusta, hipofiz bezinde ve yaklaşık olarak % 20 kadar karaciğerde bulunur ve endoplazmik retikulum membranı, mikrozom membranında yer almaktadır. Terapötik ilaçların, yağ asitleri, steroidlerin, ksenobiyotiklerin metabolizmasında önemli bir role sahiptir. Polimorfik özellik gösteren bir enzimdir (139). Yedinci kromozomun uzun kolu üzerinde yer almaktadır (7q21.1) ve 31.809 bç'den oluşmaktadır. CYP3A5 enzimi

57.109 kDa büyüklüğündedir. CYP3A5 enzimi çok polimorfiktir. Etnik gruplar arası çeşitlilik göstermektedir. Klinik önemi ortaya konmuş 5 farklı alel saptanmıştır. CYP3A5*1 aleli yabancı tip olarak adlandırılır. Homozigot yabancı tip bireyler normal bir metabolizer fenotipe sahiptirler. CYP3A5 için 2 mutant alel saptanmıştır. Bu mutant aleller; CYP3A5*3 ve CYP3A5*6 olarak isimlendirilir. Bu aleller enzim aktivitesinin kaybolmasına neden olmaktadır. CYP3A5*6 aleli toplumlarda az görülen bir mutant aleldir. CYP3A5*3 ve CYP3A5*6 aleline sahip bireyler ilaç toksisitesi açısından riskli olabilirler. CYP3A5 polimorfimleri CYP3A4 polimorfizmlerinden daha büyük öneme sahiptir (136). CYP3A5 enziminin aktivitesi ve ekspresyonundaki çeşitlilik CYP3A aracılı metabolizmada bireyler arası çeşitliliğe katkıda bulunmaktadır (136).

CYP2C; P450'nin yaklaşık % 20'sini oluşturarak insan karaciğerinde en çok bulunan ikinci CYP enzimidir. Bu alt aile insan karaciğerinde bulunan beş genden oluşur. Bunlar; CYP2C8, CYP2C9, CYP2C17, CYP2C18 ve CYP2C19'dur. Bunlardan kromozom yerleşimi 10q24.1 olan CYP2C9 ve CYP2C19 polimorfik olarak tanımlanmışlardır. CYP2C19 enziminin geni 1473 baz çifti uzunluğunda dokuz ekzon içerir ve 490 amino asitten meydana gelen bir proteini kodlar. CYP2C18'in karaciğerde izoenzimi bulunmamaktadır. Bu alt ailelerin tüm üyelerinin polimorfik yapıları ile ilaç metabolizması çeşitli popülasyonlarda araştırılmaktadır. CYP2C19, klinikte sıklıkla reçelenmekte olan diazepam, mephenytoin, proton pompa inhibitörleri [(PPI) (lansoprazolon), omeprazole, pantoprazole)], fenitoin, barbitüratlar gibi bir çok ilacın metabolizmasından sorumludur. Ayrıca karsinogenlerin detoksifikasyonu ya da inaktivasyonunda da rol oynamaktadır. CYP2C19'un normal aktiviteli aleli CYP2C19*1'dir. CYP2C19'un genotipleri hızlı metabolizer (Rapid metabolizer-RM), orta metabolizer (Intermediate metabolizer-IM) ve zayıf metabolizer (Poor metabolizer-PM) olarak sınıflandırılmaktadır. Ondan fazla aleli tanımlanmıştır. CYP2C19*2 ve *3 bilinen mutant alellerdir. CYP2C19*2, 5.ekzonda 681.baz çiftinde Guanin----Adenin değişmesi ile meydana gelmektedir. Bu mutasyon alellerini taşıyan kişiler enzim aktiviteleri olmadığı için zayıf metabolize edici bireyler olarak tanımlanırlar (144). Yavaş metabolize edici bireylerde ilaçların konsantrasyon-zaman eğrisi altında kalan alanların (AUC) daha yüksek değerlere ulaştığı gösterilmiştir (144). PPI'dan rabeprazole ve lansor gastrik parietal hücrelerde asid salgılanmasını inhibe etmektedir. PPI'lar gastrik ülserli böbrek nakilli hastalarda FK506 ile birlikte kullanılmaktadır. Lansoprazolon çoğunlukla CYP2C19 ve CYP3A4 enzimleri tarafından metabolize

edilmektedir. Genellikle CYP3A4 ve CYP3A5 genlerinin ilgili proteinlerinin benzer katalitik özellikleri vardır. CYP3A5 polimorfizmleri lansoprazolon ve FK506 ilaç etkileşimlerini etkileyebilir. CYP2C19*2 ve *3 mutant alelerini taşıyan böbrek nakilli bireylerde CYP3A4 ve CYP3A5 yoluyla FK506 metabolizmasını inhibe ettiği bildirilmektedir. Bundan dolayı FK506'nın kan düzeyini artmasına sebep olabilmektedir (145).

2.9.2.1.2. Multidrug resistance-çoklu ilaç direnci MDR-1 geni ve ürünü p-gp

İlacın hücreye girişi ve hücreden çıkışı genellikle aktif bir olaydır ve özel ilaç taşıyıcı molekülleri eşlik eder. Taşıyıcılar, ilaçların (ksenobiyotiklerin) ve konjuge ilaçların taşınmasında rol alır;

1. Antijen tanıyarak görev yapan taşıyıcılar (TAP)
2. MDR1(p-gp)
3. MDR (Multidrug resistance)
4. Safra tuzu taşıyıcı pompası (P glikoprotein kardeşi)
5. Multidrug resistance'a eşlik eden protein (MRP)
6. Meme kanser rezistance proteini (BCRP)

MDR-1 ürünü olan p-gp 170 kDa ağırlığında, ATP bağımlı membran taşıyıcı yani dışarı atılım protein ailesinin bir ürünüdür. Günümüze kadar, 40'dan fazla taşıyıcı geni sınıflandırılmıştır. Taşıyıcıları kodlayan genlerdeki mutasyonlar ilaç yanıtında farklılığa yol açmaktadır. Değişik dokuların plazma zarında yer alan taşıyıcı proteinlerin ilaçların farmakokinetiğinde rol oynadığı belirtilmiştir. P-gp; karaciğer, böbrek, incebarsak, bariyerlerde (kan- beyin, kan -testis, kan-ovaryum, kan-plesanta) yerleşmiştir (146). Barsaklarda, böbrekde, hepatik epitel hücre membranlarında yer almasından dolayı ilaçların emilimi, biyoyararlanımı ve atılımında önemlidir. P-gp çok geniş bir madde (anti kanser ilaçları, immünsupresif ilaçlar, antibiyotikler, antihistaminikler) özgülüğüne sahip olduğu için, çeşitli ilaçların atılmasında pompa görevi yapmaktadır. Bu maddeler genelde hidrofobiktir. P-gp ilaç etkisini sağlayan hücrelerdeki ilaç birikimini engeller. P-gp 7. kromozom üzerinde (7q21.1) bulunur ve 29 ekson'dan oluşup 1280 amino asitli fosforilleştirilmiş ve glikosilleştirilmiş bir proteindir. Altı hidrofobik transmembran segmenti ve bir intrasellüler ATP bağlanma alanı içeren iki homolog yarıdan oluşmaktadır. Bu proteinler ATP bağlar ve çeşitli molekülleri hücre dışına atmak için enerji kullanırlar. Proteinler nukleotid bağlama

bölgesi olarak da bilinen, ATP bağladıkları domaine göre sınıflandırılırlar. Nükleotid bağlama bölgelerinin Walker A ve B isimli karakteristik motifleri vardır. B (ABCB;MDR1) grubu ailesinin ilaç direnci ile olan ilişkisi saptanmıştır. İlk defa Juliano ve Ling 1976 yılında antrasiklin, vinka alkaloidlerine dirençli hücrelerde p-glikoproteini tarif etmişlerdir (147, 148). Günümüzde genetik polimorfizmin farmakokinetik üzerine etkisini en iyi karakterize eden taşıyıcı MDR 1'dir. MDR 1'in fonksiyonu; emilme boyutunu, doku yayılımını ve substratların boşaltımını değiştirecektir. MDR 1'deki polimorfizmler ilaç yanıtını büyük ölçüde etkiler. MDR-1 geni oldukça polimorfiktir ve bu genetik çeşitlilik çoğu ilacın bireyler arası farmakokinetik ve farmakodinamiğinde farklılığa yol açmaktadır. Günümüzde MDR-11 geninde 20'den fazla tek nükleotid polimorfizmler tanımlanmıştır. Ekson 26 ve ekson 21'deki SNP'lerin değişken protein ekspresyonu ile ilişkili olabileceği vurgulanmıştır. Homozigot TT alellinin bulunduğu bireylerdeki duodenumdaki p-gp'nin homozigot C alellinin olduğu bireylere oranla azaldığı gözlenmiştir. Ala'dan Ser aminoasit değişimine sebep olan ve sık rastlanan SNP (G2677T/A) yada Thr ikinci geçiren zar alanında bulunur. İlginç bir şekilde, ekson 21 'deki 2677 pozisyonundaki SNP'lerin 2 farklı aminoasit değişimine sebep olabildiği, isimlerinin Ala893Ser ve Ala893Thr olduğu belirtilmiştir. Ancak, ekson 26'daki SNP, kodlanmış aminoasiti değiştirmemesine rağmen değişken protein ekspresyonu ile ilişkili ilk varyanttır. En sık görülen sessiz mutasyon MDR-1 C3435T ve MDR-1 G2677T (Ala893Ser) gen polimorfizmlerinin immüsupresif ilaçların farmakokinetiğini etkileyebileceği vurgulanmıştır. Özellikle ekson 26 (C3435T) ve ekson 21 (G2677T)'deki polimorfizmlerin FK506'nın farmakokinetiği ve fonksiyonu ile ilgili olduğu bildirilmiştir. (147,148).

2.9.2.2. İlaç farmakodinamiğinde genetik faktörlere bağlı değişiklikler

Bir ilaç diğerinin etkisini, onunla etki yerinde ve çevresinde etkileşmek, onunla zıt veya aynı yönde bir etki oluşturmak veya onunla kimyasal olarak birleşmek suretiyle değiştiriyorsa farmakodinamik etkileşimden söz edilir. Bu etkileşimlerde bir ilacın diğerinin etkisini azaltmasına ya da arttırmasına yol açmaktadır. Genetik faktörlere bağlı değişiklikten söz edecek olursak, Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz enzimi X'e bağlı geçiş gösteren ve sık gözlenen bir enzim eksikliğidir. 400'den fazla çeşidi tanımlanmıştır. Bu enzim eksikliği bulunan bireylerde başta anilin, nitrobenzen

ve hidrozin türevi olan ilaçların vücutta oluşan metaboliti oksidan özellik göstermektedir. Bu tür bir çok ilaç akut hemolize neden olmaktadır (129).

2.9.2.3. Enzim indüksiyon ve inhibisyonunda genetik faktörlere bağlı değişiklikler

Bir ilacın diğer bir ilacın metabolizmasını uyararak veya baskılayarak etkileşmesi sonucunda bireyin o ilaca karşı yanıtı değişebilir. Bu da istenmeyen yan etkiler olarak ortaya çıkabilmektedir. Mikrozomal enzimlerin indüklenmesi, bu enzimin substratı olan veya olmayan bir maddenin çeşitli sebeplerle enzimin dokulardaki etki yerindeki miktarını arttırmasıdır. CYP'lerin indüklenmesi ile metabolize ettikleri ilaçların metabolizasyonunun hızlanmasına yol açmaktadır. Enzim inhibisyonunda ise inhibitör etkinliği sonucu etkinliğinin ve metabolizasyonun azalmasına yol açacaktır (149).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇLER

3.1.1.Hasta grubu

Bu tez çalışmasına İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı tarafından takip edilen ve 1998-2011 tarihleri arasında canlı vericiden böbrek nakli olmuş 18-65 yaş aralığında 200 hasta dahil edildi. Bu tez çalışmasına dahil edilen hastalar nakil sonrası siklosporin kullanan ve takrolimus kullanan olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Hastaların retrospektif olarak bir yıllık takiplerinin sonuçları kullanılmıştır. Bu tez çalışmasına katılan gönüllü hastalar çalışmaya başlamadan önce bilgilendirilmiş ve yazılı onayları alınmıştır.

3.1.2.Kontrol grubu

Kontrol grubu olarak hasta grubu ile benzer yaş ve cinsiyette, akut ya da kronik bir hastalığı olmayan, herhangi bir immünsüpresif ilaç kullanmayan 18-65 yaş aralığında 150 sağlıklı birey dahil edildi. Bu tez çalışmasına katılan gönüllü sağlıklı kontroller çalışmaya başlamadan önce bilgilendirilmiş ve yazılı onayları alınmıştır.

Hastaların ve sağlıklı kontrollerin CYP3A4*4, CYP3A5, CYP2C19, MDR-1 genlerine ait analizleri ve hastaların siklosporin ve takrolimus kan düzeyleri İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı. Çalışmaya İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Etik Kurul onayı alındıktan sonra başlandı (20/01/2010 Bilimsel Araştırma Projesi (BAP: Proje no 5647)

3.1.3. Kullanılan cihazlar

PZR Cihazı (Thermocycler)	Perkin Elmer
Elektroforez Tankı	Thermo
Güç Kaynağı	Thermo
UV-Transillüminatör	Vilber Lourmat
Kamera	Vilber Lourmat
Yazıcı	Sony
Monitor	Sony
Santrifüj	Heraus, Nüve
Su Banyosu	Braun
Spektrofotometre	Thermo scientific

Mini Santrifüj	Heraeus
Vortex (karıştırıcı)	Nuve 110
Derin dondurucu (-20°C)	Arçelik
Çeker Ocak	Fagus
Buzdolabı (+4°C)	Arçelik
Tartı	Sartoris
İnkübatör	Heraeus
Mikrodalga fırın	Sinmbo
Distile su cihazı	Millipore
Otoklav	Heraeus
Manyetik karıştırıcı	Ikamag RCT
Steril kabin	Forma scientific
Viva (Biyokimya cihazı)	Dade Behring
MGC 240 (Biyokimya cihazı)	Microgenics
Bilgisayar	LG
Otomatik Pipet (10,100 ve 1000µl'lik)	Ependorf
Otomatik Pipet (10,100µl'lik)	Gilson
Otomatik Pipet Ucu (2, 10,100 ve 1000µl'lik)	Eppendorf
Otomatik Pipet Ucu (2, 10,100 ve 1000µl'lik)	Gilson
3.1.4. Kullanılan sarf malzemeler	
Filtreli tüpler (polipropilen)	Peqlab
Toplama tüpleri (polipropilen)	Peqlab
Etilen diamin tetraasetik asit (EDTA)'lı hemogram tüpü	
0,5 mililitrelik (ml) polipropilen santrifüj tüpü	
1,5 ml'lik polipropilen santrifüj tüpü	
2 ml'lik polipropilen santrifüj tüpü	
50 ml'lik polipropilen santrifüj tüpü	
1000 ve 100 ml' lik cam mezur	
3.1.5. Kullanılan kimyasal malzemeler	
EDTA	Multicell
Borik Asit	Multicell
Tris-HCl (Trizma hydrochloride)	Multicell
Etanol (%99.9)	Sasma

Distile su	
Agaroz	Sigma
Ethidium Bromid	Sigma
6x DNA yükleme boyası	Fermantes
PZR Buffer (Magnezyumsuz)	Fermantes
MgCl ₂ (magnezyum klorür)	Fermantas
DNA İzolasyon Kiti	Peqlab
Siklosporin kiti	Siemens/Thermo scientific
Siklosporin standart kalibratör	Siemens/Thermo scientific
Siklosporin standart kontroller	Siemens/Thermo scientific
Takrolimus kiti	Siemens/Thermo scientific
Takrolimus standart kalibratör	Siemens/Thermo scientific
Takrolimus standart kontroller	Siemens/Thermo scientific

Yüksek saflıkta PZR için kalıp DNA hazırlama kitinin içeriği:

1. Proteinaz K (recombinant PCR grade, Liyofilize)..... (40 ml)
(4.5 ml distile su ilave edildikten sonra kullanıldı)
2. Parçalama Çözeltisi (Lysis Buffer).....(60 ml)
(4M üre, 200mM NaCl, 200mM EDTA, pH: 7.4, 25 oC)
3. İnhibitör Uzaklaştırıcı Çözelti (Inhibitor Remal Buffer).....(110 ml)
(5M guanidine-HCl, 20mM Tris-HCl, pH:6.6, 25 oC)
(20 ml etanol ilave edildikten sonra kullanıldı)
4. Yıkama çözeltisi (Wash Buffer).....(60 ml)
(20mM NaCl, 2mM Tris-HCl, pH:7.5)
(40 ml etanol ilave edildikten sonra kullanıldı)
5. Çözdürme Çözeltisi (Elution Buffer).....(100 ml)
(10mM Tris, pH:8.5, 25 oC)

3.1.6. Kullanılan enzimler

Taq DNA Polimeraz Enzimi ve tamponu	Fermantes
Proteinaz K	Peqlab

3.1.7. Kullanılan primerler

CYP3A, CYP2C ve MDR-1 genleri üzerindeki polimorfik bölgelerin çoğaltılması için gerekli primerler ve özellikleri tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1: Primerlerin özellikleri

Primer	Ekson/İntron	Uzunluk (bp)	Tm (°C)	GC (%)	Baz dizisi	Beklenen Bant Boyu (bp)
CYP3A5*3 ileri	intron 3	21	60.5	38.1	CATCAGTTAGTAGACAGATGA	293
CYP3A5*3 geri		21	62.4	42.9	GGTCCAAACAGGGAAGAAATA	
CYP3A5*6 ileri	ekzon 2	22	69	54.5	GTGGGGTGTGACAGCTAAAG	495
CYP3A5*6 geri		23	64.3	39.1	TGGAAGATGATTCAGCAGATAGT	
CYP3A4*4 ileri	ekzon 5	25	69.1	44	CACATTTTCTACAACCATGGAGACC	249
CYP3A4*4 geri		25	70.8	48	TACCTGTCCCCACCAGATTCATTCT	
CYP3A4*6 ileri	ekzon 9	22	67.1	50	GCCATCTCACATGATAGCCAGA	290
CYP3A4*6 geri		22	67.1	50	ACCGCAGACTGACTTTCTAGCA	
CYP2C19*2 ileri	ekzon 5	20	61,3	45	AATTACAACCAGAGCTTGGC	321
CYP2C19*2 geri		22	59.7	31.8	TATCACTTTCCATAAAAGCAAG	
MDR -1 C3435T ileri	ekzon 26	21	49.6	33.3	TTGATGGCAAAGAAATAAAGC	244
MDR -1 C3435T geri		21	52.8	47.6	CTTACATTAGGCAGTGACTION	
MDR -1 G2677T ileri	ekzon 21	20	56.5	55	TGCAGGCTATAGGTTCCAGG	224
MDR -1 G2677T geri		22	54.8	45.5	TTTAGTTTGACTCACCTTCCCG	

3.1.8. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) yönteminde kullanılan enzimler zimleri) ve özellikleri

RFLP yönteminde kullanılan enzimlerin tanıma bölgeleri, uygun kesim sıcaklığı ve diğer özellikleri tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.2: Restriksiyon enzimleri ve özellikleri

Enzim	Konsantrasyonu	Miktar	Tanıma bölgesi	Uygun inkübasyon sıcaklığı	Markası
SspI	10 ü/µl	500 ü	5'..A A T ↓ A T T ..3' 3'..T T A ↑ T A A..5'	37°C / 2 saat	Fermantes
HpyF3I (DdeI)	10 ü/µl	500 ü	5'..C ↓ T N A G ..3' 3'..G A N T ↑ C ..5'	37°C / 3 saat	Fermantes
Mob I	10 ü/µl	1500 ü	5'... ↓ G A T C ..3' 3'... C T A G ↑ ...5'	37°C / 4 saat	Fermantes
BshNI (BanI)	10 ü/µl	2000 ü	5'...G ↓ G Y R C C..3' 3'...C C R Y G ↑ G..5'	37°C / 1 saat	Fermantes
Alw26I (BsmAI)	10 ü/µl	1000 ü	5'..G T C T C (N) 1 ↓ ..3' 3'..C A G A G (N) 5 ↑ ..5'	37°C / 2 saat	Fermantes
HinfI	10 ü/µl	2000 ü	5'...G ↓ A N T C ..3' 3'....C T N A ↑ G...5'	37°C / 2 saat	Fermantes
MspI	10 ü/µl	2000 ü	5'...C ↓ C G G ..3' 3'....G G C ↑ C...5'	37°C / 2 saat	Fermantes

(N = Herhangi bir nükleotid, Y = Herhangi bir nükleotid, R = Herhangi bir nükleotid)

3.1.9. Deoksiribonükleozid trifosfat (dNTP) Seti

Sibenzyme

- dATP (2’deoxyadenosine 5’triphosphate, sodyum tuzu)
- dCTP (2’ deoxycytidine 5’ triphosphate, sodyum tuzu)
- dGTP (2’deoxyguanosine 5’triphosphate, sodyum tuzu)
- dTTP (2’deoxythymidine 5’triphosphate, sodyum tuzu)

3.1.10. Kullanılan tamponlar

3.1.10.1. Elektroforez tamponları

10XTBE (pH.8): 108gr Tris base ve 55gr Borik Asit 700 ml distile su içerisinde çözüldü. 0,5M EDTA eklenip distile su ile 1000 ml’ ye tamamlandı.

0,5M EDTA (pH:8): 18,61gr EDTA 80 ml distile su içerisinde çözüldü ve pH'sı NaOH ile ayarlandı.

Ethidium Bromid: 10µg ethidium bromid'e 1ml distile su eklendi.

3.1.10.2. RFLP yönteminde kullanılan tamponlar

Enzimler	Tamponlar (NEBuffer3)
SspI	(10 mM Tris-HCl (pH:7.5), 100mM KCl, 1 mM DTT, 0,1 mg/ml BSA)
HpyF3I (DdeI)	(10 mM Tris-HCl (pH:7.4), 100mM KCl, 1 mM DTT, 0,1 mg/ml BSA)
Mob I	(10 mM Tris-HCl (pH:7.4), 100mM KCl, 1 mM DTT, 0,1 mg/ml BSA)
BshNI (BanI)	(10 mM Tris-HCl (pH:7.4), 100mM KCl, 1 mM DTT, 0,1 mg/ml BSA)
Alw26I (BsmAI)	(10 mM Tris-HCl (pH:7.4), 100mM KCl, 1 mM DTT, 0,1 mg/ml BSA)
Hinfl	(10 mM Tris-HCl (pH:7.4), 100mM KCl, 1 mM DTT, 0,1 mg/ml BSA)
MspI	(10 mM Tris-HCl (pH:7.4), 100mM KCl, 1 mM DTT, 0,1 mg/ml BSA)

3.1.10.3. Agaroz Jel

2gr agaroz

30µl etidyum bromür

100ml 1XTBE

3.1.10.4. Polimeraz zincir reaksiyon (PZR) karışımı

Taq DNA Polimeraz (rekombinant)(5U/µl)

10X PZR Buffer (100m M Tris-HCl, 500Mm KCl, 25Mm MgCl₂)

dNTP (2m M)

Primerler (100pmol/µl)

50 ng/ml DNA

3.1.11.Elektroforez analizinde kullanılan standartlar

50 bç'lik DNA Ladder Marker (Belirteç) (0,5µg/µl, 50-1000 baz çifti) Fermantes

100 bç'lik DNA Ladder Marker (Belirteç) (0,5µg/µl, 100-1500 baz çifti) Fermantes

3.2. YÖNTEMLER

İstanbul Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı tarafından takip edilen canlı vericiden nakil olmuş, 200 hasta ve 150 sağlıklı kontrolün CYP3A4*4, CYP3A5, CYP2C19, MDR-1 genlerine ait analizleri ve hastaların siklosporin ve takrolimus kan düzeyleri İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı.

3.2.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu

Kandan DNA izolasyonu için Peqlab izolasyon kiti kullanılmıştır. İşlem sonunda yaklaşık 200 µl DNA elde edilmiştir. DNA izolasyon protokolü aşağıdaki basamaklardan oluşmaktadır.

1. EDTA'lı tüplere alınan periferik kandan 250 µl alınıp 2ml kapasiteli eppendorf tüpüne aktarıldıktan sonra bunun üzerine 250 µl PBS, 25 µl Proteinaz K ve 250 µl BL buffer ilave edildi; pipetle karıştırılarak homojen dağılım sağlandı.
2. Karışım 10 saniye karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra tüpler, önceden 70 °C'ye ayarlanan su banyosuna 10 dakika için inkübasyona bırakıldı.
3. İnkübasyon sonunda, karışımın üzerine 260 µl izopropanol eklendi ve pipet ile
4. iyice karıştırıldı.
5. Eppendorf tüpün içinde bulunan örneğin tamamı toplama tüpü içine yerleştirilmiş filtreli tüpün içine pipet ile aktarıldı.
6. 8000 devir/dakikada 1 dakika santrifüj yapıldı.
7. Santrifüj sonrasında filtreli tüp yeni bir toplama tüpüne aktarıldı.
8. Filtreli tüpün üzerine 500 µl inhibitör uzaklaştırıcı çözeltisi eklendi.
9. 8000 devir/dakikada 1 dakika santrifüj edildi.
10. Santrifüj sonrasında filtreli tüp yeni bir toplama tüpüne aktarıldı.
11. Filtreli tüpün üzerine 600 µl yıkama çözeltisi eklendi ve 8000 devir/dakika da bir dakika santrifüj yapıldı.
12. Santrifüj sonrasında filtreli tüp yeni bir toplama tüpüne aktarıldı. Filtreli tüpün üzerine ikinci kez 600 µl yıkama çözeltisi eklendi ve 8000 devir/dakika da bir dakika santrifüj yapıldı. Böylece yıkama işlemi iki defa tekrar edilmiş oldu.
13. Santrifüj bittikten sonra, toplama tüplerinin alt kısmında biriken sıvı uzaklaştırıldı ve 10000 devir/dakikada 2 dakika santrifüj edildi.
14. Filtreli tüpler, temiz birer eppendorf tüpünün içine yerleştirildi ve 70°C'ye ayarlanmış su banyosunda ısıtılmış olan çözdürme çözeltisinden 200 µl ilave

edilerek oda ısısında 2 dakika bekletildi. 5000 devir/dakika da bir dakika santrifüj yapıldı.

15. Santrifüj sonrasında filtreli tüp atıldı. Eppendorf tüpünde geri kalan çözelti saflaştırılmış genomik DNA'dır.
16. Spektrofotometri ile DNA yoğunluğu ölçüldü ve DNA konsantrasyonu 50-100 ng/ml olarak kayıt edildi.
17. Elde edilen DNA'lar PZR'nu gerçekleştirilinceye kadar -20 °C'de saklandı.

3.2.2. PZR

PZR, herhangi bir organizmaya ait genomik DNA'da dizisi bilinen belirli bir bölgenin çoğaltılmasına (amplifikasyon) olanak veren in vitro DNA sentez yöntemidir. PCR, 3 ana basamaktan oluşur.

1. Çoğaltılacak çift iplikli DNA'nın yüksek sıcaklıkta denatürasyonu (denaturation=denatürasyon). Kopyalanma işlemi DNA'nın 94-95°C'ye kadar ısıtılması ile başlar. Bu sıcaklıkta kalıp DNA'nın her iki sarmalı birbirinden ayrılır ve primerlerin her iki sarmal arasına girmesi sağlanır.
2. Sıcaklık aniden düşürülerek çoğaltılacak kalıbın dizilerine tamamlayıcı olarak tasarlanmış primerlerin hedef bölgelerini tanıması ve bağlanması sağlanır (annealing=bağlanma). Kullanılacak bağlanma sıcaklığı primerlerin Tm (erime sıcaklığı) değerinin (çift iplikli nükleik asit moleküllerinde baz çiftlerinin yarısının ortadan kalkmasına yol açan sıcaklık) 3-5 °C altındaki sıcaklık değeridir.
3. Taq DNA polimeraz enziminin en yüksek aktivite gösterdiği 72 °C sıcaklıkta, primerlerden itibaren DNA zincirlerinin (ipliklerinin) sentezlenmesi (extension=uzama).

Bu üç basamağın defalarca tekrarlanması sonrasında her bir döngü sonunda kalıp DNA iki katına çıkar. Dolayısıyla bu basamaklar 30-40 kez tekrarlanırsa (reaksiyonun tekrar veya döngü sayısı) kalıp DNA teorik olarak PZR ile; 10^6 - 10^{12} arasında çoğaltılmış olur. Böylece incelenecek bölgenin milyarlarca kez çoğaltılmasıyla PZR ürününün (amplikon) kolay analiz edilmesi olanaklı hale gelir. Yüksek sıcaklığa dayanıklı DNA polimerazların (Taq polimeraz ve benzerleri) bakterilerden elde edilmesi sayesinde her döngüde reaksiyona tekrar enzim eklenmesi gerekliliği ortadan kalkmış ve tüm basamaklar ısı döngü aygıtları (thermal cyclers) yardımıyla kolaylıkla yapılabilir hale gelmiştir. Yöntemin temeli, çoğaltılmak istenen bölgenin iki ucuna

özgü, bu bölgedeki baz dizilerine tamamlayıcı bir çift sentetik oligonükleotid primer (18-20 baz uzunluğunda) kullanılarak, bu iki primer ile sınırlandırıcı genin enzimatik olarak sentezlenmesine dayanmaktadır.

3.2.2.1.PZR'nin bileşenleri

Kalıp DNA, DNA polimeraz (Taq polimeraz), oligonükleotid primerler, serbest deoksiribonükleozid trifosfatlar (dNTP: dATP, dCTP, dGTP, dTTP)'dir.

3.2.2.2.Primierlerin Hazırlanması

Test edilen polimorfizmlerin tespiti için kullanılan ileri (Forward=F) ve geri (Reverse=R) primerler, liyofilize halde satın alındı. Primerler, saf su ile çözdürüldükten sonra (100pmol/μl), 10pmol/μl'lik stoklar şeklinde hazırlanıp -20°C'de muhafaza edildi.

3.2.2.3. PZR reaksiyon karışımı

CYP3A5*3, CYP3A5*6, CYP3A4*4, CYP3A4*6, CYP2C19*2, MDR-1 C3435T, MDR-1 G2677T gen polimorfizmlerinin tespiti için 50μl reaksiyon hacminde PZR karışımı hazırlandı. Bu polimorfizmlerinin herbiri için PZR karışım koşulları aşağıdaki gibidir.

(Herbir örnek için)

dH₂O (31,35 μl)

10XBuffer (5 μl)

dNTP (5μl)

Mg₂Cl (3μl)

İleri Primer (0,2 μl)

Geri Primer (0,2 μl)

Taq DNA Polimeraz (0,25 μl)

DNA (5 μl)

3.2.2.4. PZR Programları

CYP3A5*3 polimorfizmi;

94⁰C' de 5 dakika

94⁰C' de 45 saniye

58⁰C' de 30 saniye

72⁰C' de 1 dakika

72⁰C' de 5 dakika

} 35 döngü

CYP3A5*6 polimorfizmi;

94 ⁰ C' de	5 dakika	}	35 döngü
94 ⁰ C' de	45 saniye		
61 ⁰ C' de	30 saniye		
72 ⁰ C' de	1 dakika		
72 ⁰ C' de	5 dakika		

CYP3A4*4 polimorfizmi;

94 ⁰ C' de	5 dakika	}	35 döngü
94 ⁰ C' de	45 saniye		
66 ⁰ C' de	30 saniye		
72 ⁰ C' de	30 saniye		
72 ⁰ C' de	5 dakika		

CYP3A4*6 polimorfizmi;

94 ⁰ C' de	5 dakika	}	35 döngü
94 ⁰ C' de	45 saniye		
69 ⁰ C' de	45 saniye		
72 ⁰ C' de	30 saniye		
72 ⁰ C' de	5 dakika		

CYP2C19*2 polimorfizmi;

94 ⁰ C' de	5 dakika	}	35 döngü
94 ⁰ C' de	45 saniye		
60 ⁰ C' de	45 saniye		
72 ⁰ C' de	30 saniye		
72 ⁰ C' de	5 dakika		

MDR-1 C3435T polimorfizmi;

94 ⁰ C' de	5 dakika	}	35 döngü
94 ⁰ C' de	30 saniye		
55 ⁰ C' de	30 saniye		
72 ⁰ C' de	60 saniye		
72 ⁰ C' de	5 dakika		

MDR-1 G2677T polimorfizmi;

94 ⁰ C' de	5 dakika	}	35 döngü
94 ⁰ C' de	30 saniye		
58 ⁰ C' de	30 saniye		
72 ⁰ C' de	45 saniye		
72 ⁰ C' de	5 dakika		

3.2.2.5. Agaroz Jelin Hazırlanması

% 2 konsantrasyonda agaroz jel hazırlamak için 2gr agaroz hassas terazide tartıldı, 100 ml 1XTBE tamponu içinde çözüldü ve mikrodalga fırında kaynatıldı. Jel 60⁰C'ye kadar soğutuldu. İçerisine 5µl ethidium bromür ilave edildi. Tarakları yerleştirilen elektroforez kasetine agaroz döküldü. Jel soğuduktan sonra taraklar çıkarıldı ve elektroforez tankına yerleştirildi.

3.2.2.6. PZR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezinde Görüntülenmesi

PZR ürünlerinin jeldeki kuyucuklara çökmesini sağlamak amacıyla 6X brom fenol mavisi içeren yükleme tamponundan 2µl, PZR ürününden 10µl örnek karıştırılarak jeldeki kuyucuklara yüklendi. Bütün örnekler ve 50 bç'lik DNA ladder belirteç yüklendikten sonra akım tankın elektrodları güç kaynağına takıldı ve 125V, 135mA'de 30 dakika yürütüldü. İşlem sonunda jel UV ışığı altında incelendi.

CYP3A5*3	↔	293 bç
CYP3A5*6	↔	495 bç
CYP3A4*4	↔	249 bç
CYP3A4*6	↔	290 bç
CYP2C19*2	↔	321 bç
MDR-1 C3435T	↔	244 bç
MDR-1 G2677T	↔	224 bç

PZR ürünleri elde edildi.

3.2.3.RFLP

Genom boyunca, özellikle kodlayıcı olmayan bölgelerde, her 200 nükleotidde 1 dizi farklılığı görülür. Bu farklılığı yaratan nükleotid değişiklikleri; tek bir nükleotid çiftinde değişiklik, bir ya da birden fazla nükleotid çiftinin çıkarılması (delesyon) veya araya sokulması (insersiyon) şeklinde olabilmektedir (150). Bu değişiklikler bir restriksiyon enziminin kesim noktasını ortadan kaldırabilir ya da yeni bir kesim noktası yaratabilirler. Restriksiyon enzimleriyle kesim sonucu oluşturulan bu parça

uzunluklarındaki farklılıklar “restriksiyon parça uzunluk polimorfizmleri” (Restriction Fragment Length Polymorphism-RFLP) olarak adlandırılır (151). Restriksiyon enzimleri çift iplikli sarmal DNA’yı çok özgül olarak nükleotid dizilerini tanıyan ve DNA’nın her iki ipliğini de belirli bölgelerden kesen enzimlerdir. Kesim sonucunda küt veya yapışkan uçlu DNA parçaları oluşmaktadır. Günümüzde ticari olarak pazarlanan 500’den fazla restriksiyon enzimi bulunmaktadır ve genellikle bir ünite aktivitesi, 1 µg DNA’yı bir saatte kesebilen enzimlerdir. Bu enzimler DNA bölgelerini 4-8 baz çifti uzunluğunda parçalar halinde keserler.

3.2.3.1. Restriksiyon Enzim Kesimi

PZR ile çoğaltılan gen bölgesindeki polimorfik bölgeye özel restriksiyon enzimleri kullanılarak restriksiyon enzim kesimi yapıldı.

3.2.3.1.1. CYP3A5*3 Polimorfizmi için PZR ürününün SspI enzimi ile kesilmesi

CYP3A5 genin intron 3 (ekson 3B)’de 6986 pozisyonda **6986G / A** (splicing defect) değişimi SspI enzimi için kesim bölgesi oluşturur. SspI restriksiyon enzimi için kesim koşulları:

2,5µl dH₂O

2µl Buffer O

0,5µl SspI restriksiyon enzimi

15µl PZR ürünü

olmak üzere toplam hacim 20µl’dir. Enzim kesimi için 37 °C’de 2 saat inkübe edildi. Enzim kesiminden sonra, 293 bç uzunluğundaki PZR ürününün SspI enzimi ile kesilen bant boyları % 3’lük agaroz jelde tespit edildi.

Nükleotid değişimi olmayan (AA) (CYP3A5*1*1) bireylerde 148 bç, 125 bç, 20 bç’lik bantlar.

Heterozigot (GA) (CYP3A5*1*3) bireylerde ise, 168 bç, 148 bç, 125 bç’lik bantlar.

Her iki alellinde nükleotid değişimi taşıyan (GG) (CYP3A5*3*3) bireylerde 168 bç, 125 bç’lik bantlar oluşturur.

3.2.3.1.2. CYP3A5*6 Polimorfizmi için PZR ürününün DdeI enzimi ile kesilmesi

CYP3A5 genin ekzon 7’de 14690 pozisyonda **14690 G / A** değişimi (splicing defect) DdeI enzimi için kesim bölgesi oluşturur. DdeI restriksiyon enzimi için kesim koşulları:

2,5µl dH₂O

2µl Buffer O

0,5µl DdeI restriksiyon enzimi

15µl PZR

ürünü olmak üzere toplam hacim 20µl'dir. Enzim kesimi için 37 °C'de 3 saat inkübe edildi. Enzim kesiminden sonra, 495 bç uzunluğundaki PZR ürününün enzimi ile kesilen bant boyları % 3'lük agaroz jelde tespit edildi.

Nükleotid değişimi olmayan (GG) (CYP3A5*1*1) bireylerde 230 bç, 137 bç, 103 bç, 25 bç'lik bantlar.

Heterozigot (GA) (CYP3A5*1*6) bireylerde ise, 230 bç, 137 bç, 128 bç, 103 bç'lik bantlar.

Her iki alellinde nükleotid değişimi taşıyan (AA) (CYP3A5*6*6) bireylerde 230 bç, 137 bç, 103 bç'lik bantlar oluşturur.

3.2.3.1.3. CYP3A4*4 Polimorfizmi için PZR ürününün BsmAI enzimi ile kesilmesi

CYP3A4 genin ekzon 5'de 13989 pozisyonda **13989 A / G** değişimi (İle118Val) BsmA I restriksiyon enzimi için kesim bölgesi oluşturmaktadır. BsmAI restriksiyon enzimi için kesim koşulları:

2,5µl dH₂O

2µl Buffer O

0,5µl BsmAI restriksiyon enzimi

15µl PZR

ürünü olmak üzere toplam hacim 20µl'dir. Enzim kesimi için 37 °C'de 4 saat inkübe edildi. Enzim kesiminden sonra, 249 bç uzunluğundaki PZR ürününün enzimi ile kesilen bant boyları % 2'lük agaroz jelde tespit edildi.

Nükleotid değişimi olmayan bireylerde (CYP3A4*1*1) 141 bç, 94 bç, 14 bç'lik bantlar.

Heterozigot bireylerde (CYP3A4*1*4) ise, 141 bç, 94 bç, 47 bç'lik bantlar.

Her iki alellinde nükleotid değişimi taşıyan bireylerde (CYP3A4*4*4) 94 bç, 47 bç'lik bantlar oluşturur.

3.2.3.1.4. CYP3A4*6 Polimorfizmi için PZR ürününün Hinfl enzimi ile kesilmesi

CYP3A4 genin ekzon 9'de 17776 pozisyonda insertion A (stop codon) Hinfl restriksiyon enzimi için kesim bölgesi oluşturmaktadır. Hinfl restriksiyon enzimi için kesim koşulları:

2,5µl dH₂O

2µl Buffer O

0,5µl HinfI restriksiyon enzimi

15µl PZR

ürünü olmak üzere toplam hacim 20µl'dir. Enzim kesimi için 37 °C'de 2 saat inkübe edildi. Enzim kesiminden sonra, 290 bç uzunluğundaki PZR ürününün enzimi ile kesilen bant boyları % 2'lük agaroz jelde tespit edildi.

Nükleotid değişimi olmayan bireylerde (CYP3A4*1*1) 137 bç, 129 bç, 24 bç'lik bantlar.

Heterozigot bireylerde (CYP3A4*1*6) ise, 153 bç, 137 bç 129 bç'lik bantlar.

Her iki alellinde nükleotid değişimi taşıyan bireylerde (CYP3A4*6*6) 153 bç, 137 bç'lik bantlar oluşturur.

3.2.3.1.5. CYP2C19*2 Polimorfizmi için PZR ürününün MspI enzimi ile kesilmesi

CYP2C19 genin ekzon 5'de **689 G / A** (splicing defect) değişimi MspI restriksiyon enzimi için kesim bölgesi oluşturmaktadır. MspI restriksiyon enzimi için kesim koşulları:

2,5µl dH₂O

2µl Buffer O

0,5µl MspI restriksiyon enzimi

15µl PZR

ürünü olmak üzere toplam hacim 20µl'dir. Enzim kesimi için 37 °C'de 2 saat inkübe edildi. Enzim kesiminden sonra, 229 bç uzunluğundaki PZR ürününün enzimi ile kesilen bant boyları % 2.5'lük agaroz jelde tespit edildi.

Nükleotid değişimi olmayan bireylerde (CYP2C19*1*1) 127 bç'lik bant.

Heterozigot bireylerde (CYP2C19*1*2) ise, 229 bç, 127 bç'lik bantlar.

Her iki alellinde nükleotid değişimi taşıyan bireylerde (CYP2C19*2*2) 229 bç'lik bant oluşturur.

3.2.3.1.6. MDR-1 C3435T Polimorfizmi için PZR ürününün MobI enzimi ile kesilmesi

MDR-1 genin ekzon 26'da meydana gelen (sessiz mutasyon) değişimi Mob I restriksiyon enzimi için kesim bölgesi oluşturmaktadır. MobI restriksiyon enzimi için kesim koşulları:

2,5µl dH₂O

2µl Buffer O

0,5µl MobI restriksiyon enzimi

15µl PZR

ürünü olmak üzere toplam hacim 20µl'dir. Enzim kesimi için 37 °C'de 4 saat inkübe edildi. Enzim kesiminden sonra, 207 bç uzunluğundaki PZR ürününün enzimi ile kesilen bant boyları %3'lük agaroz jelde tespit edildi.

Nükleotid değişimi olmayan bireylerde (CC) 145 bç, 62 bç'lik bantlar.

Heterozigot (CT) bireylerde ise, 207 bç, 145, 62 bç'lik bantlar.

Her iki alellinde nükleotid değişimi taşıyan bireylerde (TT) 207 bç'lik bant oluşturur.

3.2.3.1.7. MDR-1 G2677T Polimorfizmi için PZR ürününün BanI enzimi ile kesilmesi

MDR-1 genin ekzon 21 (kodon 893)'de meydana gelen Ala/Ser değişimi Ban I restriksiyon enzimi için kesim bölgesi oluşturmaktadır. BanI restriksiyon enzimi için kesim koşulları:

2,5µl dH₂O

2µl Buffer O

0,5µl BanI restriksiyon enzimi

15µl PZR

ürünü olmak üzere toplam hacim 20µl'dir. Enzim kesimi için 37 °C'de 1 saat inkübe edildi. Enzim kesiminden sonra, 224 bç uzunluğundaki PZR ürününün enzimi ile kesilen bant boyları %2'lük agaroz jelde tespit edildi.

Nükleotid değişimi olmayan bireylerde (GG)198 bç, 26 bç'lik bantlar.

Heterozigot bireylerde (GT) ise, 224 bç 198 bç'lik bantlar.

Her iki alellinde nükleotid değişimi taşıyan bireylerde (TT) 224 bç'lik bantlar oluşturur.

3.2.4. İmmüsupresif ilaçların kan düzeylerinin saptanması

Böbrek naklinden sonra siklosporin kan düzeyi için ilk kan örneğinin alınması ilacın konsantrasyonunun kararlı düzeye ulaşmasından (4-5 yarılanma ömrü) sonra olur. Alınan kan örneği bir sonraki dozdan hemen önce alınan (çukur/trough) zaman dilimidir (152).

3.2.4.1. CsA kan düzeyinin saptanması

Bu tez için alınan hastaların (1998-2011 yılları arası) CsA kan düzeyleri enzimle birleştirilmiş immunoassay teknik (Enzyme Multiple Immunoassay Technique-EMIT) ve klonlanmış enzim donör immunoassay (Cloned Enzyme Donor Immunoassay-CEDIA) yöntemleri ile çalışıldı.

İmmunoassay tekniğinin ilkesi: Analitik olarak ilaç molekülü ve spesifik antikorun yaptığı kompleksin tanınmasına dayalı bir analiz söz konusudur. Bu yöntemde analizi yapılacak maddeye (antijen) karşı geliştirilen spesifik "antikor" ve analizi yapılacak bu maddenin işaretlenmiş şekli kullanılır. Tayini yapılacak moleküllere karşı antikorların elde edilmesi immunoassayin en önemli bölümüdür. Antikor yarışmalı olarak serbest işaretlenmiş ilaç ve analizi yapılacak ilaçla kompleks (bağlı ilaç) oluşturur. Bu karışımda "bağlı işaretlenmiş ilaç" moleküllerinin, "bağlı işaretlenmemiş ilaç" moleküllerine oranı serbest ilacın miktarı ile ters orantılıdır.

3.2.4.1.1. EMIT yöntemi ile saptanması

Testin çalışma prensibi:

Antikor ve enzim işaretli antijenden (konjugat) oluşur. EMIT yönteminde enzim aktivitesinin artması veya azalmasına dayanan iki yöntem vardır. Enzim aktivitesinin azalması enzimin katalitik bölgesinde yapısal değişim nedeniyle konjugata antikor bağlanmasını azaltması nedeniyle oluşur. EMIT’de enzim glukoz 6 fosfat dehidrogenaz (G6PD) olup bu enzimin aktivitesi çalışılan örnekte antikor antijene (ilaç molekülü) bağlandığında, bir sonraki basamakta enzim substratı ile reaksiyon oluşurken, aksine örnekte ilaç yokluğunda enzim işaretli antijen ve reaktifteki antikor reaksiyonu oluşacağından sonraki basamakta substrat varlığında enzimatik reaksiyon oluşmayacaktır. Aktif enzim substratı ile reaksiyonu sonrasında kofaktör NAD’ı NADPH’a indirger. Sonuçta oluşan absorbans 340nm’ de izlenir. Burada serbest kısım sinyalden sorumludur. Bundan dolayı denge fazında serbest enzim bağlı analit miktarı ile direkt olarak ilaç konsantrasyonu arasında oran kurulacaktır (153).

Testin çalışma protokolü:

Son siklosporin dozundan hemen önce olmak üzere EDTA’lı tüpe alınan periferel kan örneği düzeyi belirlemek için kullanılmıştır.

1- Hasta kanlarını çalışmadan önce test yönteminin standart ve doğru bir şekilde çalıştığını görmek için rutin olarak kalibrasyon ve üç düzey kontrol (düşük-orta-yüksek) örnekleri çalışıldı.

2- Kit Viva cihazına yerleştirildi.

3- Kalibrasyon ve kontrol çalışması için kalibratör ve kontrol örnekleri oda sıcaklığında bekletildi ve kullanmadan önce iyice karıştırıldı.

- 4- Santrifüj tüplerine 100 µl herbir kalibratör ve kontrol örneğinden konuldu.
- 5- Bu örneklerin üzerine 300 µl çöktürücü solüsyon ilave edildi ve santrifüj tüplerinin kapakları kapatıldı.
- 6- 10 saniye kadar karıştırıcı ile karıştırıldı.
- 7- 1 dakika oda ısısında inkübe edildi.
- 8- 13.000 devirde 5 dakika santrifüj edildi.
- 9- Santrifüj sonrası elde edilen berrak üst sıvı (süpernatant) uygun örnek kaplarına konularak Viva cihazına yerleştirildi ve sonuç için okuma işlemi başlatıldı.
- 10- Kalibrasyon ve kontrol sonuçları uygun çıkınca hasta örneklerinin çalışılmasına başlandı.
- 11- Hasta örnekleri içinde kalibrasyon ve kontrol örnekleri gibi çalışıldı ve sonuçlar elde edildi.

3.2.4.1.2. CEDIA yöntemi ile saptanması

Testin çalışma prensibi:

Beta galaktozidaz enziminin genetik mühendisliği temelinde üretilen iki ayrı inaktif parçası antijen ve antikor bağlantısı içinde bulunur. Bu antijen antikor reaksiyonu oluştuğunda aktif enzim ile kromojenik galaktozid türevi olan substrat etkileşimi ölçümün sinyalini oluşturur. Enzim parçalarının genetik üretimi esasına dayanır. İlaç veya ilaç metaboliti, enzim verici-ilaç konjugatı ile anti-ilaç antikor bağlanma bölgesi için yarışır; komple, aktif beta-galaktozidaz molekülleri, ortamdaki ilaç veya ilaç metabolitlerinin miktarına orantılı olarak oluşur, aynı zamanda substratın renk oluşturması da örnek içindeki ilaç konsantrasyonu ile orantılıdır. Oluşturulan enzim miktarı, o-nitrofenil-beta-d-galactopiranozid veya klorofenol red-beta-d-galactopiranozid gibi uygun bir enzim substratının hidrolizi ile izlenir. Örnekte serbest ilaç veya ilaç metabolitinin olmaması durumunda, komple tetramerik beta-galaktozidaz enzim formasyonu engellenir ve reaksiyon karışımına substrat eklenmesinden sonra hiç bir renk üretilmez. 570 nm dalga boyunda absorbans okunur (153).

Testin çalışma protokolü:

- 1- Hasta kanlarını çalışmadan önce test yönteminin standart ve doğru bir şekilde çalıştığını görmek için rutin olarak kalibrasyon ve üç düzey kontrol (düşük-orta-yüksek) örnekleri çalışıldı.

- 2- Kit MGC 240 (Microgenics 240) cihazına yerleştirildi.
- 3- Kalibrasyon ve kontrol çalışması için kalibratör ve kontrol örnekleri oda sıcaklığında bekletildi ve kullanmadan önce iyice karıştırıldı.
- 4- Santrifüj tüplerine 100 µl herbir kalibratör ve kontrol örneğinden konuldu.
- 5- Bu örneklerin üzerine 400 µl çöktürücü solüsyon ilave edildi ve santrifüj tüplerinin kapakları kapatıldı.
- 6- 1-2 saniye kadar karıştırıcı ile karıştırıldı.
- 7- Uygun örnek kaplarına konularak MGC 240 cihazına yerleştirildi ve sonuç için okuma işlemi başlatıldı.
- 8- Kalibrasyon ve kontrol sonuçları uygun çıkınca hasta örneklerinin çalışılmasına başlandı.
- 9- Hasta örnekleri içinde kalibrasyon ve kontrol örnekleri gibi çalışıldı ve sonuçlar elde edildi.

3.2.4.2. FK506 kan düzeyinin saptanması

Hastaların (1998-2011 yılları arası) FK506 kan düzeyleri mikropartikül enzim immunoassay (Microparticulate Enzyme Immunoassay-MEIA) ve CEDIA yöntemleri ile çalışıldı.

3.2.4.2.1. MEIA yöntemi ile saptanması

Testin çalışma prensibi:

Polistiren partiküllerin kullanıldığı heterojen immunoassaylerde mikro ölçülerde partiküllerin varlığı mikroenzim immunoassay olarak adlandırılmasına neden olmuştur. İmmunoassaydeki ana reaktif, bağlayıcı molekül olup analit spesifik antikor veya fragmanları şeklindedir. İşaretleme enzim ile yapılır. Enzim aktivitesi tayin edilerek analizi yapılacak maddenin miktarı saptanır. Bağlı ve serbest belirteçlerin ayrışımı sinyal olarak ölçülür. Bu ayrışım sıklıkla manyetik olarak ölçülür. Antikor kaplı anti-FK506 (fare monoklonal) mikroküreler ve reaksiyon için takrolimus-alkalen fosfotaz birleşimi olur. FK506 ve rekabetçi anti-takrolimus bağlamak için antikor-antijen ve antikor-antijen-alkalen fosfotaz kompleksleri oluşur. Matriks bağlanmamış malzemeleri kaldırmak için yıkanır. 4-methylumbelliferyl fosfat, substrat matriks ve floresan ürün MEIA optik ile ölçülür (154).

Testin çalışma protokolü:

Son FK506 dozundan hemen önce olmak üzere EDTA'lı tüpe alınan periferel kan örneği düzeyi belirlemek için kullanılmıştır.

1- Hasta kanlarını çalışmadan önce test yönteminin standart ve doğru bir şekilde çalıştığını görmek için rutin olarak kalibrasyon ve üç düzey kontrol (düşük-orta-yüksek) örnekleri çalışıldı.

2- Kit IMx cihazına yerleştirildi.

3- Kalibrasyon ve kontrol çalışması için kalibratör ve kontrol örnekleri oda sıcaklığında bekletildi ve kullanmadan önce iyice karıştırıldı.

4- Santrifüj tüplerine 150 µl herbir kalibratör ve kontrol örneğinden konuldu.

5- Bu örneklerin üzerine 300 µl çöktürücü solüsyon ilave edildi ve santrifüj tüplerinin kapakları kapatıldı.

6- 10 15 saniye kadar karıştırıcı ile karıştırıldı.

7- 13.000 devirde 4 dakika santrifüj edildi.

8- Santrifüj sonrası elde edilen berrak üst sıvı (süpernatant) uygun örnek kaplarına konularak IMx cihazına yerleştirildi ve sonuç için okuma işlemi başlatıldı.

9- Kalibrasyon ve kontrol sonuçları uygun çıkınca hasta örneklerinin çalışılmasına başlandı.

10- Kalibrasyon ve kontrol sonuçları uygun çıkınca hasta örneklerinin çalışılmasına başlandı. Her hasta çalışmasında ek olarak Mod 1 denilen standart numuneden 2 adet çalışıldı ve sonuçlar elde edildi.

3.2.4.2.2. CEDIA yöntemi ile saptanması

Testin çalışma prensibi:

Çalışma prensibi CsA ile aynıdır. FK506 için kit farklılığı vardır. İlaç veya ilaç metaboliti, enzim verici-ilaç konjugatı ile anti-ilaç antikor bağlanma bölgesi için yarışır; komple, aktif beta-galaktozidaz molekülleri, ortamdaki ilaç veya ilaç metabolitlerinin miktarına orantılı olarak oluşur, aynı zamanda substratın renk oluşturması da örnek içindeki ilaç konsantrasyonu ile orantılıdır. Oluşturulan enzim miktarı, o-nitrofenil-beta-d-galactopiranozid veya klorofenol red-beta-d-galactopiranozid gibi uygun bir enzim

substratının hidrolizi ile izlenir. Örnekte serbest ilaç veya ilaç metabolitinin olmaması durumunda, komple tetramerik beta-galaktozidaz enzim formasyonu engellenir ve reaksiyon karışımına substrat eklenmesinden sonra hiç bir renk üretilmez. 570 nm dalga boyunda absorbans okunur (155).

Testin çalışma protokolü:

- 1- Hasta kanlarını çalışmadan önce test yönteminin standart ve doğru bir şekilde çalıştığını görmek için rutin olarak kalibrasyon ve üç düzey kontrol (düşük-orta-yüksek) örnekleri çalışıldı.
- 2- Kit MGC 240 cihazına yerleştirildi.
- 3- Kalibrasyon ve kontrol çalışması için kalibratör ve kontrol örnekleri oda sıcaklığında bekletildi ve kullanmadan önce iyice karıştırıldı.
- 4- Santrifüj tüplerine 200 µl herbir kalibratör ve kontrol örneğinden konuldu.
- 5- Bu örneklerin üzerine 200 µl çöktürücü solüsyon [(1:4)- FK506 solüsyonu:methanol)] ilave edildi ve santrifüj tüplerinin kapakları kapatıldı.
- 6- 10-15 saniye kadar karıştırıcı ile karıştırıldı.
- 7- 1 dakika oda ısısında inkübe edildi.
- 8- 13.000 devirde 5 dakika santrifüj edildi.
- 9- Santrifüj sonrası elde edilen berrak üst sıvı (süpernatant) uygun örnek kaplarına konularak MGC 240 cihazına yerleştirildi ve sonuç için okuma işlemi başlatıldı.
- 10- Kalibrasyon ve kontrol sonuçları uygun çıkınca hasta örneklerinin çalışılmasına başlandı.
- 11- Hasta örnekleri içinde kalibrasyon ve kontrol örnekleri gibi çalışıldı ve sonuçlar elde edildi.

3.2.5. İstatistiksel yöntemler

Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri Statistic Packet of Social Science (SPSS 15.0) yazılım programı kullanılarak yapılmıştır.

- 1- Tanımlayıcı analizler, descriptive fonksiyonu ile yapılmıştır.

- 2- Kontrol ve hastaların temel demografik verilerini değerlendirmek için bioallelik sisteme dayalı Chi Square (ki-kare- χ^2) gibi tanımlayıcı istatistik metodları kullanılmıştır.
- 3- Kategorik verilerin karşılaştırılması ki-kare ve gerekli durumlarda fischer exact testi kullanılarak yapıldı. Sonuçlar yüzde değerler şeklinde ifade edilmiştir. Genotip grupları için beklenen genotip sıklıkları hardy –Weinberg yasasına göre yapıldı. CYP3A5*3, CYP3A5*6, CYP3A4*4, CYP3A4*6, MDR-1 C3435T, MDR-1 G2677T, CYP2C19*2 genotip dağılımları, yüzdeleri ve odds oranları (Odds ratio-OR) (%95 Confidence Interval- CI) hesaplandı. Değerlendirmede $p < 0.05$ olan veriler anlamlı olarak kabul edilmiştir.
- 4- Her bir ilaç grubundaki hastaların kullandıkları dozlar (mg/gün) ve kan düzeyleri (ng/ml) arasında korelasyon olup olmadığı linear regresyon testi ile değerlendirilmiştir.
- 5- Tüm verilerin normal dağılıma uygun olup olmadığı kolmogorov smirnov testi ile tespit edilmiştir. Parametrik verilerin gruplar arası karşılaştırması Student t testi ile yapıldı. Veriler ortalama, standart sapma ve yüzde olarak özetlendi. Anlamlılık seviyesi 0.05 olarak alınmıştır.
- 5- Genotip grubu farkı gözetmeden, tüm hastaların kullandıkları ilaç dozları (mg/gün) arasında fark olup olmadığı Student t testi değerlendirilmiştir.
- 6- Polimorfizmlerin ilaç dozu ve kan düzeyleri ile ilişkisi One way ANOVA ile araştırılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. KONTROL VE HASTA GRUBUNA AİT BULGULAR

4.1.1. KONTROL VE HASTA GRUPLARINA AİT DEMOGRAFİK BİLGİLER

Bu tez çalışmasına, canlı vericiden böbrek nakli yapılmış 200 hasta ile 150 kontrol dahil edildi. Hastalardan 100'ü nakil sonrası CsA kullanan hasta grubunu oluştururken, 100'ü de nakil sonrası FK506 kullanan hasta grubunu oluşturmaktadır. Hastaların yaş ortalaması 34.91 ± 10.91 yıl (yaş aralığı: 18-64; K/E: 70/130)'dır. Kontrollerin yaş ortalaması 40.18 ± 12.15 yıl (yaş aralığı: 19-65; K/E: 89/61)'dir. Hastaların ve kontrollerin yaş ve cinsiyetlerine ait bilgiler tablo 4.1'de görülmektedir.

Tablo 4.1: Kontrol ve hastaların yaş ve cinsiyetleri

	Toplam hasta (n:200)	CsA grubu (n:100)	FK506 grubu (n:100)	Kontrol grubu (n:150)
<u>Yaş</u>	34.91 ± 10.91 (18-64)	34.35 ± 10.23 (18-60)	35.47 ± 11.58 (19-64)	40.18 ± 12.15 (19-65)
Kadın	33.27 ± 9.90 (19-55)	34.82 ± 10.35 (21-54)	33.66 ± 10.06 (19-55)	39.80 ± 11.81 (19-65)
Erkek	35.79 ± 11.36 (18-64)	32.06 ± 9.59 (18-60)	37.51 ± 12.89 (19-64)	40.47 ± 12.72 (20-65)
		$p > 0.05$		
<u>Cinsiyet</u>				
Kadın	70 (%35)	17 (%17)	53 (%53)	61 (%40.6)
Erkek	130 (% 65)	83 (%83)	47 (%47)	89 (%59.4)
		$p = 0.001$		

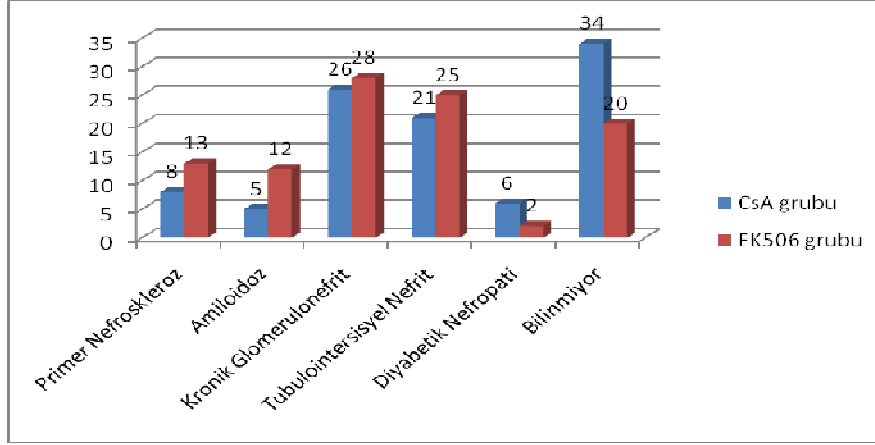
Hastalarda etyolojiye bakıldığında en sık görülen KBY nedeninin kronik glomerulonefrit olduğu görülmüştür (%27.0). Diyabetik nefropati ve bilinmeyen

sebeplerin dağılımı CsA grubunda daha yüksek bir dağılım göstermiştir (p=0.006, p=0.034). Hastaların diyaliz tedavileri, ortalama diyaliz süreleri, primer tanıları, kan grupları, boy, kilo ve hastanede kalma sürelerine ait bilgiler tablo 4.2’de görülmektedir.

Tablo 4.2: Hastalara ait demografik özellikler

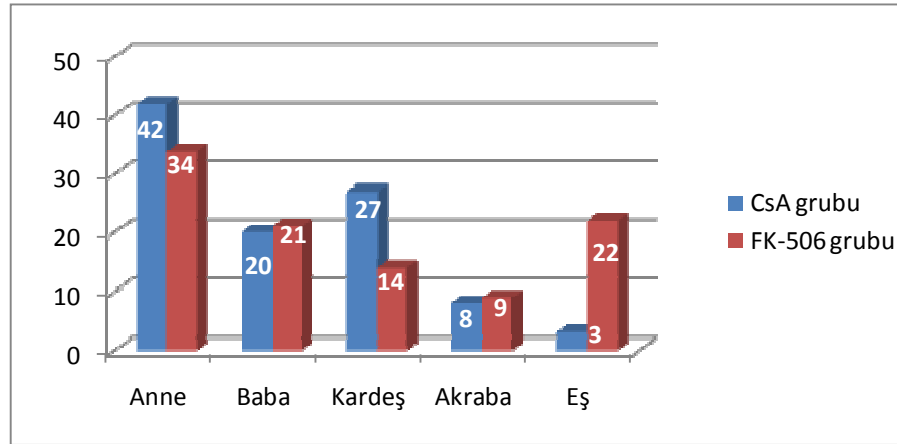
	Toplam hasta (n:200) (%)	CsA grubu (n:100) (%)	FK506 grubu (n:100) (%)	p
<u>Diyaliz tedavisi</u>				
Preemptif (%)	13 (% 6.5)	9 (% 4.5)	4 (% 2.0)	>0.05
HD (%)	159 (% 79.5)	74 (% 37.5)	85 (%42.5)	>0.05
SAPD (%)	21 (% 10.5)	11 (% 5.5)	10 (% 5.0)	>0.05
SAPD ve HD (%)	7 (% 3.5)	4 (% 3.0)	3 (% 0.5)	>0.05
Diyaliz süresi (ay)	22.57±21.49 (1-123)	24.75±22.19 (1-123)	20.39±20.64 (1-120)	>0.05
<u>Primer Hastalık Tanısı</u>				
Primer nefroskleroz (%)	21 (% 10.5)	8 (% 4.0)	13 (% 6.5)	>0.05
Amiloidoz (%)	17 (% 8.5)	5 (% 2.5)	12 (% 6.0)	>0.05
Kronik Glomerulonefrit (%)	54 (% 27.0)	26 (% 13.0)	28 (% 14.0)	>0.05
Tubulointersiyel Nefrit (%)	46 (% 23.0)	21 (% 10.5)	25 (% 12.5)	>0.05
Diabetik Nefropati (%)	8 (% 4.0)	6 (% 3.0)	2 (% 1.0)	0.006
Bilinmiyor (%)	54 (% 27.0)	34 (% 17.0)	20 (% 10.0)	0.034
<u>Kan Grubu</u>				
A	106 (% 53.0)	56 (% 28.0)	50 (% 25.0)	>0.05
B	19 (% 9.5)	10 (% 5.0)	9 (% 4.5)	
AB	10 (% 5.0)	4 (% 2.0)	6 (% 3.0)	
O	65 (% 32.5)	30 (% 15.0)	35 (% 17.5)	
Kilo (kg)	61.69±11.37	62.82±11.34	60.57±11.33	>0.05
Boy (m)	167.85±9.08	169.93±8.67	167.76±9.04	>0.05
Hastanede kalma süresi (ay)	16.82±10.38 (5-90)	16.63±10.51 (5-90)	17.00±10.31 (6-56)	>0.05

Hastaların SDBY nedenlerinin dağılımına bakıldığında her iki ilaç grubunda da kronik glomerulonefrit, tubulointersiyel nefrit ve bilinmeyen sebepler başta yer almaktadır (şekil 4.1).



Şekil 4.1: Hastaların SDBY nedenlerinin iki ilaç grubunda dağılımları

Hastaların tümü canlı vericiden nakil olmuştur. Toplam 200 hastadan 76 (% 38.0) hasta anneden nakil olmuştur. CsA kullanan grupta % 42.0'si annesinden nakil olurken FK506 kullanan grupta ise % 34.0'ü annesinden nakil olmuştur ($p=0.003$). Toplam 200 hastadan % 12.5'i eşinden nakil olmuştur. CsA kullanan grupta % 3.0'ü eşinden nakil olurken FK506 kullanan grupta ise % 22.0'si eşinden nakil olmuştur ($p=0.0001$). Şekil 4.2'de hastaların vericilerinin yakınlığı gösterilmiştir.



Şekil 4.2: İki ilaç grubu arasında hasta ve vericilerin yakınlık ilişkisi

Hastaların ve vericilerinin tümünün nakil öncesi HLA tiplendirilmesi yapılmıştır. Hastaların 153 (% 76.5)'ü HLA uyumu 1A1B1DR ve üstü olan vericilerden, 30 (% 15.0)'u ise HLA uyumu 1A1B/1A1DR/1B1DR/1DR/1A/1B vericilerden nakil olmuştur. Vericisi ile HLA uyumu 2A2B2DR olan 17 (% 8.5) hasta tespit edilmiştir. HLA uyumu 1A1B1DR ve üstü uyumu olan 153 hastadan 83 (% 41.5)'ü CsA kullanan gruba, 70 (% 35.0)'i ise FK506 kullanan gruba dahildir ($p>0.05$).

1A1B/1A1DR/1B1DR/1DR/1A/1B sahip 30 hastadan 7 (% 3.5)'si CsA kullanan gruba, 23 (% 11.5)'ü FK506 kullanan gruba, dahildir ($p=0.06$). 2A2B2DR HLA uyumu olan 17 hastadan 10 (% 5.0)'unu CsA kullanan hastalar, 7 (% 3.5)'sini ise FK506 kullanan hasta grubunu oluşturmaktadır ($p>0.05$) (tablo 4.3).

Tablo 4.3: İki ilaç grubu arasında hasta ve vericinin HLA uyumları ve anti-HLA antikorlarının karşılaştırılması

<u>HLA uyumu</u>	CsA (n:100) (F/M) (17/83)	FK506 (n:100) (F/M) (53/47)	p	Toplam hasta (n:200) (F/M) (70/130)
1A1B/1A1DR/1B1DR/1DR/1A/1B	7 (% 3.5) (1/6)	23 (% 11.5) (8/15)	0.06	30 (% 15.0) (9/21)
1A1B1DR ve üstü uyum	83 (% 41.5) (13/70)	70 (% 35.0) (41/29)	>0.05	153 (% 76.5) (54/99)
2A2B2DR	10 (% 5.0) (3/7)	7 (% 3.5) (4/3)	>0.05	17 (% 8.5) (7/10)

Tez çalışmasında yer alan hastaların tümü ilk kez böbrek nakli olmuştur. 200 hastadan 99 (% 49.5)'u nakil öncesi dönemde kan transfüzyonu, gebelik gibi nedenlerle yabancı HLA antijenlerine maruz kalmıştır. CsA grubunda 40 (% 40.0) hasta kan transfüzyonu, 6 (% 6.0) hasta gebelik nedeniyle, FK506 grubunda 38 (% 38.0) hasta kan transfüzyonu, 15 (% 15.0) hasta da gebelik nedeniyle yabancı HLA antijenlerine maruz kalmıştır. 200 hastadan 11 (% 5.5)'inde anti-HLA antikorları vardır. Bu hastaların 7 (% 3.5)'sinde sınıf I, 4 (% 2.0)'ünde sınıf II anti-HLA antikorları mevcuttur (tablo 4.4). CsA grubunda 3 (% 3.0) hastada anti-HLA antikorları, FK506 grubunda 8 (% 8.0) hastada anti-HLA antikorları vardır (tablo 4.4).

Tablo 4.4: Hasta grubunun sensitizasyon bilgileri

	Kan Transfüzyonu		Gebelik		PRA Sınıf I		PRA Sınıf II	
	Var	Yok	Var	Yok	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif
CsA grubu	40 (% 40.0)	60 (% 60.0)	6 (% 6.0)	94 (% 94.0)	2 (% 2.0)	98 (% 98.0)	1 (% 1.0)	99 (% 99.0)
FK506 grubu	38 (% 38.0)	62 (% 62.0)	15 (% 15.0)	85 (% 85.0)	5 (% 5.0)	95 (% 95.0)	3 (% 3.0)	97 (% 97.0)
p	>0.05		>0.05		>0.05		>0.05	

Tez çalışmasına dahil edilen hastalar aldıkları immüsupresif tedavi protokollerine göre değerlendirilmiştir. CsA bazlı tedavi olarak 20 (% 20.0) hastaya CsA+ aza+ steroid, 66 (% 66.0) hastaya CsA+MMF+steroid ve 14 (% 14.0) hastaya CsA+MYF+steroid protokolleri uygulanmıştır. FK506 bazlı tedavi olarak 9 (% 9.0) hastaya FK506+ aza+ steroid, 59 (% 59.0) hastaya FK506+MMF+steroid ve 32 (% 32.0) hastaya FK506+MYF+steroid protokolleri uygulanmıştır. 200 hastadan 29 (% 14.5)'u Aza+steroid, 125 (% 62.5)'i MMF+steroid ve 46 (% 23.0)'sı ise MYF+steroid

almaktadır. CsA grubunda Aza ve steroid tedavi alan hasta sayısı 20 (% 20.0), FK506 grubunda ise 9 (% 9.0)'dur (tablo 4.5).

Tablo 4.5: Hastaların kullandığı immüsupresif tedavi

İmmüsupresif tedavi	CsA (n:100)	FK506 (n:100)	p	Toplam hasta (n:200)
Aza+Steroid	20 (% 20.0)	9 (% 9.0)	0.03	29 (% 14.5)
Kadın Erkek	8 (% 5.5)	7 (% 4.7)	>0.05	19 (% 9.5)
	12 (% 14.5)	2 (% 4.3)	>0.05	10 (% 5.0)
MMF+Steroid	66 (% 66.0)	59 (% 59.0)	>0.05	125 (% 62.5)
Kadın Erkek	8 (% 21.4)	31 (% 37.5)	>0.05	89 (% 44.5)
	58 (% 44.6)	28 (% 21.5)	0.002	36 (% 18.0)
MYF+Steroid	14 (% 14.0)	32 (% 32.0)	>0.05	46 (% 23.0)
Kadın Erkek	1 (% 5.9)	15 (% 18.9)	>0.05	28 (% 14.0)
	13 (% 8.1)	17 (% 13.1)	0.0001	18 (% 9.0)

Bu tez çalışmasına alınan hastaların bir yıllık verileri retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Toplam 200 hastadan 49 (% 24.5)'u rejeksiyon geçirmiş, 151 (% 75.5)'i rejeksiyon geçirmemiştir. 49 hastadan 24 (% 12.0)'ü CsA kullanan gruba, 25 (% 12.5)'i ise FK506 kullanan gruba ait hastalardır (p>0.05). Rejeksiyon tipine göre sınıflandıracak olursak, 49 hastadan 33 (% 16.5)'ü akut rejeksiyon, 16 (% 8.0)'sı ise kronik rejeksiyon tanılıdır. Rejeksiyon tipine göre değerlendirdiğimizde, CsA kullanan ve rejeksiyonlu 24 hastadan 11 (% 5.5) hasta akut rejeksiyon, 13 (% 6.5) hasta kronik rejeksiyon geçirmiştir. FK506 kullanan grupta ise 25 rejeksiyonlu hastadan 22 (% 11.0) hasta akut rejeksiyon, 3 (% 1.5) hasta kronik rejeksiyon geçirmiştir. İki grup akut rejeksiyon sıklığı açısından karşılaştırıldığında FK506 kullanan grupta daha yüksek akut rejeksiyon oranı görülmüştür (p=0.036). İki grup kronik rejeksiyon sıklığı açısından karşılaştırıldığında CsA kullanan grupta daha yüksek akut rejeksiyon oranı görülmüştür (p=0.016). Akut rejeksiyonlu 33 hastadan CsA kullanan ve yanında aza+steroid tedavisi alan 6 (% 3.0) oranında iken, FK506 kullanan ve aza+steroid tedavisi alan 13 (% 6.5) oranında olduğu görülmüştür. Kronik rejeksiyonlu 16 hastadan CsA kullanan ve yanında aza+steroid tedavisi alan 7 (% 3.5) hasta iken, FK506 kullanan ve aza+steroid tedavisi alan 3 (% 1.5) hasta olduğu görülmüştür. İki ilaç grubuna göre hastaların rejeksiyon bilgileri tablo 4.6'de görülmektedir.

Tablo 4.6: İki ilaç grubu arasında rejeksiyon oranları

	CsA grubu (n:100) (%)		FK506 grubu (n:100) (%)	Toplam hasta (n:200) (%)			p
Rejeksiyonsuz grup	76 (% 38.0)		75 (% 37.5)	151 (% 75.5)			>0.05
Akut rejeksiyon	11 (% 5.5)		22 (% 11.0)	33 (% 16.5)			49 (% 24.5) 0.036
Kronik rejeksiyon	13 (% 6.5)		3 (% 1.5)	16 (% 8.0)			
Toplam hasta	100 (% 50.0)		100 (% 50.0)	200 (% 100.0)			>0.05
	CsA grubu			FK506 grubu			p
	Aza steroid	MMF steroid	MYF steroid	Aza steroid	MMF steroid	MYF steroid	
Akut rejeksiyon	6 (%3.0)	1 (%0.5)	4 (%2.0)	13 (%6.5)	5 (%2.5)	4 (%2.0)	>0.05
Kronik rejeksiyon	7 (%3.5)	1 (% 0.5)	5 (% 2.5)	3 (% 1.5)	0 (%0)	0 (%0)	>0.05

Rejeksiyon geçiren hastalar ve HLA uyumları değerlendirilmiştir. 49 rejeksiyonlu hastadan 2 (% 4.1)'nin 2A2B2DR uyumu, 37 (% 75.5)'nin 1A1B1DR ve üstü uyumu, 10 (% 20.4) hastanın ise 1A1B/1A1DR/1B1DR/1DR/1A/1B uyumu vardır. 49 hastadan 24 (% 48.9)'ü CsA kullanan gruba, 25 (% 51.1)'i FK506 kullanan gruba dahildir. CsA kullanan ve rejeksiyonlu 24 hastadan 2 (% 4.1)'si 2A2B2DR uyumu, 20 (%40.8)'si 1A1B1DR ve üstü, 2 (%4.1)'si 1A1B /1A1DR /1A1DR/1B1DR/1DR/1A/1B uyuma sahiptir. FK506 kullanan ve rejeksiyonlu 25 hastadan 17 (% 34.7)'sinin 1A1B1DR ve üstü uyumu, 8 (%16.3)'nin 1A1B /1A1DR /1A1DR/1B1DR/1DR/1A/1B uyumu vardır (p>0.05, p=0.002, p>0.05). 49 rejeksiyonlu hastanın 33 (% 16.5)'ü akut rejeksiyon, 16 (% 8.0)'sı kronik rejeksiyonludur. 33 akut rejeksiyonlu hastadan 16 (% 48.5) hastanın 1A1B1DR ve üstü uyumu, 6 (% 18.2) hastanın 1A1B1 /1ADR/1B1DR/1DR/1A/1B uyumu vardır. Akut rejeksiyonlu ve CsA kullanan 11 hastadan 1 (% 3.0)'nin HLA uyumu 2A2B2DR, 10 (% 30.3) hastanın ise 1A1B1DR ve üstü uyuma sahiptir. Akut rejeksiyonlu ve FK506 kullanan 22 hastadan 16 (% 48.5)'sı 1A1B1DR ve üstü uyum, 6 (% 18.2)'sı ise 1A1B/1A1DR/1B1DR/1DR/1A/1B uyuma sahiptir (p=0.05, p=0.0001). Kronik rejeksiyon geçiren hastalara bakıldığında, 16 kronik rejeksiyonlu hastadan 1 (% 6.3)'nin 2A2B2DR uyumu, 11 (% 68.8) hastanın 1A1B1DR ve üstü uyumu, 4 (% 25.0) hastanın ise 1A1B/1A1DR/1B1DR/1DR/1A/1B uyumu vardır. Kronik rejeksiyonlu ve CsA kullanan 13 hastadan 1 (% 6.3)'nin HLA uyumu 2A2B2DR, 10 (% 62.5) hasta 1A1B1DR ve üstü uyum, 2 (% 12.5) hastanın da 1A1B/1A1DR/1B1DR/1DR/1A/1B uyumu vardır. FK506 kullanan 3 hastadan 1 (% 6.3)'nin 1A1B1DR ve üstü, 2 (% 12.5)'nin ise 1A1B/1A1DR/1B1DR/1DR/1A/1B

uyumu vardır (tablo 4.7). 151 rejeksiyonsuz hastadan 76 (% 50.3)'sı CsA grubu, 75 (% 49.7)'i FK506 grubuna dahildir. 151 rejeksiyonsuz hastadan 15 (% 9.9)'nin 2A2B2DR uyumu, 116 (% 76.9)'nin 1A1B1DR ve üstü uyumu, 20 (% 13.2) hastanın ise 1A1B/1A1DR/1B1DR/1DR/1A/1B uyumu vardır. Rejeksiyonsuz ve CsA kullanan 76 hastadan 8 (% 5.3)'i 2A2B2DR uyuma, 63 (% 41.7)'ü 1A1B1DR ve üstü uyuma ve 5 (% 3.3) hasta 1A1B/1A1DR/1B1DR/1DR/1A/1B uyuma sahiptir. FK506 kullanan grupta ise 75 hastadan 7 (% 4.6)'sinin 2A2B2DR uyumu, 53 (% 35.1)'ü 1A1B1DR ve üstü uyuma, 15 (% 9.9) hasta da 1A1B/1A1DR/1B1DR/1DR/1A/1B uyuma sahiptir ($p>0.05$, $p>0.05$, $p>0.05$, $p=0.0001$, $p>0.05$) (tablo 4.7).

Tablo 4.7: İki ilaç grubu arasında rejeksiyon oranları ile HLA uyumu

HLA UYUMU				
	2A2B2DR uyum	1A1B1DR ve üstü uyum	1A1B/1A1DR/ 1B1DR/1DR/1A/1B uyum	Toplam
Rejeksiyon (+)	2 (% 1)	37 (% 18.5)	10 (% 5)	49(% 24.5)
CsA	2 (% 1)	20 (%10)	2 (%1)	24 (%12)
FK506	0	17 (% 8.5)	8 (% 4)	25 (% 12.5)
p	-	>0.05	0.002	>0.05
Rejeksiyon (-)	15 (% 7.5)	116 (% 58)	20 (% 10)	151 (% 75.5)
CsA	8 (% 4)	63 (% 31.5)	5 (% 2.5)	76 (% 38)
FK506	7 (% 3.5)	53 (% 26.5)	15 (% 7.5)	75 (% 37.5)
p	>0.05	>0.05	0.0001	>0.05
Toplam	17(% 8.5)	153((%76.5)	30(% 15)	200(% 100)
Rejeksiyon (+)	2(% 1)	37 (% 18.5)	10 (% 5)	49(% 24.5)
Akut rejeksiyon	1 (% 0.5)	26 (% 13)	6 (% 3)	33 (% 16.5)
CsA	1(% 0.5)	10 (% 5)	0	11 (% 5.5)
FK506	0	16 (% 8)	6 (% 3)	22 (% 11)
p	-	0.05	0.0001	0.036
Kronik rejeksiyon	1(% 0.5)	11 (% 5.5)	4 (% 2)	16 (% 8)
CsA	1(% 0.5)	10 (% 5)	2 (% 1)	13 (% 6.5)
FK506	0	1 (% 0.5)	2 (% 1)	3 (% 1.5)
p	>0.05	0.0001	>0.05	0.016
Rejeksiyon (-)	15 (% 7.5)	116 (% 58)	20 (% 10)	151 (% 75.5)
Toplam	17(% 8.5)	153((%76.5)	30(% 15)	200 (% 100)

İki ilaç grubu akut rejeksiyonun tipleri açısından karşılaştırıldığında CsA grubunda hücre aracılı akut rejeksiyon geçiren 1 (% 0.5) hasta bulunurken, FK506

grubunda ise 10 (% 3.5) hasta vardır (p=0.039). İki ilaç grubu arasında akut rejeksiyon geçiren hastaların rejeksiyon tipi ile ilgili bilgiler tablo 4.8’de görülmektedir.

Tablo 4.8: İki ilaç grubu arasında akut rejeksiyon tipi

Akut rejeksiyon (n) (%)	CsA grubu (n) (%)	FK506 grubu (n) (%)	p
33 (% 16.5)	11 (% 5.5)	22 (% 11.0)	0.036
Hücre aracılı akut rejeksiyon	1(% 0.5)	10 (%3.5)	0.039
Antikor aracılı akut rejeksiyon	10 (% 5.0)	12 (%4.5)	>0.05

Rejeksiyon geçirmiş 49 hastanın 6 (% 12.2)’sında nakil öncesi anti-HLA antikorlarının olduğu belirtilmiştir. 43 hastanın (% 87.3) anti-HLA antikorunun olmadığı belirtilmiştir. 49 hastadan akut rejeksiyon geçirmiş 33 hastanın 3 (% 9.9)’nün anti-HLA antikoru vardır. Hücre aracılı akut rejeksiyon geçirmiş ve sınıf I antikora sahip 1 (% 3.3) hasta, antikor aracılı akut rejeksiyon geçirmiş ve sınıf I antikora sahip 1 (% 3.3) hasta ve antikor aracılı akut rejeksiyon geçirmiş ve sınıf II antikora sahip 1 (% 3.3) hasta vardır. Kronik rejeksiyon geçirmiş 16 hastadan 3 (% 18.8)’nün anti-HLA antikoru vardır. 3 hastadan 1(% 6.3)’nin sınıf I ve 2 (% 12.5)’nin sınıf II antikoru mevcuttur (tablo 4.9).

Tablo 4.9: Rejeksiyon tipleri ve anti-HLA antikorları

	Sınıf I	Sınıf II	Toplam	p
Hücre aracılı akut rejeksiyon	1 (% 3.3)	0 (% 0.0)	1 (% 3.3)	>0.05
Antikor aracılı akut rejeksiyon	1 (% 3.3)	1 (% 3.3)	2 (% 6.6)	>0.05
Kronik rejeksiyon	1 (% 6.3)	2 (% 12.5)	3 (% 18.8)	>0.05
Rejeksiyonsuz grup	4 (% 2.6)	1 (% 0.6)	5 (% 3.3)	>0.05

Çalışmaya dahil edilen iki ilaç grubuna ayrılan hastaların aldığı immünespresif tedavi protokollerini üçlü tedaviler ve rejeksiyon tipleri ile ilişkisi sınıflandırıldığında

FK506+MMF+Steroid kullanan grupta CsA+MMF+Steroid kullanan gruba göre akut rejeksiyon sıklığı daha fazladır ($p=0.04$). İki farklı ilaç grubunda kronik rejeksiyon açısından bakıldığında ise FK506+MYF+Steroid’li grupta CsA+MYF+Steroidli gruba göre daha yüksektir ($p=0.03$) (tablo 4.10).

Tablo 4.10: İki ilaç grubunda hastaların kullandığı immüsupresif tedavi protokolleri ve rejeksiyon tipleri arasındaki ilişki

Rejeksiyon tipi	CsA Aza Steroid	FK506 Aza Steroid	p	CsA MMF Steroid	FK506 MMF Steroid	p	CsA MYF Steroid	FK506 MYF Steroid	p
Akut rejeksiyon	1 (% 3.3)	4 (% 12.1)	>0.05	6 (% 18.1)	13 (% 39.3)	0.04	4 (% 12.1)	5 (% 15.1)	>0.05
Hücre aracı akut rejeksiyon	1 (% 3.3)	3 (% 9.8)	>0.05	0 (% 0.0)	4 (% 12.9)	>0.05	0 (% 0.0)	3 (% 9.6)	>0.05
Antikor aracı akut rejeksiyon	0 (% 0.0)	1 (% 2.3)	>0.05	6 (% 18.1)	9 (% 26.4)	>0.05	4 (% 12.1)	2 (% 5.5)	>0.05
Kronik rejeksiyon	7 (% 43.7)	3 (% 18.7)	>0.05	1 (% 6.2)	0 (% 0.0)	>0.05	5 (% 31.4)	0 (% 0.0)	0.03

Rejeksiyonlar ile hastaların sensitizasyon hikayeleri değerlendirilmiştir. 33 akut rejeksiyonlu hastanın 20 (% 60.6)’sinde kan transfüzyonu, 6 hastada (% 18.2) gebelik mevcuttur. 33 hastanın nakil öncesi değerlendirmesinde 4 (% 9.1)’ünde anti-HLA antikoruna belirlenmiştir. 29 (% 87.9) hastada anti-HLA antikoruna belirlenmemiştir. 4 hastanın 1 (% 3.0)’i sınıf I antikoruna sahip ve FK506 grubuna dahildir. 2 (% 6.1)’si ise sınıf II antikoruna sahip olup FK506 grubuna dahildir. 1 (% 3.0) hastada sınıf II antikoruna sahip olup CsA kullanan gruba dahildir (tablo 4.11). 16 kronik rejeksiyonlu hastanın 4 (% 25.1)’ünde kan transfüzyonu, 1 hastada (% 6.3) gebelik mevcuttur. 16 hastanın nakil öncesi değerlendirmesinde 3 (% 18.9)’ünde anti-HLA antikoruna belirlenmiştir. 13 (% 81.3) hastada anti-HLA antikoruna belirlenmemiştir. 3 hastanın 1 (% 6.3)’i sınıf I antikoruna sahip ve CsA grubuna dahildir. 1 (% 6.3)’i ise sınıf II antikoruna sahip olup FK506 grubuna dahildir. 1 (% 6.3) hastada sınıf II antikoruna sahip olup CsA kullanan gruba dahildir (tablo 4.11). Akut rejeksiyon geçiren hastalardan 20 (% 60.6)’i kan transfüzyonu, 6 (%18.2)’si gebeliğe sahipken, kronik rejeksiyon geçiren hastaların 4 (% 25.1) kan transfüzyonu, 1 (%6.3) gebeliğe sahiptir. Akut rejeksiyonlu hastalarda kan transfüzyonu ve gebelik oranları kronik rejeksiyonlu gruptan daha yüksektir ($p=0.002$, $p=0.001$).

Tablo 4.11: İki ilaç grubu arasında rejeksiyonlu hastaların sensitizasyon bilgileri

	CsA grubu	FK506 grubu	CsA grubu	FK506 grubu	p	p
	Akut rejeksiyon (+) (n:33)		Kronik rejeksiyon (+) (n:16)			
Kan transfüzyonları	7 (% 21.2)	13 (% 39.4)	1 (% 6.3)	3 (% 18.8)	>0.05	>0.05
Toplam	20 (%60.6)		4 (% 25.1)		0.002	
Gebelik	2 (% 6.1)	4 (% 12.1)	0 (%0.0)	1 (% 6.3)	>0.05	>0.05
Toplam	6 (%18.2)		1 (%6.3)		0.001	
Anti-HLA antikorları						
Sınıf I	0 (% 0.0)	1 (% 3.0)	1 (% 6.3)	0 (% 0.0)	>0.05	>0.05
Sınıf II	1 (% 3.0)	2 (% 6.1)	1 (% 6.3)	1 (% 6.3)	>0.05	>0.05
Toplam	4 (%9.1)		3 (% 18.9)		>0.05	

Farklı anti-rejeksiyon tedavisi alan hastalar, karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık yoktur ($p>0.05$). CsA grubundan klinik rejeksiyon tanılı 1 hastaya kreatinin yüksekliğinden dolayı pulse steroid tedavisi, klinik rejeksiyon tanılı FK506 kullanan 5 hastadan 4'üne pulse steroid ve 1 hastaya da steroid+IVIG uygulanmıştır. Nakil sonrası akut rejeksiyon geçiren hastaların anti-rejeksiyon tedavileri tablo 4.12'de verilmiştir.

Tablo 4.12: Akut rejeksiyonlu hastaların anti-rejeksiyon tedavileri

	CsA grubu (n:11) (%)	FK506 grubu (n:22) (%)	p
Anti-rejeksiyon tedavisi			
Steroid	6 (% 8.0)	10 (% 5.0)	>0.05
ATG	0 (% 0.0)	2 (% 1.0)	>0.05
Steroid + ATG	1 (% 0.5)	2 (% 1.0)	>0.05
Steroid + IVIG	2 (% 2.5)	5 (% 2.5)	>0.05
Steroid +ATG + IVIG	2 (% 1.0)	3 (% 1.5)	>0.05

Steroid (500 mg/gün, 3 gün üst üste).

Antitimosit globulin (ATG) (2-5 mg/kg/gün).

İntravenöz immunglobulin (IVIG) [0.5 g/kür (ilk üç kür), 0.25 g/kür (4. ve 5. kür) toplam 5 kür].

Akut ve kronik rejeksiyon tanısı konmuş 49 hastadan 36 (% 73.5)'sının rejeksiyon tanısı biyopsi ile kanıtlanmıştır. Diğer 13 (% 26.5) hasta klinik tanılıdır. Akut

rejeksiyon geçiren 33 hastadan 22 (% 66.7)'si, kronik rejeksiyon geçiren 16 hastadan 14 (% 87.5)'ü biyopsi kanıtlıdır. CsA kullanan grupta akut rejeksiyonlu 33 hastadan 10 (% 30.3)'u, FK506 kullanan grupta ise 22 hastanın 17 (% 72.3)'si biyopsi kanıtlıdır. Akut rejeksiyon geçiren ve biyopsi kanıtlı 22 hasta Banff sınıflamasına göre değerlendirildiğinde, 4'ü grade 1a, 10'u grade 2a ve 8'si grade 2b rejeksiyon tanısı almıştır. Kronik rejeksiyon geçiren ve biyopsi kanıtlı 14 hastanın sonuçları ise 4'ü evre 1 ve 10'u evre 4 olarak değerlendirilmiştir.

Tez çalışmasına alınan 200 hastadan ilk bir yıllık takipte graft kaybı olmamıştır. Kaplan Meier testine göre bir yıllık graft sağkalım oranı % 100 ve bir yıllık hasta sağkalım oranı da % 100'dür. FK506 kullanan hasta grubunda nakil sonrası diyabet gelişimi oranı CsA grubuna göre yüksek bulunmuştur (p=0.014). Etyolojisinde diyabetik nefropatili olan hastalar değerlendirmenin dışında tutulmuştur. CsA kullanan grupta hiperlipidemi oluşma ve dış eti hiperplazisi oranı FK506 kullanan gruba göre yüksek bulunmuştur (p=0.029, p=0.001). Çalışmaya dahil edilen hastalarda ilaç değişimi gastrointestinal yan etkilerden dolayı MMF'den Aza'ya olmuştur. CsA kullanan hasta grubunda hiperlipidemi yan etkisi FK506 kullanan gruba göre daha yüksektir (p=0.029). İki ilaç grubunda nakil sonrası gelişen enfeksiyon, titreme, kılınma, neoplazi, dış eti hiperplazisi gibi komplikasyonlar ve tedavi çeşitleri tablo 4.13'de görülmektedir.

Tablo 4.13: İki ilaç grubunda nakil sonrası komplikasyonlar

Parametreler	CsA grubu	FK506 grubu	p
Graft kaybı	0 (% 0.0)	0 (% 0.0)	>0.05
Hasta kaybı	-	-	-
Erken enfeksiyon	20 (% 20.0)	22 (% 22.0)	>0.05
Yara enfeksiyon	1 (% 1.0)	2 (% 2.0)	>0.05
ATN	4 (% 4.0)	8 (% 8.0)	>0.05
Gecikmiş graft fonksiyon	0 (% 0.0)	2 (% 2.0)	>0.05
Toksisite	8 (% 8.0)	11 (% 11.0)	>0.05
Tüülenme	3 (% 3.0)	1 (% 1.0)	>0.05
Titreme	3 (% 3.0)	9 (% 9.0)	>0.05
Dış eti hiperplazisi	9 (% 9.0)	2 (% 2.0)	0.001
Diyabet	3 (% 3.0)	16 (% 16.0)	0.014
Neoplazi	3 (% 3.0)	4 (% 4.0)	>0.05
Hiperlipidemi	35 (% 35.0)	18 (% 18.0)	0.029
MMF'den Aza'ya	5 (% 5.0)	3 (% 3.0)	>0.05

4.1.2. KONTROL VE HASTA GRUPLARININ CYP3A5, CYP3A4, CYP2C19, MDR-1 GEN POLİMORFİZMİNİN GENOTİP VE ALEL SIKLIĞI

Kontrol ve hasta grubunda CYP3A5 gen polimorfizminin genotip ve alel sıklığı değerlendirilmiştir. Kontrol grubunda 94 (% 62.7) bireyde homozigot yabancıl tip CYP3A5*1*1 genotipi, 46 (% 30.7) bireyde heterozigot mutant tip olan CYP3A5*1*3 genotipi, 10 (% 6.6) bireyde ise homozigot mutant CYP3A5*3*3 genotipi saptanmıştır. Hasta grubuna bakıldığında, 102 (% 51.0) hastada homozigot yabancıl tip CYP3A5*1*1 genotipi, 79 (% 39.5) hastada heterozigot mutant tip olan CYP3A5*1*3 genotipi ve 19 (% 9.5) hastada homozigot mutant tip olan CYP3A5*3*3 genotipi saptanmıştır. CYP3A5*1*1 genotip sıklığı kontrol grubunda hasta grubuna göre daha yüksek bulunmuştur (p=0.037). CYP3A5*1*6 ve CYP3A5*6*6 mutant genotipleri ise kontrol ve hasta grubunda saptanmamıştır. CYP3A5 gen polimorfizmine ait alel sıklığı değerlendirildiğinde, kontrol grubunda *1 alelinin oranı 234 (% 78.0) bulunurken, hasta grubunda 283 (% 70.8) olarak bulunmuştur. *3 alelinin oranı ise kontrol grubunda 66 (% 22.0) bulunurken, hasta grubunda 117 (% 29.2) olarak bulunmuştur. *6 aleli kontrol ve hasta grubunda saptanmamıştır (tablo 4.14).

Tablo 4.14: Kontrol ve hasta grubunda CYP3A5 gen polimorfizminin genotip ve alel sıklığı

Genotip	Kontrol (n:150) (%)	Hasta (n:200) (%)	p	OR
CYP3A5*1*1 (yabancıl) (AA)	94 (% 62.7)	102 (% 51.0)	0.037	1.613 (1.047-2.484)
CYP3A5*1*3 (heterozigot) (AG)	46 (% 30.7)	79 (% 39.5)	>0.05	0.677 (0.432-1.061)
CYP3A5*3*3 (mutant) (GG)	10 (% 6.6)	19 (% 9.5)	>0.05	0.680 (0.306-1.510)
CYP3A5*1*6 (heterozigot) (AG)	-	-	-	-
CYP3A5*6*6 (mutant) (AA)	-	-	-	-
Alel	Kontrol (n:300) (%)	Hasta (n:400) (%)	p	OR
*1	234 (% 78.0)	283 (% 70.8)	0.038	1.466 (1.035-2.076)
*3	66 (% 22.0)	117 (% 29.2)		
*6	-	-		

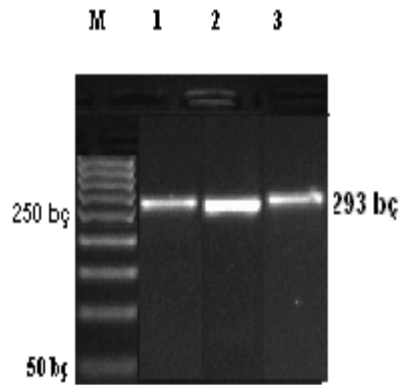
İki farklı ilaç grubunda CYP3A5 genotiplerini karşılaştırılmıştır. CsA kullanan grupta 55 (% 55.0) hastada CYP3A5*1*1, 38 (% 38.0) hastada CYP3A5*1*3 ve 7 (% 7.0) hastada CYP3A5*3*3 saptanmıştır. FK506 kullanan gruba bakıldığında, 47 (% 47.0) hastada CYP3A5*1*1, 41 (% 41.0) hastada CYP3A5*1*3, 12 (% 12.0)

CYP3A5*3*3 bulunmuştur. CYP3A5*1*6 ve CYP3A5*6*6 genotipleri iki hasta grubunda da saptanmamıştır (tablo 4.15).

Tablo 4.15: CsA ve FK506 gruplarının CYP3A5 gen polimorfizminin genotip ve alel sıklığının karşılaştırılması

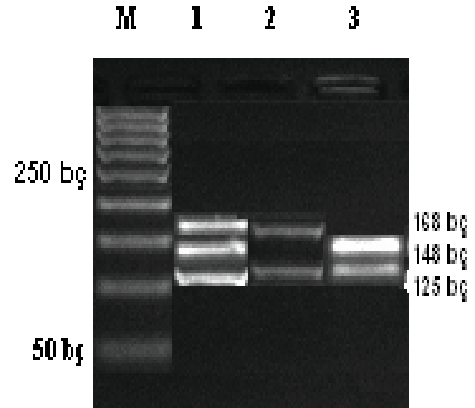
Genotip	CsA (n:100) (%)	FK506 (n:100) (%)	P
CYP3A5*1*1	55 (% 55.0)	47 (% 47.0)	>0.05
CYP3A5*1*3	38 (% 38.0)	41 (% 41.0)	>0.05
CYP3A5*3*3	7 (% 7.0)	12 (% 12.0)	>0.05
CYP3A5*1*6	-	-	-
CYP3A5*6*6	-	-	-
Alel	CsA (n:200) (%)	FK506 (n:200) (%)	P
*1	148 (% 74.0)	135 (% 67.5)	>0.05
*3	52 (% 26.0)	65 (% 32.5)	
*6	-	-	-

CYP3A5*3 genine ait kesim öncesi PZR ürünü şekil 4.3'de görülmektedir. CYP3A5*1*1, CYP3A5*1*3 ve CYP3A5*3*3 genotipine ait jel elektroforez örnekleri şekil 4.4'de ve CYP3A5*6 genine ait kesim öncesi PZR ürünü şekil 4.5'de görülmektedir.



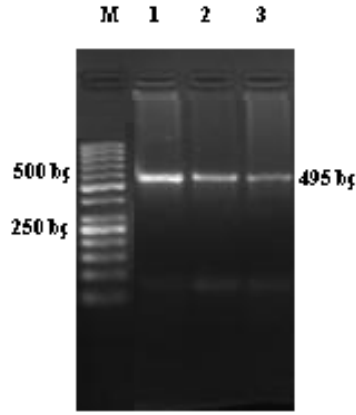
M: Belirteç, 1,2,3: CYP3A5*3 PZR ürünü

Şekil 4.3: CYP3A5*3 PZR ürünü



M: Belirteç, 3: CYP3A5*1*1 genotipi, 1: CYP3A5*1*3 genotipi, 2: CYP3A5*3*3

Şekil 4.4: CYP3A5*3 genotipi analizi



M: Belirteç, 1,2,3: CYP3A5*6 PZR ürünü

Şekil 4.5: CYP3A5*6 PZR ürünü

Kontrol ve hasta grubunda CYP3A4 gen polimorfizminin genotip ve alel sıklığı değerlendirilmiştir. CYP3A4 gen polimorfizmine ait genotipleri değerlendirdiğimizde, kontrol grubunda 131 (% 87.4) bireyde homozigot yabanıl tip CYP3A4*1*1 genotipi, 15 (% 10.0) bireyde heterozigot mutant tip olan CYP3A4*1*4 genotipi, 2 (% 1.3) bireyde homozigot mutant CYP3A4*4*4 genotipi, 2 (% 1.3) bireyde ise CYP3A4*1*6 genotipi saptanmıştır. Hasta grubuna bakıldığında, 170 (% 85.0) hastada homozigot yabanıl tip CYP3A4*1*1, 20 (% 10.0) hastada heterozigot mutant tip CYP3A4*1*4 ve 4 (% 2.0) hastada homozigot mutant tip CYP3A4*4*4 6 (% 3.0) hastada ise CYP3A4*1*6 genotipi saptanmıştır. Homozigot mutant CYP3A4*6*6 genotipi kontrol ve hastalarda bulunmamıştır (tablo 4.16).

CYP3A4 gen polimorfizminin alel değerlendirmesinde, kontrol grubunda *1 alelinin oranı 279 (% 93.0) bulunurken, hasta grubunda 366 (% 91.5) olarak bulunmuştur. *4 alelinin oranı ise kontrol grubunda 19 (% 6.3) bulunurken, hasta grubunda 28 (% 7.0) olarak bulunmuştur. *6 aleline baktığımızda, kontrol grubunda 2 (% 0.7), hasta grubunda ise 6 (% 1.5) olarak tespit edilmiştir (tablo 4.16).

Tablo 4.16: Hasta ve kontrol grubunda CYP3A4 gen polimorfizminin genotip ve alel sıklığı

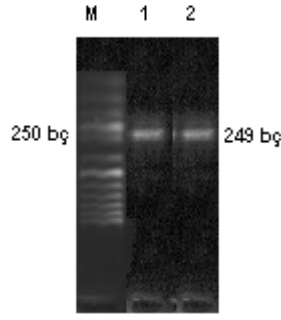
Genotip	Kontrol (n:150) (%)	Toplam hasta (n:200) (%)	p	OR
CYP3A4*1*1 (yabanıl)	131 (% 87.4)	170 (% 85.0)	>0.05	1.217 (0.655-2.258)
CYP3A4*1*4 (heterozigot)	15 (% 10.0)	20 (% 10.0)	>0.05	1.00 (0.493-2.026)
CYP3A4*4*4 (mutant)	2 (% 1.3)	4 (% 2.0)	>0.05	0.662 (0.119-3.665)
CYP3A4*1*6 (heterozigot)	2 (% 1.3)	6 (% 3.0)	>0.05	0.436 (0.086-2.197)
CYP3A4*6*6 (mutant)	-	-		-
Alel				
*1	279 (% 93.0)	366 (% 91.5)	>0.05	1.123 (0.614-2.053)
*4	19 (% 6.3)	28 (% 7.0)	>0.05	2.287 (0.4579-11.421)
*6	2 (% 0.7)	6 (% 1.5)		

İki farklı ilaç grubunda CYP3A4 genotiplerini karşılaştırılmıştır. CsA kullanan grupta 87 (% 87.0) hastada CYP3A4*1*1, 10 (% 10.0) hastada CYP3A4*1*4 ve 1 (% 1.0) hastada CYP3A4*4*4, 2 (% 2.0) hastada CYP3A4*1*6 genotipi saptanmıştır. FK506 grubuna bakıldığında, 83 (% 83.0) hastada CYP3A4*1*1, 10 (% 10.0) hastada CYP3A4*1*4, 3(% 3.0) CYP3A4*4*4, 4 (% 4.0) hastada CYP3A4*1*6 genotipi bulunmuştur. CYP3A4*6*6 genotipi iki hasta grubunda saptanmamıştır (tablo 4.17).

Tablo 4.17: CsA ve FK506 gruplarının CYP3A4 gen polimorfizminin genotip ve alel sıklığı

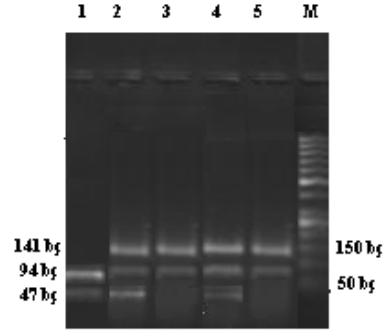
Genotip	CsA (n:100) (%)	FK506 (n:100) (%)	P
CYP3A4*1*1	87 (% 87.0)	83 (% 83.0)	>0.05
CYP3A4*1*4	10 (% 10.0)	10 (% 10.0)	>0.05
CYP3A4*4*4	1 (% 1.0)	3 (% 3.0)	>0.05
CYP3A4*1*6	2 (% 2.0)	4 (% 4.0)	>0.05
CYP3A4*6*6	-	-	-
Alel	CsA (n:200) (%)	FK506 (n:200) (%)	P
*1	186 (% 93.0)	179 (% 90.0)	>0.05
*4	12 (% 6.0)	16 (% 8.0)	>0.05
*6	2 (% 1.0)	4 (% 2.0)	

CYP3A4*4 genine ait kesim öncesi PZR ürünü şekil 4.6'de görülmektedir. CYP3A4*1*1, CYP3A4*1*4 ve CYP3A4*4*4 genotipine ait jel elektroforez örnekleri şekil 4.7'de ve CYP3A4*6 genine ait kesim öncesi PZR ürünü şekil 4.8'de görülmektedir. CYP3A4*1*6 genotipine ait jel örnekleri şekil 4.9'de görülmektedir.



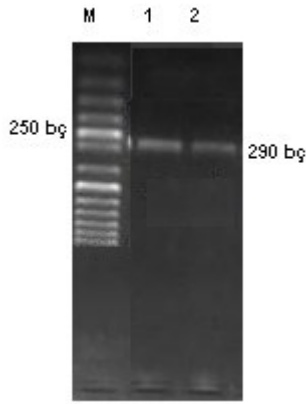
M: Belirteç, 1,2: CYP3A4*4 PZR ürünü

Şekil 4.6: CYP3A4*4 PZR ürünü



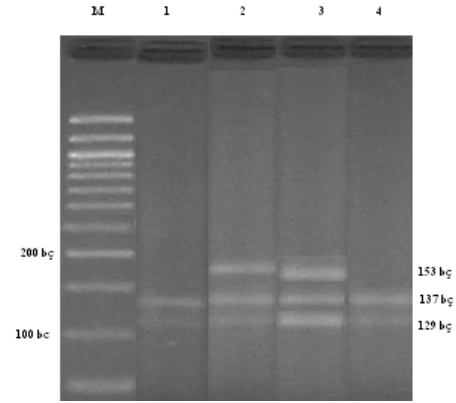
M: Belirteç, 1: CYP3A4*4*4 2,4: CYP3A4*1*4
3,5: CYP3A4*1*1

Şekil 4.7: CYP3A4*4 genotip analizi



M: Belirteç, 1,2: CYP3A4*6 PZR ürünü

Şekil 4.8: CYP3A4*6 PZR ürünü



M: Belirteç, 1,4: CYP3A4*1*1 2,3: CYP3A4*1*6

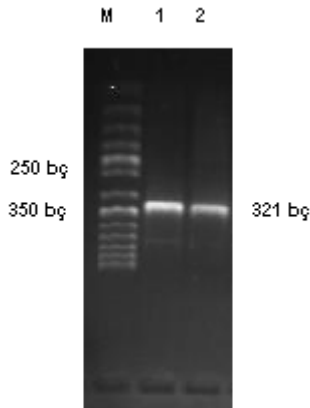
Şekil 4.9: CYP3A4*6 genotip analizi

Kontrol ve hasta grubunda CYP2C19 gen polimorfizmi sıklığı değerlendirilmiştir. Kontrol grubunda 130 (% 86.7) bireyde homozigot yabancı tip CYP2C19*1*1 genotipi, 18 (% 12.0) bireyde heterozigot mutant tip olan CYP2C19*1*2 genotipi, 2 (% 1.3) bireyde ise homozigot mutant CYP2C19*2*2 genotipi saptanmıştır. Hasta grubunda ise 160 (% 80.0) hastada homozigot yabancı tip CYP2C19*1*1 genotipi, 36 (% 18.0) hastada heterozigot mutant tip CYP2C19*1*2 genotipi, 4 (% 2.0) hastada ise homozigot mutant CYP2C19*2*2 genotipi saptanmıştır. Hasta ve kontroller arasında genotip ve aleller açısından bir fark bulunamamıştır (Tablo 4.18). CYP2C19 gen polimorfizminin alel değerlendirmesinde, kontrol grubunda *1 alellinin oranı 278 (% 92.7) bulunurken, hasta grubunda 356 (% 89.0) olarak bulunmuştur. *2 alellinin oranı ise kontrol grubunda 22 (% 7.3) bulunurken, hasta grubunda 44 (% 11.0) olarak bulunmuştur (tablo 4.18).

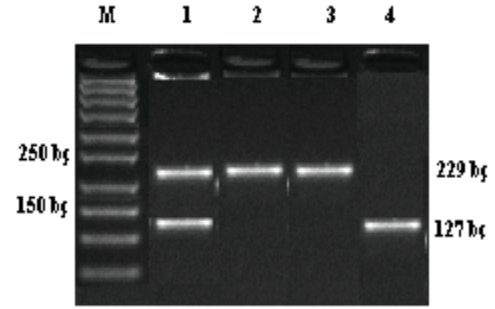
Tablo 4.18: Hasta ve kontrol grubunda CYP2C19 gen polimorfizminin genotip ve alel sıklığı

Genotip	Kontrol (n:150)	Toplam hasta (n:200)	p	OR
CYP2C19*1*1 (yabamı)	130 (% 86.7)	160 (% 80.0)	>0.05	1.500 (1.211-1.858)
CYP2C19*1*2 (heterozigot)	18 (% 12.0)	36 (% 18.0)	>0.05	0.750 (0.550-1.010)
CYP2C19*2*2 (mutant)	2 (% 1.3)	4 (% 2.0)	>0.05	0.500 (0.287-0.870)
Alel	Kontrol (n:300) (%)	Toplam hasta (n:400) (%)	p	OR
*1	278 (% 92.7)	356 (% 89.0)	>0.05	1.562 (0.914-2.668)
*2	22 (% 7.3)	44 (% 11.0)		

CYP2C19*2 genine ait kesim öncesi PZR ürünü şekil 4.10’de görülmektedir. CYP2C19*2 genine ait genotipler şekil 4.11’de görülmektedir.



M: Belirteç, 1,2: CYP2C19*2 PZR ürünü



M: Belirteç, 1: CYP2C19*1*2 2,3:CYP2C19*2*2
4: CYP2C19*1*1

Şekil 4.10: CYP2C19*2 PZR ürünü

Şekil 4.11: CYP2C19*2 genotip analizi

Kontrol grubu ile FK506 kullanan grup arasında CYP2C19 gen polimorfizmi karşılaştırılmıştır. Kontrol grubunda 130 (% 86.7) CYP2C19*1*1 genotipi, 18 (% 12.0) bireyde CYP2C19*1*2, ve 2 (% 2.0) bireyde CYP2C19*2*2 genotipi tespit edilmiştir. Hasta grubunda ise 77 (% 77.0) hastada CYP2C19*1*1 genotipi, 21 (% 21.0) hastada CYP2C19*1*2, ve 2 (% 2.0) hastada CYP2C19*2*2 genotipi saptanmıştır. Kontrol

grubu ve FK506 kullanan grup arasında genotip ve aleller açısından bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$) (Tablo 4.19).

Tablo 4.19: Kontrol grubu ve FK506 ilaç grubu arasında CYP2C19 gen polimorfizminin genotip ve alel sıklığı

Genotip	Kontrol (n:150) (%)	FK506 (n:100) (%)	p
CYP2C19*1*1	130 (% 86.7)	77 (% 77.0)	>0.05
CYP2C19*1*2	18 (% 12.0)	21 (% 21.0)	>0.05
CYP2C19*2*2	2 (% 2.0)	2 (% 2.0)	>0.05
Alel	Kontrol (n:300) (%)	FK506 (n:200) (%)	p
*1	278 (% 92.7)	175 (% 87.5)	>0.05
*2	22 (% 7.3)	25 (% 12.5)	

Kontrol ve hastaların MDR-1 gen polimorfizmine ait C3435T ve G2677T polimorfizmleri değerlendirilmiştir. MDR-1 C3435T gen polimorfizmi için kontrol grubunda 55 (% 36.7) bireyde CC normal genotip, 65 (% 43.3) bireyde CT heterozigot genotip, 30 (% 20.0) bireyde TT mutant genotipleri bulunmuştur. Hasta grubunda ise 92 (% 46.0) hastada CC normal, 61 (% 30.5) hastada CT heterozigot ve 47 (% 23.5) hastada TT mutant genotipleri saptanmıştır. MDR-1 G2677T gen polimorfizmi incelendiğinde ise, kontrol grubunda 62 (% 41.3) bireyde GG normal genotip, 48 (% 32.0) bireyde GT heterozigot genotip, 40 (% 26.7) bireyde TT mutant genotipleri bulunmuştur. Hasta grubunda ise 91 (% 45.5) hastada GG normal, 67 (% 33.5) hastada GT heterozigot ve 43 (% 21.5) hastada TT mutant genotipleri saptanmıştır. C3435T polimorfizmine ait C ve T alel oranları değerlendirilmiştir. Kontrol grubunda C alelinin oranı 175 (% 58.3) bulunurken, hasta grubunda 245 (% 61.3) olarak bulunmuştur. T alelinin oranı ise kontrol grubunda 125 (% 41.7) saptanırken, hasta grubunda 155 (% 38.7) olarak bulunmuştur. G2677T polimorfizmine ait G ve T alel oranları değerlendirilmiştir. Kontrol grubunda G alelinin oranı 172 (% 57.3) bulunurken, hasta grubunda 247 (% 61.7) olarak bulunmuştur. T alelinin oranı ise kontrol grubunda 128 (% 42.7) saptanırken, hasta grubunda 153 (% 38.3) olarak bulunmuştur (tablo 4.20).

Tablo 4.20: Kontrol ve hasta grubunda MDR-1 gen polimorfizminin genotip ve alel sıklığı

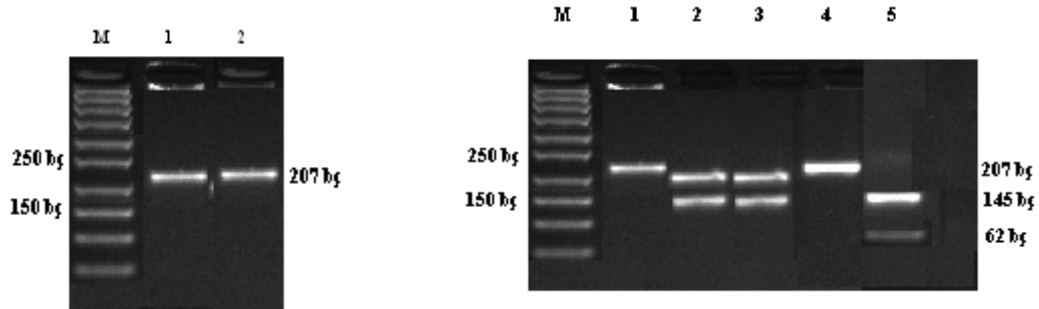
Genotip	Kontrol (n:150)	Toplam hasta (n:200)	p	OR
C3435T (yabani) CC	55 (% 36.7)	92 (% 46.0)	>0.05	1.500 (1.211-1.858)
C3435T (heterozigot) CT	65 (% 43.3)	61 (% 30.5)	>0.05	0.750 (0.550-1.010)
C3435T (mutant) TT	30 (% 20.0)	47 (% 23.5)	>0.05	0.500 (0.287-0.870)
Alel				
*C	175 (% 58.3)	245 (% 61.3)	>0.05	0.885 (0.652-1.202)
*T	125 (% 41.7)	155 (% 38.7)		
Genotip	Kontrol (n:150)	Toplam hasta (n:200)	p	OR
G2677T (yabani) GG	62 (% 41.3)	90 (% 45.5)	>0.05	1.217 (1.133-1.308)
G2677T (heterozigot) GT	48 (% 32.0)	67 (% 33.5)	>0.05	1.211 (1.130-1.297)
G2677T (mutant) TT	40 (% 26.7)	43 (% 21.5)	>0.05	0.667 (0.061-7.284)
Alel				
*G	172 (% 57.3)	247 (% 61.7)	>0.05	0.832 (0.613-1.129)
*T	128 (42.7)	153 (% 38.3)		

İki ilaç grubu arasında MDR-1 gen polimorfizmi değerlendirilmiştir. MDR-1 C3435T gen polimorfizmi için CsA grubunda 48 (%48.0) hastada CC, 28 (% 28.0) hastada CT, 24 (% 24.0) hastada TT genotipleri bulunmuştur. FK506 grubunda ise 44 (% 44.0) hastada CC, 33 (% 33.0) hastada CT ve 23 (% 23.0) hastada TT genotipleri saptanmıştır. MDR-1 G2677T gen polimorfizmi için CsA grubunda 50 (% 50.0) hastada GG, 31 (% 31.0) hastada GT, 19 (% 19.0) hastada TT genotipleri tespit edilmiştir. FK506 kullanan grupta ise 40 (% 40.0) hastada GG, 36 (% 36.0) hastada GT, 24 (% 24.0) hastada TT genotipi bulunmuştur (tablo 4.21).

Tablo 4.21: İki farklı ilaç grubunda MDR-1 C3435T ve MDR-1 G2677T gen polimorfizminin genotip ve alel sıklığı

Genotip	CsA (n:100) (%)	FK506 (n:100) (%)	p
C3435T (CC)	48 (%48.0)	44 (% 44.0)	>0.05
C3435T (CT)	28 (% 28.0)	33 (% 33.0)	>0.05
C3435T (TT)	24 (% 24.0)	23 (% 23.0)	>0.05
Alel	CsA (n:200) (%)	FK506 (n:200) (%)	p
C	124 (% 62.0)	121 (% 60.5)	>0.05
T	76 (%38.0)	79 (% 39.5)	
Genotip	CsA (n:100) (%)	FK506 (n:100) (%)	p
G2677T (GG)	50 (%50.0)	40 (% 40.0)	>0.05
G2677T (GT)	31 (% 31.0)	36 (% 36.0)	>0.05
G2677T (TT)	19 (% 19.0)	24 (% 24.0)	>0.05
Alel	CsA (n:200) (%)	FK506 (n:200) (%)	p
G	131 (% 65.5)	116 (% 58.0)	>0.05
T	69 (34.5)	84 (% 42.0)	

MDR-1 C3435T genine ait kesim öncesi PZR ürünü şekil 4.12'de görülmektedir. MDR-1 C3435T genine ait genotipler şekil 4.13'de görülmektedir.

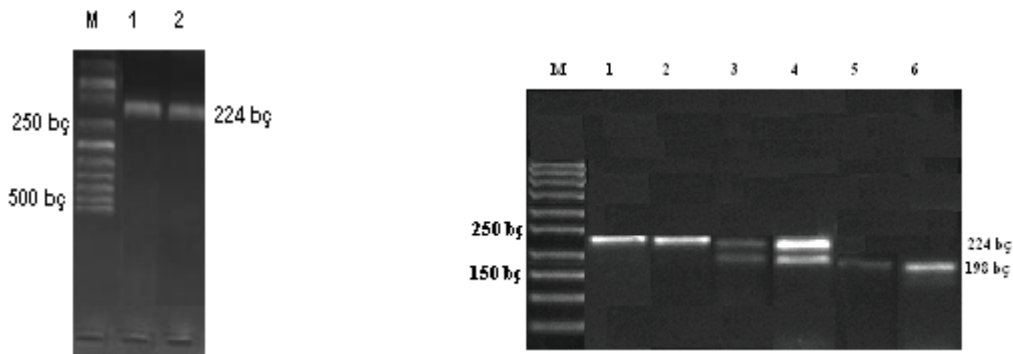


M: Belirteç, 1,2: C3435T PZR ürünü

M: Belirteç, 1,4: TT genotipi 2,3: CT genotipi 5: CC genotipi

Şekil 4.12: MDR-1C3435T PZR ürünü Şekil 4.13: MDR-1 C3435T genotip analizi

MDR-1 G2677T genine ait kesim öncesi PZR ürünü şekil 4.14'de görülmektedir. MDR-1 G2677T genine ait genotipler şekil 4.15'de görülmektedir.



M: Belirteç, 1,2: MDR-1 G2677T PZR ürünü

M: Belirteç, 1,2: TT genotipi 3,4: GT genotipi 5,6: GG genotipi

Şekil 4.14: MDR-1G2677T PZR ürünü Şekil 4.15: MDR-1 G2677T genotip analizi

4.1.3. CYP3A5, CYP3A4, MDR-1 GEN POLİMORFİZMİNİN CsA, FK506 KAN DÜZEYLERİ İLE ARASINDAKİ İLİŞKİ

Tez çalışmasına alınan hastalar 1998-2011 yılları arasında nakil olan hastalardır. Bu zaman dilimi içinde CsA ve FK506 kan düzeyleri iki farklı yöntemle bakılmıştır. Kan düzeylerinin saptanmasında kullanılan yöntemler arası geçişte iki yöntem arası korelasyon yapılmaktadır. İmmünoassay testlerin karşılaştırmalarında korelasyonlar yüksek olup hastalar arası düzeylerde çok belirgin farklar olmamaktadır.

CsA tedavisi alan hastalarda başlangıç dozu olarak 8 mg/kg/gün olarak tedavi uygulanmaktadır. Hastaların aldıkları CsA dozları ve kan düzeyleri arasındaki 3. gün, 15. gün, 1. ay, 3. ay, 6. ay ve 12. aydaki bağlantı linear regresyon ile sırasıyla $r=0.313$, $r=0.394$, $r=0.385$, $r=0.430$, $r=0.087$ ve $r=0.024$ olarak bulunmuştur.

Bu tez çalışmasında CYP3A5 gen polimorfizmi ile CsA kan düzeyleri, CsA dozları, kan düzeyi/doz ile aralarındaki ilişki değerlendirilmiştir. CYP3A5*1*1 genotipli hastaların 3.gün, 15.gün, 1.ay, 6. aydaki CsA kan düzeyleri CYP3A5*1*3 ve CYP3A5*3*3 genotipli hastalardan daha düşük saptanmıştır. CYP3A5*1*1 genotipli hastaların 1.ay ve 6.aydaki CsA kan düzeylerindeki düşüklük istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($p=0.037$, $p=0.009$) (tablo 4.22). Hastaların aldıkları dozları değerlendirdiğimizde ise CYP3A5*1*1, CYP3A5*1*3 ve CYP3A5*3*3 genotiplerine sahip hastalara verilen dozlar arasında bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Nakilden sonra 12 ay içinde verilen dozlar azaltılmış ve buna bağlı olarakta CsA kan düzeylerinde de azalma görülmüştür. CYP3A5*1*1, CYP3A5*1*3 ve CYP3A5*3*3 genotipli hastaların CsA kan düzeyi/doz oranları da değerlendirilmiştir. Bu genotiplere sahip hastaların CsA kan düzeyi/doz oranları arasında bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (tablo 4.22).

Tablo 4.22: CYP3A5 gen polimorfizmi ve CsA kan düzeyleri ile arasındaki ilişki

CsA grubu (n)	CYP3A5*1*1 (55)	CYP3A5*1*3 (38)	CYP3A5*3*3 (7)	p
CsA ng/ml				
<u>3.gün</u>	359.31±107.59	368.08±100.61	370.01±127.29	>0.05
<u>15.gün</u>	304.96±106.37	304.64±100.79	308.82±124.56	>0.05
<u>1.ay</u>	246.18±106.09	258.22±88.44	269.82±128.20	0.037
<u>3.ay</u>	222.16±92.28	223.11±100.08	224.36±95.06	>0.05
<u>6.ay</u>	145.67±61.65	153.81±49.82	195.82±116.30	0.009

Tablo 4.22.devamı: CYP3A5 gen polimorfizmi ve CsA kan düzeyleri ile arasındaki ilişki

<u>12.ay</u>	144.40±70.86	133.50±52.70	133.57±56.21	>0.05
CsA mg/kg/gün				
<u>3.gün</u>	5.11±2.20	5.21±1.45	6.01±1.58	>0.05
<u>15.gün</u>	4.50±2.02	4.37±1.35	4.99±1.29	>0.05
<u>1. ay</u>	4.18±1.93	3.86±1.29	3.96±1.27	>0.05
<u>3.ay</u>	3.63±1.62	3.53±1.13	3.70±1.35	>0.05
<u>6.ay</u>	3.19±1.46	3.37±1.48	3.22±1.35	>0.05
<u>12.ay</u>	3.08±0.97	3.13±1.21	3.50±0.43	>0.05
Kan düzeyi/doz				
<u>3.gün</u>	70.31±40.30	73.20±46.58	63.90±52.14	>0.05
<u>15.gün</u>	67.75±44.23	69.21±40.21	61.88±50.36	>0.05
<u>1. ay</u>	58.89±44.36	66.89±30.54	68.13±55.41	>0.05
<u>3.ay</u>	61.18±30.56	63.20±46.87	60.63±40.61	>0.05
<u>6.ay</u>	45.64±22.21	45.64±19.21	50.81±42.61	>0.05
<u>12.ay</u>	46.88±25.46	42.65±22.68	38.16±25.61	>0.05

FK506 tedavisi alan hastalarda başlangıç dozu olarak 0.15 mg/kg/gün olarak tedavi uygulanmaktadır. Hastaların aldıkları FK506 dozları ve kan düzeyleri arasındaki 3. gün 15. gün, 1. ay, 3. ay, 6. ay ve 12. aylardaki bağlantı regresyon analizi ile sırasıyla $r=0.095$, $r=0.105$, $r=0.220$, $r=0.140$, $r=0.358$ ve $r=0.090$ olarak bulunmuştur.

Bu tez çalışmasında CYP3A5 gen polimorfizmi ile FK506 kan düzeyleri, FK506 dozları, kan düzeyi/doz ile aralarındaki ilişki değerlendirilmiştir.

CYP3A5*3*3 genotipli hastaların 3.gün, 3.ay, 12. aydaki FK506 kan düzeyleri sırasıyla 17.54±7.95 ng/ml, 11.53±4.87 ng/ml, 8.41±2.96 ng/ml olarak bulunmuştur. CYP3A5*1*1 genotipli hastaların 3.gün, 3.ay, 12. aydaki FK506 kan düzeyleri ise sırasıyla 14.22±7.44 ng/ml, 9.08±4.59 ng/ml ve 5.58±3.89 ng/ml olarak bulunmuştur. CYP3A5*3*3 genotipine sahip hastaların 3.gün ve 3.ay ve 12.aydaki FK506 kan düzeyleri CYP3A5*1*1 genotipli hastaların FK506 kan düzeylerinden daha yüksek bulunmuştur ($p=0.039$, $p=0.048$, $p=0.05$) (tablo 4.23).

Hastaların aldıkları FK506 dozları değerlendirildiğinde ise CYP3A5*3*3 genotiplerine sahip hastaların 3.gün, 15.gün, 1.ay, 3.ay, 6.ay, 12.ayda aldıkları dozlar sırasıyla 0.10 ± 0.06 mg/kg/gün, 0.10 ± 0.12 mg/kg/gün, 0.08 ± 0.04 mg/kg/gün, 0.07 ± 0.04 mg/kg/gün, 0.06 ± 0.03 mg/kg/gün ve 0.07 ± 0.04 mg/kg/gün olarak bulunmuştur. CYP3A5*1*1 genotiplerine sahip hastaların 3.gün, 15.gün, 1.ay, 3.ay, 6.ay, 12.ay da aldıkları dozlar ise sırasıyla 0.14 ± 0.07 mg/kg/gün, 0.14 ± 0.12 mg/kg/gün, 0.13 ± 0.12 mg/kg/gün, 0.11 ± 0.12 mg/kg/gün, 0.09 ± 0.08 mg/kg/gün ve 0.10 ± 0.08 mg/kg/gün olarak bulunmuştur. CYP3A5*3*3 genotipli hastaların 3.gün, 1.ay, 3.ay, 12.aydaki FK506 dozları CYP3A5*1*1 genotipli hastaların FK506 dozlarından daha düşük bulunmuştur ($p=0.038$, $p=0.046$, $p=0.002$, $p=0.0001$) (tablo 4.23). CYP3A5*1*1, CYP3A5*1*3 ve CYP3A5*3*3 genotipli hastaların FK506 kan düzeyi/doz oranları değerlendirilmiştir. CYP3A5*3*3 genotipine sahip hastaların 3.gün, 15.gün, 1.ay, 3.ay, 6.ay, 12aydaki FK506 kan düzeyi/doz oranları sırasıyla 160.45 ± 43.61 , 149.40 ± 64.21 , 153.75 ± 46.84 , 164.71 ± 45.31 , 134.83 ± 34.16 ve 120.14 ± 20.18 olarak bulunmuştur. CYP3A5*1*1 genotipine sahip hastaların 3.gün, 15.gün, 1.ay, 3.ay, 6.ay, 12aydaki FK506 kan düzeyi/doz oranları sırasıyla 101.57 ± 45.21 , 129.57 ± 36.84 , 100.23 ± 38.45 , 82.54 ± 26.84 , 95.33 ± 29.56 ve 94.83 ± 29.64 olarak bulunmuştur. CYP3A5*3*3 genotipli hastaların 3.gün, 3.ay, 6.ay ve 12.aydaki FK506 kan düzeyi/doz oranları CYP3A5*1*1 genotipli hastaların FK506 kan düzeyi/doz oranlarından daha yüksek bulunmuştur ($p=0.003$, $p=0.035$, $p=0.0001$, $p=0.04$) (tablo 4.21). CYP3A5*3*3 homozigot mutant genotipini taşıyan hastalarda FK506 kan düzeyi/doz oranlarının daha yüksek olduğu ve bu hastalara verilen dozların daha düşük olduğu gözlenmiştir. CYP3A5*1*1 genotipine sahip hastaların FK506 kan düzeyi/doz oranları ise daha düşük ve bu hastalara verilen dozların ise yüksek olduğu gözlenmiştir. FK506 ilaç toksisitesi gelişen 11 hastadan 4 (% 33.3)'ü CYP3A5*3*3 mutant genotipe sahip, 5 (% 41.6)'si CYP3A5*1*3 ve 2 (% 25.1) hasta CYP3A5*1*1 genotiplerini taşımaktadır. CYP3A5*1*6 genotipine sahip hasta sayısı yetersiz olduğu için değerlendirilememiştir (tablo 4.23).

Tablo 4.23: CYP3A5 gen polimorfizminin FK506 kan düzeyleri ile arasındaki ilişki

FK506 grubu (n)	CYP3A5*1/*1 (47)	CYP3A5*1/*3 (41)	CYP3A5*3/*3 (12)	p
FK506 ng/ml				
<u>3.gün</u>	14.22±7.44	14.65±6.35	17.54±7.95	0.039
<u>15.gün</u>	15.48±5.74	15.33±5.84	15.94±5.52	>0.05
<u>1. ay</u>	13.03±5.28	13.35±4.39	12.30±3.98	>0.05
<u>3.ay</u>	9.08±4.59	10.16±4.42	11.53±4.87	0.048
<u>6.ay</u>	8.58±4.17	9.32±4.00	8.09±2.85	>0.05
<u>12.ay</u>	5.58±3.89	7.74±2.61	8.41±2.96	0.05
FK506 mg/kg/gün				
<u>3.gün</u>	0.14±0.07	0.13±0.07	0.10±0.06	0.038
<u>15.gün</u>	0.14±0.12	0.11±0.06	0.10±0.12	0.038
<u>1. ay</u>	0.13±0.12	0.10±0.06	0.08±0.04	0.046
<u>3.ay</u>	0.11±0.12	0.08±0.05	0.07±0.04	0.002
<u>6.ay</u>	0.09±0.08	0.08±0.04	0.06±0.03	>0.05
<u>12.ay</u>	0.10±0.08	0.06±0.04	0.07±0.04	0.0001
Kan düzeyi/doz				
<u>3.gün</u>	101.57±45.21	112.69±45.89	160.45±43.61	0.003
<u>15.gün</u>	129.57±36.84	139.36±46.54	149.40±64.21	>0.05
<u>1. ay</u>	100.23±38.45	133.50±36.12	153.75±46.84	0.035
<u>3.ay</u>	82.54±26.84	127.00±38.46	164.71±45.31	0.0001
<u>6.ay</u>	95.33±29.56	116.50±36.34	134.83±34.16	0.04
<u>12.ay</u>	94.83±29.64	129.00±35.32	120.14±20.18	>0.05

Bu tez çalışmasında CYP3A4 gen polimorfizmi ile CsA kan düzeyleri, CsA dozları, kan düzeyi/doz ile aralarındaki ilişki değerlendirilmiştir. CYP3A4*4*4 genotipi sayısı az olduğu için heterozigot mutant tip CYP3A4*1*4 ile birlikte değerlendirilmiştir. CYP3A4*1*6 genotipi sayısı da az olduğu ve CYP3A4*6*6 genotipi olmadığı için değerlendirilmemiştir. CYP3A4*1*4/CYP3A4*4*4 genotipli hastaların 3.gün, 15.gün, CsA kan düzeyleri CYP3A4*1*1 genotipli hastalardan daha

yüksek saptanmıştır ($p=0.0001$, $p=0.001$). Hastaların aldıkları dozlar değerlendirildiğinde ise CYP3A4*1*1, CYP3A4*1*4 ve CYP3A4*4*4 genotiplerine sahip hastalara verilen dozlar arasında bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). CYP3A4*1*1, CYP3A4*1*4 ve CYP3A4*4*4 genotipli hastaların CsA kan düzeyi/doz oranları da değerlendirilmiştir. Bu genotiplere sahip hastaların CsA kan düzeyi/doz oranları arasında bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (tablo 4.24).

Tablo 4.24: CYP3A4 genotipleri ve CsA kan düzeyleri arasındaki ilişki

CsA grubu (n)	CYP3A4*1*1 (87)	CYP3A4*1*4 /CYP3A4*4*4 (11)	p
CsA ng/ml			
<u>3.gün</u>	362.54±108.79	404.80±90.35	0.0001
<u>15.gün</u>	307.82±107.01	347.40±119.30	0.001
<u>1. ay</u>	252.93±101.06	261.94±114.16	>0.05
<u>3.ay</u>	211.76±90.39	224.59±93.35	>0.05
<u>6.ay</u>	149.94±66.02	158.13±70.54	>0.05
<u>12.ay</u>	141.96±61.41	155.30±42.25	>0.05
CsA mg/kg/gün			
<u>3.gün</u>	5.15±2.00	5.17±2.00	>0.05
<u>15.gün</u>	4.53±1.71	4.56±1.91	>0.05
<u>1. ay</u>	4.12±1.88	4.18±1.71	>0.05
<u>3.ay</u>	3.73±1.79	3.52±1.21	>0.05
<u>6.ay</u>	3.22±1.38	3.41±1.71	>0.05
<u>12.ay</u>	3.08±0.99	3.37±1.16	>0.05
CsA kan düzeyi/doz			
<u>3.gün</u>	70.39±51.23	69.24±26.54	>0.05
<u>15.gün</u>	67.95±42.13	66.49±23.54	>0.05
<u>1. ay</u>	61.39±12.45	62.66±23.45	>0.05
<u>3.ay</u>	56.77±23.45	63.80±36.47	>0.05
<u>6.ay</u>	46.56±13.65	46.37±24.57	>0.05
<u>12.ay</u>	46.09±12.54	46.08±12.54	>0.05

Bu tez çalışmasında CYP3A4 gen polimorfizmi ile FK506 kan düzeyleri, FK506 dozları, FK506 kan düzeyi/doz ile aralarındaki ilişki değerlendirilmiştir.

CYP3A4*4*4 genotipli hastaların 3.gün, 15.gün, 1.ay, 3.ay, 6.ay ve 12. aydaki FK506 kan düzeyleri sırasıyla 18.56±9.12 ng/ml, 15.60±6.27 ng/ml, 14.18±3.85 ng/ml, 11.59±4.79 ng/ml, 10.20±2.46 ng/ml ve 10.92±3.00 ng/ml olarak bulunmuştur. CYP3A4*1*1 genotipli hastaların ise sırasıyla 14.98±6.96 ng/ml, 15.03±5.61 ng/ml, 12.51±4.68 ng/ml, 10.93±4.76 ng/ml, 8.55±3.91 ng/ml ve 8.03±2.64 ng/ml olarak bulunmuştur. CYP3A4*4*4 genotipine sahip hastaların 3.gün, 3.aydaki FK506 kan düzeyleri CYP3A4*1*1, CYP3A4*1*4 ve CYP3A4*1*6 genotipli hastaların kan düzeylerinden daha yüksek bulunmuştur (p=0.025, p=0.042) (tablo 4.25).

CYP3A4*1*1, CYP3A4*1*4, CYP3A4*4*4, CYP3A4*1*6 genotiplere sahip hastalara verilen dozlar değerlendirilmiştir. CYP3A4*1*1, CYP3A4*1*4, CYP3A4*4*4, CYP3A4*1*6 genotipli hastalara verilen FK506 dozlar açısından bir fark bulunmamıştır (p>0.05).

CYP3A4*1*1, CYP3A4*1*4, CYP3A4*4*4, CYP3A4*1*6 genotiplere sahip hastaların FK506 kan düzeyi/doz oranları da değerlendirilmiştir. CYP3A4*1*1 genotipine sahip hastaların 6.ay ve 12.aydaki FK506 kan düzeyi/doz oranları sırasıyla 95.00±44.57 ve 89.22±36.45 olarak bulunmuştur. CYP3A4*1*4 genotipine sahip hastaların 6.ay ve 12.aydaki FK506 kan düzeyi/doz oranları ise sırasıyla 92.88±31.89 ve 91.62±30.00 olarak belirlenmiştir. CYP3A4*1*1 ile CYP3A4*1*4 genotiplerine sahip hastaların FK506 kan düzeyi/doz arasında bir fark saptanmamıştır. CYP3A4*4*4 genotipine sahip hastaların 6.ay ve 12.aydaki FK506 kan düzeyi/doz oranları sırasıyla 145.71±42.15 ve 182.00±66.21 olarak bulunmuştur. CYP3A4*1*6 genotipine sahip hastaların 6.ay ve 12.aydaki FK506 kan düzeyi/doz oranları sırasıyla 146.74±30.21 ve 116.71±21.45 olarak bulunmuştur. 3.ayda ise CYP3A4*4*4 genotipli hastaların FK506 kan düzeyi/doz oranı 165.57±55.13, CYP3A4*1*6 genotipli hastaların FK506 kan düzeyi/doz oranı 140.85±44.69 olarak bulunmuştur. CYP3A4*4*4 ve CYP3A4*1*6 genotipli hastaların FK506 kan düzeyi/doz oranı CYP3A4*1*1 ve CYP3A4*1*4 genotipli hastaların FK506 kan düzeyi/doz oranından daha yüksek saptanmıştır (p=0.04). CYP3A4*1*1, CYP3A4*1*4, CYP3A4*4*4 ve CYP3A4*1*6 genotipleri sahip hastalara verilen dozlar arasında bir fark saptanmamış olmasına rağmen CYP3A4*4*4 ve CYP3A4*1*6 genotipli hastalara verilen dozların CYP3A4*1*1, CYP3A4*1*4 genotipli hastalara verilen dozlardan daha düşük olduğu gözlenmiştir (tablo 4.25).

Tablo 4.25: CYP3A4 gen polimorfizminin FK506 kan düzeyleri ile arasındaki ilişki

FK506 grubu (n)	CYP3A4*1/*1 (83)	CYP3A4*1/*4 (8)	CYP3A4*4/*4 (3)	CYP3A4*1/*6 (4)	p
FK506 ng/ml					
<u>3.gün</u>	14.98±6.96	17.35±7.28	18.56±9.12	16.02±2.94	0.025
<u>15.gün</u>	15.031±5.61	15.29±4.51	15.60±6.27	15.46±8.01	>0.05
<u>1. ay</u>	12.51±4.68	14.38±4.79	14.18±3.85	12.42±2.97	>0.05
<u>3.ay</u>	10.93±4.76	8.10±2.74	11.59±4.79	9.86±3.64	0.042
<u>6.ay</u>	8.55±3.91	8.36±4.44	10.20±2.46	10.27±2.52	>0.05
<u>12.ay</u>	8.03±2.64	7.33±2.59	10.92±3.00	7.47±2.49	>0.05
FK506 mg/kg/gün					
<u>3.gün</u>	0.12±0.06	0.13±0.05	0.14±0.07	0.12±0.06	>0.05
<u>15.gün</u>	0.11±0.09	0.11±0.06	0.13±0.08	0.11±0.08	>0.05
<u>1. ay</u>	0.10±0.09	0.10±0.07	0.09±0.06	0.09±0.07	>0.05
<u>3.ay</u>	0.09±0.08	0.07±0.06	0.07±0.06	0.07±0.05	>0.05
<u>6.ay</u>	0.09±0.06	0.09±0.07	0.07±0.05	0.07±0.02	>0.05
<u>12.ay</u>	0.09±0.05	0.08±0.07	0.06±0.02	0.07±0.02	>0.05
Kan düzeyi/doz					
<u>3.gün</u>	124.83±54.12	133.46±54.12	132.57±21.54	133.50±25.84	>0.05
<u>15.gün</u>	136.63±45.89	139.00±50.12	120.00±34.78	140.54±44.13	>0.05
<u>1. ay</u>	125.10±56.41	143.80±55.32	157.55±48.41	138.00±51.32	>0.05
<u>3.ay</u>	121.44±25.48	115.71±34.51	165.57±55.13	140.85±44.69	0.04
<u>6.ay</u>	95.00±44.57	92.88±31.89	145.71±42.15	146.74±30.21	0.002
<u>12.ay</u>	89.22±36.45	91.62±30.00	182.00±66.21	116.71±21.45	0.0001

4.1.3.1 CYP2C19 VE CYP3A5 GENOTİPLERİNİN BİRLİKTELİĞİ İLE LANSOPRAZOLON KULLANAN VE KULLANMAYAN HASTALARDA FK506 KAN DÜZEYİNİN İLİŞKİSİ

Bu tez çalışmasında CYP2C19 ve CYP3A5 genotiplerinin birlikteliği ile FK506 kan düzeyinin ilişkisi değerlendirilmiştir. Lansoprazolon ilacı kullanan grupta, CYP2C19*1*1 genotipi ve CYP3A5*1*3 genotipini birlikte sahip olan hastaların 3. gündeki FK506 kan düzeyi 17.06±8.36 ng/ml olarak bulunmuştur. CYP2C19*1*1/CYP3A5*1*1 ve CYP2C19*1*1/CYP3A5*3*3 genotiplerine birlikte

sahip olan hastaların 3.gündeki FK506 kan düzeyi ise sırasıyla 15.54±7.26 ng/ml, 15.20±4.64 ng/ml olarak bulunmuştur. CYP2C19*1*1/CYP3A5*1*3 genotipli hastaların FK506 kan düzeyleri CYP2C19*1*1/ CYP3A5*1*1 ve CYP2C19*1*1/CYP3A5*3*3 genotipli hastaların FK506 kan düzeylerinden daha yüksek saptanmıştır (p=0.0001) (tablo 26). CYP2C19*1*2/CYP3A5*3*3 genotiplerine birlikte sahip olan hastaların 1.ay ve 3.aydaki FK506 kan düzeyi sırasıyla 17.30±5.69 ng/ml, 13.20±2.69 ng/ml olarak bulunmuştur. CYP2C19*1*2/CYP3A5*1*3 ve CYP2C19*1*2/CYP3A5*1*1 genotiplerinin 1.ayda FK506 kan düzeyleri ise sırasıyla 14.22±4.37 ng/ml ve 10.55±2.33 ng/ml olarak bulunmuştur. 3. ayda ise 10.67±6.38 ng/ml ve 7.40±1.41 ng/ml olarak saptanmıştır. CYP2C19*1*2/ CYP3A5*3*3 genotipli hastaların FK506 kan düzeyleri CYP2C19*1*2/CYP3A5*1*3 ve CYP2C19*1*1/CYP3A5*1*1 genotipli hastaların FK506 kan düzeylerinden daha yüksek saptanmıştır (p=0.0001,p=0.006) (tablo 26). Lansoprazolon kullanmayan grupta ise bu genotiplerin birlikteliği ile FK506 kan düzeylerini değerlendirdiğimizde 3.gün, 15.gün, 1.ay, 3.ay, 6.ay ve 12.ayda FK506 kan düzeyleri ile, genotipler arasında bir farklılık tespit edilmemiştir (tablo 26).

Tablo 4.26: Lansoprazolon kullanan ve kullanmayan hasta grubunda CYP2C19 ve CYP3A5 genotip gruplarının birlikteliğinin FK506'nın kan düzeyi ile ilişkisi

	CYP2C19*1*1			CYP2C19*1*2			CYP2C19*2*2		
	*1*1	*1*3	*3*3	*1*1	*1*3	*3*3	*1*1	*1*3	*3*3
Lansoprazolon (n) (+)	19	16	2	2	4	2	2	-	-
FK506 ng/ml									
3.gün	15.54±7.26	17.06±8.36	15.20±4.64	15.90±2.69	17.07±8.19	15.00±3.21	11.20±3.64	-	-
	P=0.0001			p>0.05					
15.gün	15.04±5.20	13.45±4.51	13.05±6.99	10.20±3.95	13.22±2.49	12.20±3.21	15.00±4.69	-	-
	p>0.05			p>0.05					
1.ay	12.88±1.85	12.51±5.28	15.65±4.23	10.55±2.33	14.22±4.37	17.30±5.69	13.00±4.56	-	-
	p>0.05			P=0.0001					
3.ay	10.24±4.49	10.05±4.28	9.05±4.73	7.40±1.41	10.67±6.38	13.20±2.69	10.98±5.46	-	-
	p>0.05			P=0.006					
6.ay	8.74±4.24	9.06±3.84	7.65±3.75	12.15±0.49	10.02±10.29	10.30±4.69	9.45±2.69	-	-
	p>0.05			p>0.05					
12.ay	8.75±2.53	9.04±2.18	7.60±2.51	11.10±1.27	8.71±2.49	9.20±2.45	8.30±4.56	-	-
	p>0.05			p>0.05					

Tablo 4.26.devamı: Lansoprazolon kullanan ve kullanmayan hasta grubunda CYP2C19 ve CYP3A5 genotip gruplarının birlikteliğinin FK506'nın kan düzeyi ile ilişkisi

Lansoprazolon (n)	81	84	98	98	96	98	98		
FK506 ng/ml									
3.gün	15.72±7.11	15.44±6.91	15.79±7.15	15.70±7.21	15.64±7.13	15.75±7.16	15.71±7.17	-	-
	p>0.05			p>0.05					
15.gün	15.19±5.77	15.47±5.83	15.09±5.45	15.25±5.67	15.02±5.73	15.13±5.70	15.18±5.69	-	-
	p>0.05			p>0.05					
1.ay	13.33±4.81	12.96±4.39	12.83±4.52	12.94±4.55	12.83±4.54	12.89±4.54	12.84±4.52	-	-
	p>0.05			p>0.05					
3.ay	10.58±4.59	10.63±4.64	10.57±4.58	10.60±4.59	10.53±4.52	10.69±4.55	10.51±4.58	-	-
	p>0.05			p>0.05					
6.ay	8.78±3.68	8.77±3.78	8.84±3.78	8.72±3.75	8.76±3.37	8.85±3.77	8.82±3.79	-	-
	p>0.05			p>0.05					
12.ay	8.16±2.83	8.08±2.88	8.32±2.74	8.11±2.77	8.21±2.84	8.23±2.78	8.30±2.78	-	-
	p>0.05			p>0.05					

MDR-1 gen C3435T ve G2677T polimorfizmi ile CsA kan düzeyleri arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. C3435T polimorfizmine ait TT genotipine sahip hastaların 12.aydaki CsA kan düzeyi 171.50±63.29 ng/ml, CT genotipine sahip hastaların CsA kan düzeyleri 149.33±58.53 ng/ml ve CC genotipini taşıyan hastaların CsA kan düzeyleri ise 135.94±65.41ng/ml olarak saptanmıştır. 12.ayda TT genotipli hastaların CsA kan düzeyleri CT ve CC genotipli hastaların kan düzeyinden daha yüksek bulunmuştur (p=0.02). C3435T polimorfizmine ait TT genotipi olan hastalara verilen doz, CsA kan düzeyi/doz oranlarına bakıldığı zaman CC ve CT genotipli hastaların doz, CsA kan düzeyi/doz oranları ile aralarında bir fark bulunmamıştır (p>0.05). G2677T polimorfizmine ait TT genotipli hastaların 12.aydaki CsA kan düzeyi 164.38±59.64 ng/ml, GT genotipli hastaların CsA kan düzeyi 141.71±62.31 ng/ml ve GG genotipli hastaların CsA kan düzeyi 136.90±67.06 ng/ml olarak bulunmuştur. 12.ayda TT genotipli hastaların CsA kan düzeyi GG ve GT genotipli hastaların CsA kan düzeylerinden daha yüksek bulunmuştur (p=0.048). 12.ayda TT genotipli hastaların CsA kan düzeyi/doz oranı 57.67±40.11 ng/ml, GT genotipli hastaların CsA kan düzeyi/doz oranı 38.93±09.12 ng/ml ve GG genotipli hastaların CsA kan düzeyi/doz oranı ise 35.28±12.32 ng/ml olarak bulunmuştur. TT genotipli hastaların CsA kan düzeyi/doz oranı GT, GG genotipli hastalardan daha yüksek ve TT genotipli hastalar

verilen dozlar ise daha düşük bulunmuştur ($p=0.004$) (tablo 4.27). G2677T genotipleri ile dozlar arasında ilişkiye bakıldığında, 12.ayda TT genotipine sahip hastalara verilen dozlar GT ve GG genotipli hastalara verilen dozlardan daha düşük bulunmuştur ($p=0.048$). nakil sonrası 3.gün, 15.gün, 1.ay, 3.ay, 6.ayda C3435T ve G2677T genotipleri ile CsA kan düzeyleri, verilen dozlar, CsA kan düzeyi/dozlar arasında bir farklılık saptanmamıştır (tablo 4.27).

Tablo 4.27: MDR-1 gen polimorfizminin CsA kan düzeyleri ile arasındaki ilişki

CsA grubu (n)	CC (48)	CT (28)	TT (24)	p	GG (50)	GT (31)	TT (19)	p
CsA ng/ml								
3.gün	374.00±99.89	370.39±104.32	357.21±122.84	>0.05	362.61±114.87	339.22±98.83	360.61±102.25	>0.05
15.gün	303.02±103.77	299.57±103.67	294.71±115.46	>0.05	302.96±111.88	295.07±91.34	302.59±113.85	>0.05
1.ay	250.00±100.85	235.43±106.65	237.08±99.83	>0.05	254.43±99.47	255.18±103.22	241.41±117.04	>0.05
3.ay	232.58±100.30	208.04±89.64	207.54±85.93	>0.05	212.96±80.09	217.37±93.38	245.58±132.61	>0.05
6.ay	168.95±69.42	178.61±87.77	158.04±36.78	>0.05	171.85±65.37	168.07±89.40	157.17±41.32	>0.05
12.ay	135.94±65.41	149.33±58.53	171.50±63.29	0.02	136.90±67.06	141.71±62.31	164.38±59.64	0.048
CsA mg/kg/gün								
3.gün	5.16±1.98	5.24±1.86	4.83±1.96	>0.05	4.93±1.96	5.48±2.01	5.09±1.74	>0.05
15.gün	4.66±1.90	4.52±1.83	4.23±1.67	>0.05	4.50±1.83	4.62±1.73	4.43±1.69	>0.05
1.ay	4.08±1.77	4.08±1.92	4.11±1.69	>0.05	4.08±1.84	4.23±1.74	3.88±1.71	>0.05
3.ay	3.59±1.60	3.83±1.99	3.61±1.15	>0.05	3.69±1.82	3.65±1.38	3.58±1.29	>0.05
6.ay	3.19±1.41	3.48±1.71	3.13±1.09	>0.05	3.27±1.35	3.45±1.85	2.94±0.77	>0.05
12.ay	2.94±0.92	3.18±1.16	3.45±1.14	>0.05	3.88±0.69	3.64±1.34	2.85±0.95	0.05
Kan düzeyi/doz								
3.gün	58.72±45.12	66.27±25.45	69.67±15.64	>0.05	69.45±25.45	65.56±21.21	70.84±39.45	>0.05
15.gün	65.02±25.42	57.70±15.65	57.68±21.45	>0.05	67.32±26.65	63.85±23.65	68.8±29.54	>0.05
1.ay	61.27±23.56	54.31±14.74	57.49±23.25	>0.05	62.36±16.98	60.32±21.54	62.21±27.84	>0.05
3.ay	64.78±23.65	51.32±15.56	47.29±15.56	>0.05	57.71±21.12	59.55±19.54	68.59±34.87	>0.05
6.ay	52.96±12.51	49.95±23.32	50.49±12.31	>0.05	52.55±13.65	48.71±11.21	53.45±35.94	>0.05
12.ay	46.23±13.54	52.26±21.15	49.84±12.54	>0.05	35.28±12.32	38.93±09.12	57.67±40.11	0.004

MDR-1 gen C3435T, G2677T polimorfizmi ile FK506 kan düzeyleri, verilen dozlar, FK506 kan düzeyi/doz oranları arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Nakil sonrası FK506 kullanan hastaların G2677T gen polimorfizmine ait genotiplerin, FK506 doz gereksinimleri, kan düzeyleri ile arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p>0.05$)

(tablo 4.28). C3435T gen polimorfizmine ait genotipler ile bu parametreleri incelediğimizde, CC genotipli hastaların FK506 kan düzeyi/doz oranı 3.gün ve 15.günlerde CT ve TT genotipli hastaların FK506 kan düzeyi/doz oranından daha düşük bulunmuştur. CC genotipli hastaların 3. gündeki FK506 kan düzeyi/doz oranı 118.76 ± 41.21 , CT genotipli hastaların oranı FK506 kan düzeyi/doz oranı 126.83 ± 51.12 , TT genotipli hastaların FK506 kan düzeyi/doz oranı 153.81 ± 35.65 olarak bulunmuştur. 3.günde CC genotipli hastaların FK506 kan düzeyi/doz oranları CT ve TT genotipli hastaların kan düzeyi/doz oranlarında daha düşük bulunmuştur ($p=0.002$). CC genotipli hastaların 15. gündeki FK506 kan düzeyi/doz oranı 112.53 ± 32.51 , CT genotipli hastaların oranı FK506 kan düzeyi/doz oranı 144.27 ± 50.21 , TT genotipli hastaların FK506 kan düzeyi/doz oranı 151.10 ± 41.28 olarak bulunmuştur. 15.günde CC genotipli hastaların FK506 kan düzeyi/doz oranları CT ve TT genotipli hastaların kan düzeyi/doz oranlarında daha düşük bulunmuştur ($p=0.002$). 3.gün ve 15.günlerdeki hastaların FK506 kan düzeyleri ve hastalara verilen dozlara baktığımızda CC genotipli hastalara daha yüksek dozlar verilmiştir ve kan düzeyleri CT ve TT genotipli hastalardan daha düşüktür ama kan düzeyleri ve dozlar açısından genotipler arasında bir farklılık saptanmamıştır (tablo 4.28).

Tablo 4.28: MDR-1 gen polimorfizminin FK506 kan düzeyleri ile arasındaki ilişki

FK506 grubu (n)	CC (44)	CT (33)	TT (23)	p	GG (40)	GT (36)	TT (24)	p
FK506 ng/ml								
3.gün	15.44±7.29	15.22±6.93	16.92±7.33	>0.05	15.96±6.95	16.51±6.89	14.82±8.14	>0.05
15.gün	14.63±5.78	15.87±6.07	15.11±4.96	>0.05	15.10±5.76	15.78±5.73	13.64±5.30	>0.05
1. ay	13.21±4.99	13.28±4.08	11.74±4.15	>0.05	12.55±5.33	13.87±3.31	11.33±4.34	>0.05
3. ay	10.43±4.56	10.67±4.82	10.57±4.52	>0.05	10.68±4.87	10.43±3.81	10.43±5.71	>0.05
6. ay	8.65±3.63	9.12±4.21	8.71±3.48	>0.05	8.88±3.79	8.76±3.29	8.81±5.03	>0.05
12. ay	8.68±2.83	7.39±2.21	8.70±3.35	>0.05	8.69±2.82	7.77±2.95	8.35±2.28	>0.05
FK506 mg/kg/gün								
3.gün	0.13±0.08	0.12±0.06	0.11±0.05	>0.05	0.12±0.09	0.13±0.06	0.12±0.08	>0.05
15.gün	0.12±0.11	0.11±0.06	0.10±0.05	>0.05	0.11±0.07	0.11±0.06	0.10±0.07	>0.05
1. ay	0.12±0.11	0.10±0.05	0.09±0.06	>0.05	0.10±0.09	0.10±0.05	0.10±0.07	>0.05
3. ay	0.09±0.10	0.08±0.04	0.08±0.07	>0.05	0.09±0.07	0.08±0.05	0.10±0.07	>0.05
6. ay	0.09±0.07	0.08±0.07	0.08±0.06	>0.05	0.08±0.06	0.08±0.06	0.10±0.06	>0.05

Tablo 4.28.devamı: MDR-1 gen polimorfizminin FK506 kan düzeyleri ile arasındaki ilişki

<u>12.ay</u>	0.09±0.07	0.07±0.06	0.07±0.04	>0.05	0.07±0.06	0.08±0.05	0.09±0.06	>0.05
Kan düzeyi/doz								
<u>3.gün</u>	118.76±41.21	126.83±51.12	153.81±35.65	0.002	133.00±45.69	127.00±41.02	119.00±42.36	>0.05
<u>15.gün</u>	112.53±32.51	144.27±50.21	151.10±41.28	0.002	137.27±38.51	143.45±49.54	136.40±50.88	>0.05
<u>1.ay</u>	119.08±29.54	132.80±45.61	130.04±24.08	>0.05	125.50±35.46	138.70±38.69	113.30±41.36	>0.05
<u>3.ay</u>	119.03±32.65	133.37±42.51	132.12±32.65	>0.05	118.66±24.89	130.77±50.11	104.30±41.56	>0.05
<u>6.ay</u>	96.11±31.02	114.00±23.51	108.87±24.59	>0.05	111.00±42.08	109.50±30.28	88.10±20.22	>0.05
<u>12.ay</u>	96.44±30.09	105.57±23.41	124.82±29.65	>0.05	124.14±50.33	97.12±32.12	92.70±29.84	>0.05

4.1.4. CYP3A5 GEN POLİMORFİZMİNİN İKİ İLAÇ GRUBU ARASINDA REJEKSİYON TİPLERİ İLE İLİŞKİSİ

CYP3A5 gen polimorfizminin iki ilaç grubu arasında akut rejeksiyon ile ilişkisi değerlendirilmiştir. CsA kullanan 100 hastadan akut rejeksiyon geçirmiş 11 (% 11.0) hastanın 7 (% 7.0)'si CYP3A5*1*1, 3 hasta (% 3.0) CYP3A5*1*3 ve 1 hasta (% 1.0) CYP3A5*3*3 genotipine sahiptir. FK506 kullanan 100 hastadan akut rejeksiyon geçirmiş 22 (% 22.0) hastadan 9 (% 9.0)'u CYP3A5*1*1 genotipine, 8 (% 8.0) hasta CYP3A5*1*3 ve 5 (% 5.0) hasta CYP3A5*3*3 genotipine sahiptir (tablo 4.29). FK506 kullanan grup içinde genotip ve akut rejeksiyona bakıldığında, CYP3A5*1*1 genotipine sahip hastaların akut rejeksiyon oranı (%9.0) CYP3A5*1*3 ve CYP3A5*3*3 genotipine sahip hastaların akut rejeksiyon geçirme oranlarında daha fazla bulunmuştur fakat aradaki fark anlamlı değildir ($p>0.05$) (tablo 4.29). CsA kullanan grup içinde genotip ve akut rejeksiyona bakıldığında, CYP3A5*1*1 genotipine sahip hastaların akut rejeksiyon oranı (% 7.0) CYP3A5*3*3 genotipine sahip hastaların akut rejeksiyon geçirme oranından (% 1.0) daha fazla bulunmuş olup istatistiksel açıdan bu fark anlamlı çıkmıştır ($p=0.002$) (tablo 4.29).

Tablo 4.29: İki ilaç grubu arasında akut rejeksiyon ve CYP3A5 gen polimorfizminin sıklığı

	CsA grubu (n:100) (%100)		FK506 grubu (n:100) (%100)	
	Akut rejeksiyon (+) (n) (%)	Akut rejeksiyon (-) (n) (%)	Akut rejeksiyon (+) (n) (%)	Akut rejeksiyon (-) (n) (%)
CYP3A5*1*1	7 (% 7.0)	48 (%48.0)	9 (% 9.0)	38 (%38.0)
CYP3A5*1*3	3 (% 3.0)	35 (% 35.0)	8 (% 8.0)	33 (% 33.0)
CYP3A5*3*3	1(%1.0)	6 (% 6.0)	5 (% 5.0)	7 (% 7.0)
Toplam	11 (% 11.0)	89 (% 89.0)	22 (% 22.0)	78 (% 78.0)
p	0.002		>0.05	

CYP3A5 gen polimorfizminin iki ilaç grubu arasında kronik rejeksiyon ile ilişkisi değerlendirilmiştir. CsA kullanan hastalardan kronik rejeksiyon geçirmiş 13 hastanın 8 (% 8.0)'i CYP3A5*1*1, 3 hasta (% 3.0) CYP3A5*1*3 ve 3 hasta (% 3.0) CYP3A5*3*3 genotipine sahiptir. FK506 kullanan hastalardan kronik rejeksiyon geçirmiş 3 hastadan 2 (% 2.0)'si CYP3A5*1*1, 1 hasta (% 1.0) CYP3A5*1*3 genotipine sahiptir (tablo 4.30).

Tablo 4.30: İki ilaç grubu arasında kronik rejeksiyon ve CYP3A5 gen polimorfizminin sıklığı

	CsA grubu		FK506 grubu		P
	Kronik rejeksiyon (+) (n) (%)	Kronik rejeksiyon (-) (n) (%)	Kronik rejeksiyon (+) (n) (%)	Kronik rejeksiyon (-) (n) (%)	
CYP3A5*1*1	8 (% 8.0)	47(% 47.0)	2 (% 2.0)	45 (% 45.0)	>0.05
CYP3A5*1*3	3 (% 3.0)	35 (% 35.0)	1 (% 1.0)	40 (% 40.0)	>0.05
CYP3A5*3*3	3 (% 3.0)	4 (% 4.0)	-	12 (% 12.0)	>0.05
Toplam	13 (% 13.0)	87 (% 87.0)	3 (% 3.0)	97 (% 97.0)	
p	>0.05		>0.05		

4.1.5. CYP3A5 GEN POLİMORFİZMİNİN HASTALIK ETYOLOJİSİ İLE ARASINDAKİ İLİŞKİSİ

SDBY'ne girmiş ve böbrek nakli olmuş hastaların primer tanılarını CYP3A5 gen polimorfizmi ile değerlendirilmiştir. CYP3A5*3*3 genotipine sahip hasta sayısı yeterli olmadığı için mutant heterozigot ve homozigot mutantları (CYP3A5*1*3/CYP3A5*3*3) bir araya getirilerek karşılaştırıldı. Primer tanılar ve genotipler arasında bir fark bulunmamıştır (tablo 4.31).

Tablo 4.31: Hastalık etyolojisi ve CYP3A5 gen polimorfizmi ilişkisi

Primer tanı	CYP3A5*1/*1 (102)	CYP3A5*1/*3 /CYP3A5*3/*3 (98)	p
Primer nefroskleroz (%)	11 (% 5.5)	10 (% 5.0)	>0.05
Amiloidoz (%)	6 (% 3.0)	11 (% 5.5)	>0.05
Kronik Glomerulonefrit (%)	31 (% 15.5)	23 (% 11.5)	>0.05
Tubulointersiyel Nefrit (%)	20 (% 10.0)	26 (% 13.0)	>0.05
Diyabetik Nefropati (%)	5 (% 2.5)	3 (% 1.5)	>0.05
Bilinmiyor (%)	29 (% 14.5)	25 (% 12.5)	>0.05

4.1.6. CYP3A5, CYP3A4, MDR-1 GEN POLİMORFİZMİNİN KREATİNİN DÜZEYLERİ İLE ARASINDAKİ İLİŞKİSİ

CYP3A5, CYP3A4 gen polimorfizmi ile hastaların kreatinin düzeyleri değerlendirilmiştir. Nakil sonrası ilk bir yıl içinde CYP3A5 gen polimorfizmine ait genotipler ile kreatinin düzeyleri arasında bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (tablo 4.32). CYP3A4 mutant genotip sayıları az olduğu için değerlendirilememiştir.

Tablo 4.32: CYP3A5 gen polimorfizminin kreatinin düzeyleri düzeyleri ile ilişkisi

	CYP3A5*1*1 (102)	CYP3A5*1*3 (79)	CYP3A5*3*3 (19)	p
<u>Kreatinin mg/dL</u>				
<u>3.gün</u>	1.38±0.59	1.35±0.51	1.39±0.60	>0.05
<u>15.gün</u>	1.31±0.32	1.34±0.42	1.26±0.39	>0.05
<u>1.ay</u>	1.39±0.38	1.41±0.39	1.33±0.37	>0.05
<u>3.ay</u>	1.36±0.36	1.38±0.41	1.34±0.41	>0.05
<u>6.ay</u>	1.36±0.33	1.40±0.47	1.30±0.34	>0.05
<u>12.ay</u>	1.38±0.33	1.27±0.30	1.28±0.22	>0.05

MDR-1 C3435T ve G2677T gen polimorfizmi ile hastaların kreatinin düzeyleri değerlendirilmiştir. Nakil sonrası ilk bir yıl içinde C3435T gen polimorfizmine ait genotipler ile kreatinin düzeyleri arasında bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (tablo 4.33).

Tablo 4.33: MDR-1 gen polimorfizminin kreatinin düzeyleri ile arasındaki ilişkisi

	C3435T CC (92)	C3435T CT (61)	C3435T TT (47)	p
<u>Kreatinin mg/dL</u>				
<u>3.gün</u>	1.32±0.56	1.42±0.67	1.40±0.41	>0.05
<u>15.gün</u>	1.31±0.39	1.27±0.35	1.31±0.37	>0.05
<u>1. ay</u>	1.38±0.36	1.36±0.38	1.46±0.41	>0.05
<u>3.ay</u>	1.36±0.42	1.37±0.38	1.44±0.36	>0.05
<u>6.ay</u>	1.39±0.44	1.32±0.34	1.40±0.38	>0.05
<u>12.ay</u>	1.23±1.48	1.25±0.32	1.35±0.38	>0.05
	G2677T GG (90)	G2677T GT (67)	G2677T TT (43)	p
<u>Kreatinin mg/dL</u>				
<u>3.gün</u>	1.33±0.49	1.41±0.73	1.41±0.37	>0.05
<u>15.gün</u>	1.31±0.33	1.29±0.41	1.39±0.42	>0.05
<u>1. ay</u>	1.39±0.36	1.35±0.37	1.49±0.46	>0.05
<u>3.ay</u>	1.39±0.37	1.33±0.38	1.43±0.48	>0.05
<u>6.ay</u>	1.35±0.29	1.31±0.37	1.54±0.62	>0.05
<u>12.ay</u>	1.31±0.32	1.21±0.30	1.38±1.11	>0.05

5. TARTIŞMA

KBY, kronik seyirli böbrek hastalıklarında, ilerleyici nefron kaybı sonucunda böbrek fonksiyonlarının bozulması ile ortaya çıkan, GFR'nın kalıcı azalması ile kendini gösteren bir tablodur. Böbrek fonksiyon kaybı kritik bir düzeyi aştığında altta yatan sebebin giderilmesi, çoğu kez hastalığın ilerlemesini engelleyememektedir (3,4). SDBY gelişen hasta sayısı dünyada ve ülkemizde giderek artmaktadır (2). SDBY gelişen hastalarda böbrek replasman tedavilerinden birini uygulamak gerekmektedir (7,8). Böbrek nakli, SDBY hastalarının hayat kalitesinde önemli olumlu değişiklikler sağlayan en seçkin tedavi yöntemi olarak bilinmektedir (3). Başarılı bir nakil, sürekli diyaliz uygulamasının ve buna bağlı olarak birçok sorunun bitmesini, sosyal hayata daha rahat ve etkili bir katılım sağlayabilmektedir. Bununla birlikte nakil sonrası immünespresif ilaç kullanma zorunluluğuna bağlı olarak akut ve kronik rejeksiyon sonucu graftın kaybedilmesi, enfeksiyon, tümör oluşumu, ilaç toksisitesi gibi istenmeyen yan etkiler nakil sonrası uğraşılması gereken erken ve geç dönem komplikasyonlardır. Günümüzde immünespresif tedavi protokollerindeki gelişmelere rağmen birçok hasta bu komplikasyonlarla karşı karşıya kalmaktadır. Bunun yanı sıra kullanılmaya başlanan yeni ilaçların yan etkileri, graft sürvi ile ilgili verileri halen çok iyi bilinmemektedir. Bu sorunların en aza indirilmesi için nakil öncesi yapılan immünolojik testler önem kazanmaktadır. Tüm bu sorunların sık yaşanması özellikle rejeksiyon riskini öngörebilen immünolojik testlerin eksikliği ile ilişkilendirilebilir (156).

SDBY gelişiminde diyabetik nefropati, kronik glomerulonefrit, primer nefroskleroz, amiloidoz, tubulointersiyel nefrit ve sebebi bilinmeyen nedenler gibi pek çok primer nedeni vardır (7,8). Bu nedenlerin sıklığı ülkelere göre değişmekle birlikte, ülkemizde diyabetik nefropati SDBY hastalarının primer tanılarının sıklığında başta yer almaktadır (156). Buna paralel olarak bu tez çalışmasına dahil edilen 200 SDBY hastasından 54 (% 27.0) hastada etyolojisi bilinmeyen SDBY'de ilk sıralarda bulunmuştur. Ayrıca CsA kullanan grupta (% 34.0) FK506 kullanan gruba (% 20.0) göre etyolojisi bilinmeyen SDBY daha yüksek bulunmuştur (p=0.034).

TND 2007 verilerine göre, SDBY hastalarının % 75.7'si HD ile tedavi olmaktadır (9). Bu tez çalışmasında da bu verilerle uyumlu olarak, nakil öncesi dönemde hastaların % 79.5'inin HD ile tedavi edildiği saptanmıştır.

Morales JM., ile Kasiske BL. ve arkadaşlarının yaptıkları ayrı çalışmalarda nakil öncesi diyabeti olmayan hastalarda steroid ve kalsinörin inhibitörü kullanımına bağlı nakil sonrası diyabetes mellitus gelişimi %10 oranında olduğu bildirilmiştir (157,158). Özellikle nakil sonrası diabetes mellitus gelişimi FK506 kullanan hastalarda daha sık rastlanan bir komplikasyondur. Kalsinörin inhibitörleri pankreas adacıklarına toksik etkiye sahiptirler (157). Bu etki FK506 da daha belirgin görülmektedir. Etiyolojisinde diyabetik nefropati bulunan hastalara immünsupresif tedavi protokollerinde CsA kullanımı tercih edilmektedir (157,158). Yapılan bu çalışmalarla uyumlu olarak bu çalışmada da etyolojisinde diyabetik nefropati bulunan hasta grubu CsA grubunda (% 6.0) FK506 grubuna (% 2.0) göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır (p=0.006).

TND'nin 2008 yılı içinde canlı vericiden yapılan nakillerin %34.9'u anneden, %19.5'i eşten, %14.8'i babadan yapıldığı bildirilmiştir (9). Bu tez çalışmasında da TND 'nin verileri ile uyumlu olarak, 200 kişilik hasta grubundan 76 (% 38.0)'nın anneden nakil olduğu, % 20.5 oranında baba ve kardeşten, % 12.5 ise eşten nakil olduğu bilgisine ulaşılmıştır.

Böbrek nakillerinde yüksek derecede polimorfik olan HLA antijenleri önemli bir engel teşkil etmektedir. Böbrek naklinin klinik olarak uygulanmasının ilk yıllarından bu yana HLA uyumunun belirlenmesi hem graft hem de hasta sağkalımında önemli etkisi olduğu belirlenmiştir. Hem HLA'nın çok polimorfik bir yapıya sahip olması hem de hücrel ve humoral immünitede rol oynaması yönünden HLA uyumunun tanımlanması önem taşımaktadır. Son yıllarda immünsupresif ilaçların etkinliğinin artması böbrek naklinde HLA uyumunun gerekli olup olmadığı ile ilgili pek çok tartışmaya neden olmuştur. Güçlü immünsüpresyon, böbrek nakli sonuçlarını anlamlı derecede iyileştirmiştir (159). TND verilerine göre ülkemizde 2007 yılında yapılan böbrek nakillerinin % 37.1'i en az 1A1B1DR uyumlu iken, HLA uyumunun olmadığı nakil oranı % 2.7'dir (9). TND verilerine göre ise türk toplumunda 2008 yılı içerisinde canlı vericiden nakil olan hastaların büyük bir çoğunluğu HLA uyumlu vericiden nakil olurken sadece % 6.5 oranında HLA uyumsuz nakil yapılmıştır (9). Bu tez çalışmasında da buna paralel olarak 200 hastaya ve vericisine nakil öncesi yapılan HLA tanımlanmasında, hastaların % 85.0'inde HLA uyumu iyi olan vericilerden nakil olmuşlardır. Hastaların % 15.0'inde ise hasta ve vericisi arasında daha az HLA uyumu vardır.

Kan transfüzyonları, gebelikler ve rejeksiyonlar sonrasında anti-HLA antikoru oluşabilmektedir. Bu oluşum bireyden bireye farklılık göstermektedir. Sensitizasyon sonrası sınıf I, sınıf II veya hem sınıf I hem de sınıf II HLA antikoru gelişebilmektedir (160, 161). Sınıf I ve sınıf II HLA antikoru, farklı hücreleri aktive ederek, immün cevabı başlatmakta ve rejeksiyona katkıda bulunmaktadır. Nakil öncesi dönemde duyarlı hale gelmeyen (kan transfüzyonları, gebelik v.b.) hastalarda bile hastanın geçmişinde yaşadığı duyarlılık nedeni ile oluşan hafıza B hücrelerinin tekrar aktif hale gelmesi, nakil sonrası erken günlerde HLA antikor üretimini kolaylaştırabileceği belirtilmektedir (162). Daha önceki çalışmalarda nakil sonrası birinci ayda oluşan DSA'ların veya DSA olmayan anti-HLA antikoru graft sağ kalımını etkilediği ile ilgili sonuçlar bildirilmiştir. Bu mekanizmanın niçin ve nasıl olduğu tam olarak bilinmemekle birlikte; hasta, kan transfüzyonları, gebelikler v.b. nedenlerle duyarlı hale geldiği antijenik epitoplara benzeyen epitoplarla tekrar karşılaştığında, T hücre cevabının oluştuğu düşünülmektedir (162,163,164). Bu tez çalışmasında yer alan hastalardan 99 (% 49.5)'u nakil öncesi dönemde kan transfüzyonu, gebelik gibi nedenlerle sensitize olmuşlardır. Sensitize olayları transfüzyon ve gebelik nedeniyle CsA grubunda % 46, FK506 grubunda % 53 oranlarındadır. 200 hastadan % 5.5'inde anti-HLA antikorudur. Nakil öncesi sensitize olup anti-HLA antikor bulunmayan hastaların, nakil sonrasında hastanın geçmişinde yaşadığı duyarlılık nedeni ile oluşan hafıza B hücrelerinin tekrar aktif hale gelmesi, nakil sonrası erken günlerde HLA antikor üretimini kolaylaştırabileceğini düşünmekteyiz. Bu tez çalışmasına dahil edilen hastalarda mevcut olan bu anti-HLA antikoru DSA olmadığı için nakile bir engel oluşturmamıştır ve nakil olmuşlardır.

Tedavi protokollerinde kalsinörin inhibitörleriyle beraber başta kortikosteroid ve aza veya kortikosteroid ve MMF/MYF olmak üzere birçok ilaç üç'lü kombinasyon şeklinde immünsüpresif tedavi için kullanılmaktadır (165). Çalışmamızda; İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Nefroloji Bilim Dalı tarafından izlenen böbrek nakilli hastalara uygulanmış immünsüpresif tedavi protokollerinden CsA bazlı tedavi olarak, hastaların % 20.0'sine CsA+ Aza+ steroid, % 66.0'sına CsA+MMF+steroid ve % 14.0'üne CsA+MYF+steroid protokolleri uygulanmıştır. FK506 bazlı tedavi olarak ise % 9.0'una FK506+Aza+ steroid, % 59.0'una FK506+MMF+steroid ve % 32.0'sine FK506+MYF+steroid protokolleri uygulanmıştır. Her nakil merkezi hastalarına en uygun tedavi protokolünü uygulamaya

çalışmaktadır. Bu yüzden her merkezin uyguladığı immünsupresif tedavi protokolleri arasında farklılıklar olmaktadır.

Akut rejeksiyon transplantasyon sonrası birinci haftadan itibaren T hücre aktivasyonu ile oluşan hücresel bir reddir. Başarılı bir böbrek nakli sonrası graft sağkalımını etkileyen faktörlerden biri yeterli immünsupresif tedavinin olmasıdır. CsA ve FK506'nın olduğu immünsupresif tedavi protokollerinin akut rejeksiyon oranlarını azalttığı kanıtlanmıştır (166,167). İmmünsupresif tedaviden beklenen en önemli etkinlik, akut rejeksiyonunu önlenmesi, ilaç yan etkilerini azaltarak ilaç etkinliğindeki artış ve graft fonksiyonlarını korumaktır. Dietl KH ile Wayman MR ve arkadaşlarının ayrı olarak yaptıkları retrospektif çalışmalarda FK506 kullanan hastalarda akut rejeksiyon sıklığının daha az görüldüğü bildirilmiştir (168,169). Bunun yanı sıra Abou-Jaoude MM. ve arkadaşlarının yaptıkları randomize bir çalışmada akut rejeksiyon sıklığı açısından her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmasada FK506 kullanan grupta (% 20) CsA kullanan gruba (% 7.4) göre daha çok sayıda akut rejeksiyon görülmüştür (170). Ayrıca, steroide dirençli akut rejeksiyon sıklığı anlamlı olarak FK506 grubunda daha sık bulunmuştur (170). Kronik rejeksiyonun immünolojik ve non immünolojik çeşitli sebepleri olduğu bilinmektedir. Kronik allograft nefropatisi için risk faktörleri; geçirilmiş akut redler, enfeksiyonlar (özellikle endotel hücrelerini invaze eden CMV), HLA doku uyumu, hipertansiyon, hiperlipidemi, diabetes mellitus ve ilaç nefrotoksitesidir (171). TND 2008 yılında 1065 böbrek nakli yapılmış hastaların 169'unda (%15.9) ilk altı ayda akut rejeksiyon görüldüğünü bildirmiştir (9). Bu tez çalışmasına alınan aldığımız 200 hastadan % 24.5'i rejeksiyon geçirmiştir. Bu hastalardan % 16.5'i akut rejeksiyon, % 8.0'i ise kronik rejeksiyon geçirmiştir. Rejeksiyon tipine göre değerlendirildiğinde, CsA kullanan ve rejeksiyonlu 24 hastadan % 5.5'i akut rejeksiyon, % 6.5'i kronik rejeksiyon geçirmiştir. FK506 kullanan grupta ise 25 rejeksiyonlu hastadan % 11.0'i akut rejeksiyon, % 1.5'i kronik rejeksiyon geçirmiştir. Bu tez çalışmasında da Abou-Jaoude MM. ve arkadaşlarının çalışmasına uyumlu olarak iki ilaç grubu akut rejeksiyon sıklığı açısından karşılaştırıldığında FK506 kullanan grupta daha yüksek akut rejeksiyon oranı görülmüştür (p=0.036). İki grup kronik rejeksiyon sıklığı açısından karşılaştırıldığında CsA kullanan grupta daha yüksek kronik rejeksiyon oranı görülmüştür (p=0.016). Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlarla iki ilaç grubu arasında rejeksiyon oranlarının Dietl KH. ile Wayman MR. ve arkadaşlarının retrospektif olarak değerlendirdikleri rejeksiyon oranlarından farklı

olmasının ve FK506 kullananlarda daha yüksek görülmesinin sebeplerinden birisi, CsA kullanan gruptaki hastaların HLA uyumlarının FK506 kullanan hastaların HLA uyumlarından daha iyi olması olabilir ($p=0.002$). Diğer sebep ise FK506 grubunda daha fazla akut rejeksiyon görülen tedavide Aza'nın kullanıldığı görülmüştür. Bu da 2004 yılında M.Lucan ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma ile uyumlu olarak, tedavi olarak CsA+ Aza ile CsA+ MMF kullanan hastalar karşılaştırılmış ve MMF kullanan grupta anlamlı olarak akut rejeksiyonun daha az görüldüğü saptanmıştır (172).

Akut rejeksiyonların yaklaşık %90'ı hücre aracılığında, %5-10'u ise hümmoral immün yanıtlar aracılığında gelişmektedir. Yapılan çalışmalar, CD4+ T hücrelerin akut rejeksiyonun başlamasında, CD8+ T hücrelerin ise rejeksiyonun daha sonraki evrelerinde önemli olduğuna işaret etmektedir (62). Akut hücre aracılı rejeksiyon başarılı bir şekilde tedavi edildiğinde, interstisyel inflamatuvar infiltrat hızlıca azalırken ödem, tübuler inflamasyon ve hücre hasarı bir süre daha kalabilir (173). Antikor aracılı akut rejeksiyon, rejeksiyonun seyrek görülen bir şeklidir. Vericiye özgü antikorların varlığının hümmoral rejeksiyonla ilişkili olduğu bulunmuştur. C4d boyamasının öneminin anlaşılması ile de rejeksiyon sürecinde antikorların rollerinin kavranmasında önemli bir adım atılmıştır (75). Bu tez çalışmasında rejeksiyon geçirmiş 49 hastanın % 12.2'sinde nakil öncesi anti-HLA antikorlarının olduğu belirtilmiştir. 49 hastadan akut rejeksiyon geçirmiş 33 hastanın 3 (% 9.9)'ünün anti-HLA antikoru vardır. Hücre aracılı akut rejeksiyon geçirmiş ve sınıf I antikora sahip 1 (% 3.3) hasta, antikor aracılı akut rejeksiyon geçirmiş ve sınıf I antikora sahip 1 (% 3.3) hasta ve antikor aracılı akut rejeksiyon geçirmiş ve sınıf II antikora sahip 1 (% 3.3) hasta vardır. Kronik rejeksiyon geçirmiş 16 hastadan 3 (% 18.8)'ünün anti-HLA antikoru vardır. 3 hastadan 1(% 6.3)'inin sınıf I ve 2 (% 12.5)'nin sınıf II antikoru mevcuttur. Yapılan bir çalışmada nakilden uzun süre önce hastalar duyarlı hale gelmiş olsalar bile, DSA'ler çok düşük düzeyde mevcut olduğundan nakil öncesi antikor testlerinin negatif çıkabileceğini fakat nakil sonrası bellek B hücreleri vasıtasıyla DSA'lerin sayısının hızla arttığını ve hümmoral rejeksiyon belirtilerinin ortaya çıktığını göstermiştir (78). Bu bilgilere paralel olarak bu tez çalışmasına dahil edilen 43 (% 87.3) rejeksiyonlu hastanın 29 (% 58.8)'unda kan tansfüzyonları ya da gebelik nedeniyle yabancı HLA antijenlerine maruz kaldığı halde anti-HLA antikorunun olmadığı ortaya konmuştur.

1970'li yıllarda CsA'nın keşfi immünsupresif tedavide altın çağı başlatmış olup graft sağkalımda büyük iyileşmeler sağlamış ve nakillerde başarılı sonuçlar alınmasına

yol açmıştır. Daha sonra FK506'nın kullanıma girmesi ve bu ilaçların steroidlerle birlikte alınması, bu ilaçların dozlarının azaltılmasına ve akut rejeksiyon oranlarının da azalmasına yol açmıştır. MMF'in keşfi ile üçlü tedavi protokollerinde Aza'nın yerini almıştır. İndüksiyon tedavileri ile graft rejeksiyon oranları azalmıştır. Randomize kontrollü çalışmalarda akut hücrel rejeksiyonu yaklaşık % 50 oranında azaldığı belirtilmiştir (174). Ojo OA. ve arkadaşlarının 66.000 hastayla yaptığı retrospektif bir çalışmada 4 yıllık graft sağkalımı Aza ve MMF ile tedavi edilen hastalar arasında karşılaştırılmıştır. MMF alan hastalarda akut hücrel rejeksiyondaki azalmadan bağımsız olarak, MMF kullanımı Aza'ya göre kronik allograft rejeksiyon oranını azalttığı belirtilmiştir (175). Numakura K. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise hem CsA'nın hem de FK506'nın graft ve hasta için tehlikeli olan yan etkilerinin olduğu ve doza bağlı olarak kreatinin değerlerinde geçici bir yükselme görüldüğü, sodyum tutulumu artar ve yaygın olarak kronik interstisyel fibrozis görülebileceği açıklanmıştır. Özellikle CsA hastaların büyük çoğunluğunda nefrotoksik olduğu ve uzun dönem kullanımı erken kronik allograft nefropatisinin bir etkeni olabileceği belirtilmiştir (176). Ojo OA. ile Numakura K. ve arkadaşlarının ayrı ayrı çalışmalar ile uyumlu olarak bu tez çalışmasında da CsA+Aza+steroid tedavisi alan hastalarda (% 43.7) FK506+Aza+steroid alanlara (% 18.7) göre daha fazla kronik rejeksiyon olduğu görülmüştür. Bu çalışmada FK506+MMF+steroid kullanan grupta (% 39.3) CsA+MMF+steroid kullanan gruba (% 18.1) göre akut rejeksiyon oranları daha yüksek bulunmuştur (p=0.04). Her iki kalsinörün inhibitörünün etki mekanizmalarının aynı olduğu düşünüldüğünde, gruplar arası farkın nedeninin CsA grubundaki hastaların HLA uyumlarının daha iyi olmasından dolayı olabileceği akla gelmektedir. Ayrıca CsA verilecek hastalara antiproliferatif ilaçlardan MMF verilmesi ve HLA uyumunun daha iyi olduğu vericilerden nakil yapılmasının akut rejeksiyon sıklığını belirgin olarak iyi yönde etkilediği saptanmıştır.

Kan transfüzyonları, gebelik ve red olmuş graftlar nedeniyle yabancı HLA ile karşılaşmış her bireyde anti-HLA antikor gelişmez (177). Bunun sebebi karşılaşılan antijenlerin immünojenitesi olabileceği gibi hastada yabancı HLA antijenlerine karşı antikor oluşturmaya yatkın olan immün yanıt genlerindeki farklılıklar da olabilir (178).Yapılan birçok çalışmada, nakil sonrası üretilen anti-HLA antikorlarının da akut rejeksiyon, rejeksiyon atak sayısı, kronik rejeksiyon ve graft sağkalımında azalma ile ilişkili olduğu bulunmuştur (179,180). Bu tez çalışmasında da bu veriler ile uyumlu olarak 33 akut

rejeksiyonlu hastanın 20 (% 60.6)'sinde kan transfüzyonu, 6 hastada (% 18.2) gebelik mevcuttur. 33 hastanın nakil öncesi değerlendirmesinde 4 (% 9.1)'ünde anti-HLA antikoru belirlenmiştir. 29 (% 87.9) hastada anti-HLA antikoru belirlenmemiştir. 16 kronik rejeksiyonlu hastanın 4 (% 25.1)'ünde kan transfüzyonu, 1 hastada (% 6.3) gebelik mevcuttur. 16 hastanın nakil öncesi değerlendirmesinde 3 (% 18.9)'ünde anti-HLA antikoru belirlenmiştir.

Yapılan bu çalışmada rejeksiyon geçiren hastalara uygulanan anti rejeksiyon tedavisi protokolleri açısından iki farklı grup arasında bir fark belirlenmemiştir.

Türk Nefroloji Derneği 2008 yılında 1065 böbrek nakli yapılmış hastaların 169'unda (%15.9) ilk altı ayda akut rejeksiyon görüldüğünü ve bunlarında 54'ünün (%5.1) biyopsi ile kanıtlandığı bilgisini vermiştir (9). Bu tez çalışmasında 200 böbrek nakli yapılmış hastaların 49 (% 24.5)'unda ilk bir yılda akut rejeksiyon görülmüştür. 49 hastanın 36 (% 73.5)'sının biyopsi ile kanıtlandığı bilgisine ulaşılmıştır.

Yoğun immünsupresif tedaviye bağlı olarak bazı ciddi yan etkilerin meydana geldiği bilinmektedir. Enfeksiyonlar, nakil sonrası önemli komplikasyonlardan birisidir ve ölüm nedenleri arasında ilk sırada yer almaktadır. Abou-Jaoude MM. ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada iki kalsinörün inhibitörünün yan etkileri karşılaştırılmıştır. Enfeksiyon oluşumu sıklığı açısından değerlendirildiğinde, her iki ilaç tedavisi alanlarda aynı sıklıkta enfeksiyon geliştiği saptanmıştır (CsA: %26, FK506: %36) (170). Bu çalışmaya dahil edilen hastalarda da Abou-Jaoude MM. ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile uyumlu olarak enfeksiyon sıklığı açısından her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (CsA: %20.0, FK506: %22.0, $p>0.05$).

Kardiyovasküler hastalık için en önemli risk faktörü olan hiperlipidemi, nakil sonrası sık görülen bir komplikasyondur. Hiperlipidemi komplikasyonu geliştirme açısından her iki ilaç arasında fark olmadığını Abou-Jaoude MM. ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada gösterilmiştir (%40 ; %30 $p: >0.05$) (170). Fakat Hohage H. ile Venkiteswaran K.'nin yaptıkları ayrı çalışmalarda ise hiperlipidemi sıklığını CsA alan grupta anlamlı olarak daha yüksek bulmuşlardır ($p<0.05$) (181,182). Bu tez çalışmasında Hohage H. ile Venkiteswaran K ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalar ile uyumlu olarak hiperlipidemi gelişme sıklığı açısından CsA alan grupta daha yüksek görülmüştür (CsA: %35.0, FK506: % 18.0, $p=0.029$).

Nakil sonrası Diabetes Mellitus gelişimi, FK506 alan hastalarda daha sık rastlanılan bir komplikasyondur. Oberholzer J. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, FK506 alan grupta % 18.0, CsA alan grupta ise % 8.3 oranında Diabetes mellitus gelişmiştir ($p>0.05$) (183). Bu tez çalışmasında da Oberholzer J. ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma ile uyumlu olarak FK506 alan grupta % 16.0, CsA alan grupta ise % 3.0 olarak görülmüştür ($p=0.014$). Altta yatan hastalığı diabetes Mellitus olan ve CsA kullananlar değerlendirilmenin dışında tutulmuştur.

Higgins R. ve arkadaşlarının çalışmasında kalsinörin inhibitörü ilaçların en önemli yan etkisi nefrotoksisite olduğu ve doza bağlı olarak böbrek kan akımında ve filtrasyon hızında azalma ile reversibl renal vazokonstriksiyona yol açtığı belirtilmiştir. Bu yüzden doza bağlı olarak kreatinin değerlerinde geçici bir yükselme görüldüğü ve vazokonstriksiyon, hipertansiyon ve sodyum tutulumunu da arttırdığı belirtilmiştir. Uzun dönem kalsinörin inhibitörü kullanımı sonrası yaygın olarak kronik interstisyel fibrozis görülebileceği ve nefrotoksisite CsA alan hastalarda daha sık gözlenen bir komplikasyon olduğu söylenmiştir (184). Mekanizması tam olarak aydınlatılamasa da intrarenal vazokonstriksiyon ve renal tubuler toksisite en çok suçlanan nedenlerdir. Bu çalışmada Higgins R. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadan farklı olarak hem CsA hem de FK506'da nefrotoksisite oranı arasında farklılık gözlenmemiştir (%8.0, %11, $p>0.05$).

Kalsinörin inhibitörlerinin ciddi yan etkilerinden dolayı ve terapötik aralıklarının dar olmaları kullanılmaları açısından zorluklar içermektedir. Graft sağkalımı ve iyi hasta izlemi için bu immüsupresif ilaçların yakın monitorizasyonu gerekmektedir. İlaçların kan ve doku konsantrasyonu, etkililik ve toksisitesinin oluşmasındaki faktörler; farmakokinetik, farmakodinamik, farmakogenetik değişiklikler, ilacın hücre içine taşınma mekanizmaları, beslenme şekilleri, ilaç etkileşimleri, kronik hastalıkların varlığı ve genetik faktörler şeklinde sayılabilir. Kan düzeyini etkileyen farmakogenetik değişkenler ilaç metabolize edici enzimler ve taşıyıcı proteinlerdir. Son yıllardaki gelişmelerle ilaçları metabolize eden enzimlerin yalnız ırklararası değil toplumlararası da farklılıklar içerdiği saptanmıştır (185). Türk toplumu birçok etnik kökenden oluştuğu ve dolayısıyla saf bir ırktan bahsedilmeyeceği için, toplumumuzda özellikle farmakogenetik alanında popülasyon çalışmaları büyük önem kazanmaktadır.

Böbrek naklinde kullanılan immüsupresifler ile bu ilaçları metabolize eden enzimlerin ilişkisine bakıldığında; CsA ve FK506 her iki ilacı da CYP3A5, CYP3A4 ve taşıyıcı protein olan p-gp'nun gastrointestinal sistemden metabolizasyonunu ve

farmakokinetiğini etkilediği bildirilmektedir. Bu enzimler ve p-gp'deki SNP'ler insanlar arasında ve toplumlar arasında farklılıklar göstermektedir (127).

Li-Yan Miao ve arkadaşlarının 2008 yılında Çin toplumunda yaptığı 105 sağlıklı ve 50 böbrek naklini kapsayan CYP3A5 genotipleme çalışmasında, CYP3A5*1/*1, CYP3A5*1/*3 ve CYP3A5*3*3 genotip gruplarının görülme sıklığını sağlıklı bireylerde sırasıyla % 7.6, % 39.0 ve % 53.3, böbrek nakilli hastalarda ise % 12.0, % 34.0 ve % 54.0 olarak rapor etmişlerdir (186). Yine aynı çalışmada CYP3A5*3 alel sıklığı sağlıklı bireylerde % 72.9, hastalarda ise % 71.0 olarak belirtilmiştir (186). Petrova DT. ve arkadaşlarının 2007 yılında Bulgar toplumunda 160 sağlıklı birey ve 146 sporadik koleraktal kanserli hasta ile yapmış oldukları bir çalışmada, CYP3A5*1/*1, CYP3A5*1/*3 ve CYP3A5*3*3 genotip gruplarının görülme sıklığını sağlıklı bireylerde sırasıyla % 1.2, % 11.3 ve % 87.5, sporadik koleraktal kanserli hastalarda ise % 0.7, % 17.1 ve % 82.2 olarak rapor etmişlerdir. CYP3A5*1 alel sıklığının sağlıklı bireylerde % 6.9, CYP3A5*3 alelinin ise % 93.1 olduğunu belirtmişlerdir. Hastalarda ise sırasıyla % 9.2 ve % 90.8 olarak bildirmişlerdir. Bu popülasyonda CYP3A5*6 alelinin bulunmadığı saptanmıştır (187). Lamba JK. ve arkadaşlarının 2002 yılında yaptığı bir çalışmada CYP3A5 mutant alelinin etnik gruplar arasındaki farklılıkları belirtmişlerdir. CYP3A5*1 alel sıklığı CYP3A5*3 alel sıklığından daha nadir görülmekle birlikte toplumlar arasında oranının değiştiğini bildirmişlerdir. CYP3A5*1 alelinin Beyaz ırk, Afrikan- Amerikalılar, Çinliler, Japonlar ve Meksikalılar'da sırasıyla % 15, % 45, % 27, % 15 ve % 25 oranlarında olduğunu belirtmişlerdir. CYP3A5*6 alelinin ise çok nadir bulunduğu görülmüştür. Beyaz ırkta % 0 ve Afrikan- Amerikalılarda ise % 13 olduğu belirtilmiştir (188). Ron Schaik HN. ve arkadaşlarının 2002 yılında 500 sağlıklı bireyle yaptıkları çalışmada ise beyaz ırk Hollandalılarda CYP3A5*3 alelini % 91 oranında, CYP3A5*6 mutant alelini ise % 0.1 oranında bulmuşlardır (189). Zhang J. ve arkadaşlarının Çin'li hasta grubunda 2010 yılında 78 böbrek nakli olan ve takrolimus kullanan hastalar ile çalışılmıştır. CYP3A5*1/*1, CYP3A5*1/*3 ve CYP3A5*3*3 genotip gruplarının görülme sıklığını % 47.4, % 2.6 ve % 50.0 olarak tespit ettiklerini belirtmişlerdir (190). Makeeva O. ve arkadaşlarının 2008'de global farmakogenetik olarak yayınladıkları bir çalışmada, CYP3A5*3 alelinin sıklığının Beyaz ırkta % 90'larda, asya topluluğunda ise %70'lerde olduğunu belirtmişlerdir. 5 farklı etnik grup ile Rus toplumunda kendi yaptıkları değerlendirmede ise CYP3A5*3 alelinin etnik gruplar arasında bile farklı olduğunu

bulmuşlardır (191). İlaçların metabolizmasındaki önemi bilinmesine rağmen Türk toplumunda CYP3A5 genotipleme ile ilgili yapılan sağlıklı ve hasta çalışmalarının olmadığını görmekteyiz. Sadece Sayitoğlu MA ve arkadaşlarının 2006 yılında yaptığı bir çalışmada, 93 sağlıklı bireyde CYP3A5 genine ait polimorfizmde CYP3A5*1 alelinin oranının % 92.5 ve CYP3A5*3 mutant alelinin oranının % 7.5 olduğunu göstermişler. Aynı çalışmada CYP3A5*3 mutant alelinin karşılaştırmasında, Japonlarda % 29, Afrikan-Amerikalılarda % 73 olduğunu belirtmişlerdir (192).

Bu tez çalışmasında CYP3A5 genotip sıklığının saptanmasına ait bölümünde, 150 sağlıklı bireyle yapılan değerlendirmede, CYP3A5*1*1, CYP3A5*1*3 ve CYP3A5*3*3 genotip gruplarının sıklığını sırasıyla % 62.7, % 30.7 ve % 6.6 olarak bulunmuştur. CYP3A5*1 alel sıklığı % 78 ve CYP3A5*3 alel sıklığı ise % 22 olarak tespit edilmiştir. Bütün bu çalışmaların sonucu göz önünde tutulduğunda bu tez çalışmasında elde edilen CYP3A5 polimorfizmlerinin görülme sıklıklarının, Türk popülasyonunda Sayitoğlu ve arkadaşlarının (192) yaptıkları çalışma ile uyumlu olarak CYP3A5*3 mutant alelinin diğer Avrupa toplumlarındaki CYP3A5*3 alel sıklığından daha az olduğunu, Li-Yan Miao ve arkadaşlarının (186) Çin toplumunda yaptığı çalışmayı göz önüne alacak olursak CYP3A5*3 alelinin Asya toplumunda Avrupa toplumundan daha az görüldüğü ve Türk toplumundaki bu bulguların arada bir yer tuttuğunu söyleyebilmekteyiz. CYP3A5*6 mutant aleli ise Afrikan-Amerikalı toplum bulgularının aksine diğer toplumdaki bulgular ile uyumlu olarak bu çalışmada bulunmamıştır. Türk toplumunun birçok etnik kökenden oluştuğu ve dolayısıyla saf bir ırktan bahsedilmeyeceği için, toplumumuzda özellikle farmakogenetik alanında popülasyon çalışmaları büyük önem kazanmaktadır ve CYP3A5*3 alel sıklığı konusunda saf verilerin elde edilmesi için yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu çalışmada 200 böbrek nakilli hasta ile yapılan CYP3A5 genotip sıklığının saptanmasında CYP3A5*1*1, CYP3A5*1*3 ve CYP3A5*3*3 genotip gruplarının sıklığını sırasıyla % 51.0, % 39.5 ve % 9.5 olarak bulunmuştur. Hasta grubunda CYP3A5*1 aleli % 70.8 ve CYP3A5*3 aleli % 29.2 olarak tespit edilmiştir. Bu bulgular Li-Yan Miao ve arkadaşlarının bulguları sağlıklı ve hasta grubunun karşılaştırmalı sonuçları ile birebir uymamaktadır. Bu çalışmadaki hasta grubunda CYP3A*3*3 genotip oranı kontrollerden yüksek çıkmıştır (p=0.037). Petrova DT. ve arkadaşlarının çalışmasının sonuçlarına benzer bulunmuştur. Bu çalışmadaki hasta grubunda mutant

alelin yüksek oranda çıkması akla hastalık etyolojisi veya diğer çevresel faktörleri düşündürmektedir.

Zhao Y. ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptıkları bir çalışmada 167 böbrek nakilli hastadan 137'si CsA, 30'u FK506 kullanan grubu oluşturduğu ve CYP3A5 genotiplerinin sıklığının iki ilaç grubu arasında bir fark bulunmadığını belirtmişlerdir (87). Bu çalışmada da Türk popülasyonundan alınan 200 böbrek nakilli hastaların sonuçları değerlendirildiğinde, Zhao Y. ve arkadaşlarının çalışması ile uyumlu olarak iki ilaç grubu arasında CYP3A5 genotiplerinin sıklığı açısından bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

İmmünesupresif ilaçları metabolize eden CYP3A4 genotiplerine baktığımızda, Lamba JK. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada CYP3A4 mutant allelinin sıklığının toplumlarda nadir görüldüğünü, CYP3A4*4 alelinin Beyaz ırkta % 0.47-4 arası, Çinlilerde % 1.5, CYP3A4*6 alelinin ise Çinlilerde % 0.98 oranında görüldüğünü belirtmişlerdir (188). Japonlar ve Meksikalılar'da sırasıyla % 15, % 45, % 27, % 15 ve % 25 oranlarında olduğunu belirtmişlerdir. Sayitoğlu MA ve arkadaşlarının Türk toplumunda yaptığı çalışmada, 93 sağlıklı bireyde CYP3A4 genine ait polimorfizmde CYP3A4 geninin başka bir mutant alelini çalışmışlar ve CYP3A4*1B oranının % 1.4 oranında olduğu belirtmişlerdir. Bu tez çalışmasında da Lamba JK. ve arkadaşlarının çalışmasına uyumlu olarak CYP3A4*4 alelinin sıklığını beyaz ırka benzer oranlarda % 6.3 ve CYP3A4*6 alel sıklığını da % 0.7 oranlarında bulunmuştur. Yine bu çalışmanın CYP3A4 genotipleme sonuçlarının Sayitoğlu ve arkadaşlarının çalışması ile uyumlu olarak CYP3A4 geninin mutant alel sıklığının Türk toplumunda nadir görüldüğünü göstermektedir (192). Ashavaid T ve arkadaşlarının 2010 yılında yaptığı bir çalışmada, 100 sağlıklı ve 100 böbrek nakilli hasta ile CYP3A4 genotiplemesi çalışmışlar. CYP3A4*1 alel sıklığını kontrol ve hastalarda benzer oranlarda bulmuşlar. Yine aynı çalışmada hastaları sınıflandırdıkları zaman 56 CsA kullanan, 44 FK506 kullanan hasta gruplarında da CYP3A4*1 alel sıklığı arasında bir fark bulunmadığını belirtmişlerdir (193). Bu tez çalışmasında da Ashavaid T ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma ile uyumlu olarak CYP3A4*1 alel sıklık oranını CsA kullanan grupta % 93, FK506 kullanan grupta ise % 90 olarak bulunmuştur.

Proton pompa inhibitörlerinden lansoprazolon böbrek nakilli hastalarda gastrik ülser hastalığından yakınarlarda sıkça kullanılan bir ilaç olduğu bilinmektedir. Lansoprazolon metabolizmasında en çok CYP2C19, ikinci sıklıkta ise CYP3A4

enziminin rol oynadığı ve bu enzimlerin genetik polimorfizm gösterdiği bilinmektedir. CYP3A4 ve CYP3A5 gen ürünleri benzer katalitik aktiviteye sahiptir. CYP3A5 ekspresyon seviyeleri SNP'ler ile kuvvetlice ilişkilidir (145). Lansoprazolon ve FK506'nın ilaç etkileşiminden dolayı CYP2C19 polimorfizmine baktık.

Türk toplumunda CYP2C19'un genotip sıklığını saptamaya yönelik ilk çalışmalar 1994 yılında Başçı ve arkadaşları tarafından 106 sağlıklı bireyde, 1999 yılında ise Aynacıoğlu ve arkadaşları tarafından 404 bireyde yapılmış olup her iki çalışmada da yavaş metabolizmadan sorumlu olan CYP2C19*2/*2 mutasyonunun sıklığı yaklaşık % 1 bulunmuştur (194,195). CYP2C19 alel frekansını incelediğimizde, Aynacıoğlu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada CYP2C19*1,*2 alel sıklıklarının sırasıyla Türklere % 87,5, % 12,1, Hollandalılarda % 86,4, % 13,3 olarak rapor etmişlerdir (195). Avrupa toplumlarında yapılan çalışmalara baktığımızda da, 328 sağlıklı gönüllü Alman'da yapılan bir çalışmada CYP2C19*2/*2 sıklığının % 4,27, 360 sağlıklı gönüllü İtalyan'da yapılan çalışmada ise söz konusu mutasyonun sıklığının % 1,7 olarak bulunduğu bildirilmiştir (196). Bir başka çalışmanın sonucunda da CYP2C19 enzimi bakımından beyazların % 2-3'ünün, siyahların % 4'ünün, Güneydoğu Asyalılar'ın ise % 10-25 kadarının zayıf metabolize edici bireylerden oluştuğu rapor edilmiştir (197). Bu tez çalışmasındaki CYP2C19 polimorfizmi ile ilgili bulgular, Türk toplumunda başçı ve arkadaşları, Aynacıoğlu ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalar ile uyumlu olarak bulunmuştur. Bu çalışmada 150 kontrolde CYP2C19*1/*1, CYP2C19*1/*2 ve CYP2C19*2/*2 genotip gruplarının sıklığını sırasıyla % 86,7, % 12,0 ve % 1,3 olarak bulduk. 200 hastalık grubu içinde CYP2C19*1/*1, CYP2C19*1/*2 ve CYP2C19*2/*2 genotip gruplarının sıklığını sırasıyla % 80,0, % 18 ve % 2,0 olarak bulduk. Bu tez çalışması, Türk toplumunda böbrek nakilli hastalarda *2 alelinin çalışıldığı ilk çalışma olması ile önemlidir. Miura M. ve arkadaşlarının 2006 yılında yaptığı çalışmada böbrek nakilli hastalarında CYP2C19*2 alelinin sıklığını % 6,8 olarak bulmuşlar (145). Katsakiori PF. ve arkadaşlarının çalışmasında da Yunan popülasyonunda böbrek nakilli hastalarda CYP2C19*2 alelinin sıklığını % 13,1 olarak bulunduğu belirtilmiştir (198). Çalışmamızda CYP2C19*2 mutant alel sıklığı Türk toplumunda yapılmış diğer çalışmaların sonuçları ile benzer olduğu ve bazı Avrupa toplumlarında yapılmış olan çalışmaların sonuçları ile birebir aynı olmasa da uyumlu olduğu görülmüştür.

MDR-1 geninin ürünü olan p-gp'nin ekspresyonu CsA ve FK506'nın emilimini, metabolizasyonunu ve bireyler arası gözlenebilen değişkenliği nasıl etkilediği konusunda tam bir görüşün olmadığını Akbaş HS. ve arkadaşları bildirmişlerdir (199). En sık görülen sessiz mutasyon MDR-1 C3435T ve MDR-1 G2677T (Ala893Ser) gen polimorfizmlerinin immüsupresif ilaçların farmakokinetiğini etkileyebileceği vurgulanmıştır (69). Bebek N. ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptığı bir çalışmada, 174 sağlıklı bireyde MDR-1 C3435T polimorfizmine bakmışlar. Genotip dağılımlarını % 28.2 CC, % 46.0 CT ve % 25.8 TT olarak bulmuşlar. Alel dağılımının % 51'inin C ve % 49'unun T alelinin oluşturduğunu belirtmişlerdir (200). Fromn ve arkadaşlarının 2002 yılında yaptığı bir çalışmada sessiz C3435T polimorfizminin, beyaz ırkta barsak p-gp seviyeleri ile bağlantılı olarak bulunduğunu belirtmişlerdir. CC genotipine sahip bireylerde, TT genotipine (p=0.056) sahip olanların ince barsaklarında olandan yaklaşık olarak iki kat p-gp ekspresyonuna sahip olduklarını belirtmişlerdir (201). Kaya ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, C3435T polimorfizmi için 62 bireyin % 14'ü homozigot olduğunu göstermişlerdir. CC genotipi için % 52 'si heterozigot ve TT genotipi için % 34 'ü homozigot olarak belirlenmiştir. Türk toplumunda , C aleli % 40 ve T alelinin % 60 olduğunu belirtmişlerdir. G2677T polimorfizmin ise Türk popülasyonunda GG genotipi için % 77 homozigot T genotipi için % 8 heterozigot ve TT genotipi için % 15 homozigot bulunmuştur (202). İncelenen Türk popülasyonunda C alel insidansı %40, T alel insidansı % 60 olduğunu vurgulamışlardır. Şimdiye kadar incelenmiş diğer popülasyonlara kıyasla farklı popülasyonlar arasında genotip ve alel frekansları bakımından belirgin farklar olduğunu, Türk popülasyonunda C alel sıklığı Afrika popülasyonlarına kıyasla çok düşük olduğu (Kenya % 83, Afrikan Amerikan % 84, Sudan % 73, Gana % 83); fakat diğer Beyaz ırk / Asya popülasyonları ile benzer olduğunu göstermişlerdir (İngiliz beyaz ırk % 48, Portekizliler % 43, Güneybatı Asyalılar % 34, Çinliler % 53, Filipinliler % 59, Suudi Arabistanlılar % 55, Japonlar % 51, Almanlar % 46-52) (202). Kaya ve arkadaşlarının çalışmasında incelenen Türk popülasyonunda, G alel frekansının diğer incelenen popülasyonlardan (Almanlar ve Japonlar) çok daha yüksek olduğunu bulmuşlardır (202). Bu tez çalışmasında da sağlıklı popülasyonda C3435T polimorfizmine ait genotip bulguları Bebek N. ve arkadaşlarının bulguları ile uyumlu bulunmuştur. Bu çalışmada C3435T genotip dağılımı CC için % 36.7, CT için % 43.3 ve TT için % 20.0 olarak bulunmuştur. Alel sıklığı ise C aleli için % 58.3 ve T aleli için % 41.7 olarak belirlenmiştir. Bu bulgular C aleli bakımından Beyaz ırk ve asya

toplumundaki bulgular ile de uyumludur. G2677T genotip dağılımı GG için % 41.3, GT için % 32.0 ve TT için % 26.7 olarak bulunmuştur. Alel sıklığı ise G aleli için % 57.3 ve T aleli için % 42.7 olarak belirlenmiştir. Bu tez çalışmasında da Kaya ve arkadaşlarının bulguları ile uyumlu olarak G2677T polimorfizminde G alel oranı daha yüksek bulunmuştur.

Miao LY. ve arkadaşlarının MDR-1 C3435T ve MDR-1 G2677T gen polimorfizmlerinin immüsupresif ilaçların farmakokinetiğini etkileyebileceğini belirtmişlerdir (169). Miao LY. ve arkadaşları 2008 yılında yaptıkları çalışmada 105 sağlıklı birey ve 50 böbrek nakilli hastada C3435T polimorfizmine bakmışlar ve sağlıklı bireyler ve nakilli hastalar arasında genotip ve alel açısından bir fark bulmamışlardır. Bu tez çalışmasında da Miao LY. ve arkadaşlarının çalışması ile uyumlu olarak sağlıklı bireyler ve böbrek nakilli hastaların C3435T polimorfizminde genotip ve alel sıklığı açısından bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Günümüzde genetik polimorfizmlerin farmokokinetik üzerine etkisini araştıran çalışmalar çoğalmaktadır. Bu polimorfizmlerin ilaç yanıtını büyük ölçüde etkilediği ve klinikte hastalara uygulanan ilaçların doz ayarlanmasında yardımcı olabileceği görüşler önem kazanmaktadır (199). Zhao Y. ve arkadaşlarının çalışmasında, 137 CsA kullanan ve 30 FK506 kullanan böbrek nakilli hastalarda CYP3A5 polimorfizmlerinin 3, 6 ve 12.aydaki doz gereksinimlerinin ve konsantrasyon/doz oranlarının üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. CsA kullanan hastalarda CYP3A5*1 aleline sahip hastalar ile CYP3A5*3 aleline sahip hastalar arasında CsA konsantrasyon/doz oranlarında bir farklılık saptamamışlardır (53.97-61.12) ($p>0.05$). Buna karşılık FK506 kullanan hastalarda CYP3A5*1 aleline sahip hastalar ile CYP3A5*3 aleline sahip hastalar arasında FK506 konsantrasyon/doz oranlarında farklılık saptamışlardır (77.53-153.63) ($p<0.05$). CYP3A5*1 aleline sahip hastalara CYP3A5*3 aleline sahip hastalardan daha yüksek FK506 doz verildiği (0.059-0.034) saptanmıştır (87). Başka bir çalışma olan Ashavaid T. ve arkadaşlarının çalışmasında da, 56 CsA kullanan ve 44 FK506 kullanan böbrek nakilli hastalarda CYP3A5 polimorfizmlerinin 6.gündeki doz gereksinimlerinin ve konsantrasyon/doz oranlarının üzerindeki etkilerine bakmışlar ve CsA kullanan hastalarda CYP3A5*1 aleline sahip hastalar ile CYP3A5*3 aleline sahip hastalar arasında CsA konsantrasyon/doz oranlarında bir farklılık saptamamışlardır ($p=0.357$). FK506 kullanan hastalarda ise CYP3A5*1 aleline sahip hastaların konsantrasyon/doz oranlarının CYP3A5*3 aleline sahip hastaların konsantrasyon/doz oranlarından daha

düşük bulmuşlardır ($p=0.011$) (193). Ashavaid T. ve arkadaşlarının çalışmasında CYP3A4 polimorfizmi ve doz gereksinimlerinin ve konsantrasyon/doz oranlarının üzerindeki etkilerine de bakmışlar ve CYP3A4 polimorfizmi ve kalsinörin inhibitörlerinin konsantrasyon/doz oranları arasında bir fark bulmamışlardır (193). Singh R. ve arkadaşlarının çalışmasında 224 CsA kullanan ve 73 FK506 kullanan böbrek nakilli hastalarda 1. ve 3. aylarda CYP3A5, CYP3A4 polimorfizmlerinin kalsinörin inhibitörlerinin farmakokinetiği üzerine etkilerine bakmışlar. CsA kullanan hastalarda CYP3A5*1 aleline sahip hastalarda hem CsA hem de FK506 konsantrasyon/doz oranlarını CYP3A5*3 aleline sahip hastaların konsantrasyon/doz oranlarından daha düşük bulmuşlardır [(CsA 1. ay $p=0.037$, 3. ay $p<0.001$) (FK506 1. ay $p<0.001$, 3.ay $p<0.001$)]. Buna karşılık CYP3A4 polimorfizmi ve kalsinörin inhibitörlerinin farmakokinetiği üzerinde bir etki gözlenmemiştir ($p>0.05$) (203). Bu tez çalışmasında da 100 CsA kullanan ve 100 FK506 kullanan böbrek nakilli hastaların CYP3A5, CYP3A4 polimorfizmleri bu ilaçların kan düzeyi/doz oranlarının etkileri karşılaştırılmıştır. Zhao Y. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya paralel olarak bu çalışmada da CsA kullanan hasta grubunda CYP3A5 genotipleri arasında kan düzeyi/doz oranlarında ve hastalara verilen CsA dozları açısından bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Aynı zamanda bu tez çalışmasındaki bu sonuç Ashavaid T. ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmadaki elde ettikleri sonuçlar ile de uyumlu bulunurken, Singh R. ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmadaki CYP3A5 genotipleri ile CsA konsantrasyon/doz oranları arasındaki sonuç ile farklı bulunmuştur. Bu bulgular göz önüne alındığında, CYP3A5 genotipleri ve kan düzeyi/doz arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmaların birbirinden farklı çıkmasının sebebi toplumlar arası genetik farklılıklar ve bireylerin ilaçlara verdiği yanıtın değişkenliğinden kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Bu tez çalışmasında FK506 kullanan hasta grubunda Zhao Y. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya paralel olarak CYP3A5 genotipleri arasında kan düzeyi/doz oranlarında ve hastalara verilen FK506 dozları açısından fark bulunmuştur. Nakil sonrası 3.gün, 1.ay, 3.ay ve 6. aylarda CYP3A5*1 aleline sahip hastalarda FK506 kan düzeyi/doz oranlarının CYP3A5*3 aleline sahip hastaların kan düzeyi/doz oranlarından daha düşük bulunmuştur [CYP3A5*1 aleli için 3. gün:101.57, 1.ay:100.23, 3.ay:82.54, 6.ay:95.33-CYP3A5*3 aleli için 3. gün:160.45, 1.ay:153.75, 3.ay:164.74, 6.ay:134.83 ($p=0.003$, $p=0.035$, $p=0.0001$, $p=0.04$)]. CYP3A5*3 aleline sahip hastalar CYP3A5*1 aleline sahip hastalardan daha düşük FK506 dozlarına gereksinim duydukları

saptanmıştır. Bu tez çalışmasındaki bu verilerin Türk toplumunda böbrek nakilli hastalara ait CYP3A5 polimorfizmi ve kalsinörün inhibitörlerinin farmakokinetiğine ait ilk bilgiler olmakla önem kazandığını düşünmekteyiz.

Bu tez çalışmasında CYP3A4 polimorfizmi ve CsA doz gereksinimlerinin ve kan düzeyi/doz oranlarının üzerindeki etkisine bakıldığında, Ashavaid T. ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile uyumlu olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p>0.05$). Yine bu tez çalışmasında CYP3A4 polimorfizmi ve FK506 doz gereksinimlerinin ve kan düzeyi/doz oranlarının üzerindeki etkisine bakıldığında, Singh R. ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile uyumlu olarak, nakil sonrası 3.ay, 6.ay, 12.aylarda CYP3A5*1 aleline sahip hastalarda FK506 kan düzeyi/doz oranlarının CYP3A5*3 aleline sahip hastaların kan düzeyi/doz oranlarından daha düşük bulunmuştur ($p=0.04$, $p=0.002$, $p=0.0001$).

Miura M. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, PPI ilaçlarından Lansoprazolon'nun kullanımının plazma FK506 konsantrasyonunu etkileyebileceği bildirilmiştir (145). Özellikle zayıf metabolize edici genotip olan CYP2C19*2*2'ya sahip hastalarda CYP3A4 ile aynı katalitik aktiviteye sahip olan CYP3A5 enzimi önemli olduğunu belirtmişlerdir. CYP3A5 polimorfizmlerinin FK506 ve lansoprazolon arasında ilaç etkileşimlerini etkileyebileceğini vurgulamışlardır. Yapmış oldukları çalışmada lansoprazolon kullanan hasta grubunda CYP2C19*2*2 ve CYP3A5*3*3 genotiplerini bir arada taşıyan hastaların CYP2C19*1*2 ile CYP3A5*3*3 genotiplerini taşıyan hastalardan daha az FK506 doz gereksinimi olduğunu saptamışlardır (145). Ayrıca PPI'lerinden olan diğer bir ilaç Rabeprazolon ile böyle bir etki saptamamışlardır (145). Bu çalışmada ise Miura M. ve arkadaşlarının çalışmasına benzer olarak, lansoprazolon kullanan grupta CYP2C19*1*1/CYP3A5*1*3 genotipli hastaların FK506 kan düzeyleri CYP2C19*1*1/ CYP3A5*1*1 ve CYP2C19*1*1/CYP3A5*3*3 genotipli hastaların FK506 kan düzeylerinden daha yüksek saptanmıştır ($p=0.0001$). Miura M. ve arkadaşlarının çalışmasından farklı genotip grupları arasında bulunmasının sebebi olarak bu Türk toplumunda ve bu çalışmada CYP2C19*2*2 ve CYP3A5*3*3 genotiplerinin sıklığının az olması ile ilgili olabileceğini düşünmekteyiz. Bu tabloya karşın bu gruplarda FK506 kan düzeyinin yüksek olması ileri düzeyde araştırmaları gerektirmektedir.

CYP3A enzimlerinin polimorfizmlerinin ilaç farmakokinetiğinde etkileri olduğu kadar MDR-1 genlerindeki polimorfizmlerde önemlidir. Eichelbaum ve arkadaşları CsA

ve FK506 kullanılan böbrek nakilli hastalarda MDR 1 polimorfizminin doz ihtiyacı kan konsantrasyonları ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (204). Von Ahsen ve arkadaşları MDR-1 C3435T polimorfizminin CsA üzerine etkisini 124 böbrek nakilli hastanın konsantrasyonları ve genotipleri arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır ve MDR-1 geninin 3435 pozisyonunda CC, CT ve TT genotiplerinde hiçbir CsA farkı bulamamışlardır (205). FK506 tüm organ nakillerinde geniş bir şekilde kullanılmaktadır. CsA'ya benzer olarak terapatik indeksi vardır. Terapatik ilaç konsantrasyonları için doz ihtiyacı söz konusudur. Montenegro Soria MAL. ve arkadaşlarının 2010 yılında yaptıkları bir çalışmada, FK506 kullanan 35 böbrek nakilli hastanın MDR-1 C3435T ve G2677T polimorfizimleri ile FK506 farmakokinetiği arasındaki ilişkiyi incelemişler. CC homozigot normal genotipe sahip hastaların CT ve TT genotipe sahip hastalardan daha fazla FK506 dozuna gereksinim duyduklarını göstermişlerdir (206). Aynı çalışmada G2677T polimorfizmi ile FK506 farmakokinetiği arasında bir ilişki saptamamışlardır (206). Akbaş SH ve arkadaşlarının çalışmasında Türk toplumunda MDR1 gen polimorfizminin FK506 farmakokinetiği ile etkilerini araştırmışlar ve nakil sonrası 1.ay 6.ay ve 12.aylarda 3435 TT genotipindeki hastalar diğer CC ve CT genotipindeki hastalara göre düşük FK506 dozlarına gereksinim gösterdiklerini, ve bu hastaların FK506 kan düzeyi/doz oranları CC veCT genotipe sahip hastaların kan düzeyi/doz oranlarından anlamlı derecede yükseklik gösterdiğini saptamışlardır ($p<0.05$) (199). Bu tez çalışmasında da Von Ahsen ve arkadaşlarının çalışması ile uyumlu olarak MDR-1 C3435T polimorfizminin CsA üzerine etkisini 100 böbrek nakilli hastanın konsantrasyonları ve genotipleri arasındaki ilişkiyi araştırılmış MDR-1 geninin 3435 pozisyonunda CC, CT ve TT genotipleri arasında CsA kan düzeyi/doz oranlarında bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

FK506 farmakokinetiği ve 3435 polimorfizmine ait genotipler arasında Akbaş SH ve arkadaşlarının çalışması ile uyumlu olarak 3.günde, 15.günde CC genotipli hastaların FK506 kan düzeyi/doz oranları CT ve TT genotipli hastaların kan düzeyi/doz oranlarında daha düşük bulunmuştur ($p=0.002$). Wang Y. ve arkadaşlarının 2009 yılında yaptıkları bir çalışmada 112 böbrek nakilli hastada MDR1 polimorfizminin nakil sonrası erken dönemde CsA farmakokinetiği ile ilişkisine bakmışlar ve 2677 TT genotipini taşıyan hastaların GG ve GT genotipini taşıyan hastalardan daha düşük dozlara ihtiyaç olduğunu saptamışlardır ($p<0.05$) (207). Bu tez çalışmasında da Wang Y. ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma ile bire bir uyumlu olmasada nakil sonrası geç

dönemde 2677 pozisyonundaki polimorfizmin CsA üzerine etkisine bakıldığında TT genotipli hastaların CsA kan düzeyi/doz oranı GT, GG genotipli hastalardan daha yüksek ve TT genotipli hastalar verilen dozlar ise daha düşük bulunmuştur (p=0.004).

Zhang J. ve arkadaşlarının çalışmasında özellikle FK506'nın metabolizmasında etkili olan CYP3A5*3 ve CYP3A5*1 non-ekspressör veya ekspressör alellere sahip olan hastalarda benzer dozlar verildiğinde doz aşımından allograft toksisite ya da az doz da rejeksiyon ile sonuçlanabileceğini açıklamışlardır (190). Singh R. ve arkadaşlarının çalışmasında CYP3A5*1 alelini taşıyan hastalarda düşük doz ayarlı CsA/FK506 konsantrasyonları ve yüksek allograft rejeksiyon atakları ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. CYP3A*1 alelini taşıyan hastalarda düşük doz ayarlı CsA/FK506 konsantrasyonlarda daha yüksek ilaç dozuna ihtiyaç olduğu gösterilmiştir (203). Yapılan çalışmalarda kronik rejeksiyon sıklığı ile hastaların farmakokinetik parametreleri arasında bir ilişkinin olduğu ve bu da özellikle CsA kullanan hastalarda kan düzeylerinin % 20'den fazla değişkenlik göstermesi ile açıklanmıştır (87,208). Bu tez çalışmasında da Singh R. ve arkadaşlarının bulguları ile uyumlu olarak CsA kullanan grup içinde genotip ve akut rejeksiyona bakıldığında, CYP3A5*1*1 genotipine sahip hastaların akut rejeksiyon oranı (% 7.0) CYP3A5*3*3 genotipine sahip hastaların akut rejeksiyon geçirme oranından (% 1.0) daha fazla bulunmuş olup istatistiksel açıdan bu fark anlamlı çıkmıştır (p=0.002). Bu çalışmada kronik rejeksiyon ve CYP3A5 genotiplerini karşılaştırdığımızda Zhao Y. ve arkadaşlarının bulguları ile uyumlu olarak CsA kullanan hastalardan kronik rejeksiyon geçirmiş 13 hastanın 8 (% 8.0)'i CYP3A5*1*1, 3 hasta (% 3.0) CYP3A5*1*3 ve 3 hasta (% 3.0) CYP3A5*3*3 genotipine sahip olduğu belirlenmiştir.

CYP3A5 aracılı etkilerde bireyler arası farklılıklar; genetik faktörler, yaş, hastalık, ilaç tedavileri ve etkileşimleri, beslenme gibi epigenetik faktörler tarafından meydana gelmektedir (209). Omari AA. ve arkadaşlarının 2007 yılında yaptığı bir çalışmada CYP3A5 enzimlerinin genetik çeşitliliğinde CYP3A*1 alelinin sıklığının bazı toplumlarda fazla görülmesinin sebebi olarak hastalık etyolojisi ile bağıntılı olduğunu vurgulamışlardır. Özellikle CYP3A5*1 aleli tuza bağımlı hipertansiyon hastalarında yüksek oranda görüldüğünü belirtmişlerdir. Afrkan-Amerikalı toplumda tuza bağımlı hipertansiyon sıklığı çok fazla olup CYP3A5*1 alelide bu toplumlarda fazla bulunmaktadır (210). Bu çalışmada, primer nefroskleroz, amiloidoz, kronik glomerulonefrit, tubulointersiyel nefrit, diyabetik nefropati ve sebebi bilinmeyen

primer tanı ve SDBY'ne girmiş, böbrek nakli olmuş hastaların CYP3A5'in farklı genotipleri ile arasındaki ilişkiye bakıldığında kronik glomerulonefritte CYP3A5*1*1 genotip oranının daha fazla olduğu ama aradaki farkın anlamlı olmadığı bulunmuştur ($p>0.05$). Hastalık etyolojisi ile yapılan çalışmalarda her hastalık grubundan fazla miktarda sayı ile çalışılması gerekliliği ortaya çıkmaktadır.

Allograft fonksiyonun değerlendirilmesinde serum kreatinin seviyelerinin önemli olduğu bilinmektedir. Ferraris JR. ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada nakil sonrası erken dönem ve sonrasında düzenli aralıklarla serum kreatinin seviyeleri takip edilmiş, kreatinin seviyeleri ile CYP3A5 genotiplerinin arasındaki ilişkiye bakıldığında bir fark gözlenmemiştir (211). Akbaş SH. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da 1.ay, 6.ay ve 12.ay da MDR-1 C3435T genotiplerinde serum kreatinin düzeylerine bakmışlar ve bir fark bulmamışlardır (199). Bu çalışmada da Ferraris JR. ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmaya benzer bir sonuç ile CYP3A5 genotipleri ve serum kreatinin seviyeleri arasında bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Akbaş SH ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma ile uyumlu olarak bu çalışmada da C3435T ve G2677T pozisyonundaki gen polimorfizmleri ile serum kreatinin seviyeleri arasında bir fark bulunmamıştır.

Sonuç olarak, bu tez çalışmasında sağlıklı bireylerde ve böbrek nakilli hastalarda birçok ilacın metabolizmasında rol alan CYP3A enzimleri ve taşınmasında önemli olan MDR-1 gen polimorfizmleri değerlendirilmiştir. Özellikle CYP3A enzimlerinin polimorfizminin tanımlanması, böbrek hastalarının kullandıkları kalsinörin inhibitörleri ile farmakokinetiğinin, klinik sonuçlar ile arasında korelasyonunun gösterilmesi açısından Türk toplumunda yapılan ilk çalışmadır. Başta ilaç metabolize eden enzimler olmak üzere taşıyıcı proteinlerin de polimorfizmlerinin aydınlatılması, bir bireyin ilaçlara bağlı yan etkilere yakalanma riskini en aza indirecek, kişiye özel tedaviler yer alacaktır. Bu çalışma ile hastaların hangi tedaviye yanıt vereceği, hangi ilaç yan etkisinin ortaya çıkma ihtimalinin güçlü olacağı konusunda klinisyenlere ışık tutması, rasyonel ilaç kullanımının gerçekleşmesine temel oluşturması beklenmektedir.

KAYNAKLAR

1. Titiz Mİ.: Renal Transplantasyona Pratik Yaklaşım. İstanbul, Bölüm 1: 2004;11-12.
2. Vural A.: Kronik böbrek yetmezliği ve tedavisi.: Koçer İH., Erikçi S., Baykal Y (eds), İç Hastalıkları Günleri III. GATA Basımevi, Ankara, 2002;339-358.
3. Andreoli TE., Carpenter CC.J., Plum F., Smith LT. Cecil essential of medicine, second edition, WB. Saunders Company, 1990;302-315.
4. Akoğlu E., Süleymanlar G.: Kronik Böbrek Yetersizliği, Temel İç Hastalıkları, Ankara: Güneş Kitapevi, 1996;769-776.
5. National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. Am J Kidney Dis, 2002;65:1-246.
6. Danovitch GM.: Böbrek Nakli El Kitabı. Tuncer Karpuzoğlu, çeviri editörü. Üçüncü baskı. Ankara: Güneş Kitapevi, 2003;1-16.
7. Gülay H.: Böbrek Nakline Hazırlık, Aktüel Tıp Dergisi, 1996;1:42.
8. Tokgöz B.: Kronik Böbrek Yetmezliğinde Etiyoloji, Türkiye Klinikleri J Int Med Sci, 2005;1(21):9-10.
9. Türk Nefroloji Derneği, Ulusal Kayıt Raporları, 2008.
10. Danovitch Handbook of kidney Transplantation Fourth edition, 2005;3.
11. Fritz Diekmann et all. İnfluence of sirolimus on proteinuria in de novo kidney transplantation, Nephrol Dial Transplant, 2007; 22: 2316-2321.
12. Greenberg A. Primer on Kidney Disease: Fourth Edition, 2005; 444-445.
13. Murray JE., Merrill JP. And Harrison JH.: Kidney transplantation between seven pairs of identical twins, Ann. Surgery, 1958;148:343.
14. Strom TB., Tilney NL.: Renal transplantation: Clinical aspects, in Brenner BM., Rector FJ. (eds): The Kidney. Philadelphia; WB. Saunders Company, 1986;1941-1976.
15. Stites DP., Terr AI., Parslow TG.: Clinical Transplantation, basic and Clinical Immunology, Eighth edition, 1994;744-763.
16. Kirkpatrick HC.: Transplantation immunology, JAMA. 1987; 258: 2993-3000.

17. Brostoff J., Male DK.: Clinical immunology. By mosby, an imprint of times mirror international publishers limited printed by grafos S.A. arte sobre papel, Barcelona, Spain, 1994;24-106.
18. Peakman M., Vergani D.: Transplantation, Basic and Clinical Immunology, 1997;147-160.
19. Sachs DH.: The major histocompatibility complex, in Paul W. (ed): Fundamental Immunology, New York, Raven Press, 1984;303-346.
20. Stites DP., Terr AI., Parslow TG.: Clinical Transplantation, basic and Clinical Immunology, Eighth edition, 1994;237-255.
21. Barry D Kahan and Claudio Ponticelli. Principles and Practice of Renal Transplantation, 2001;41-80.
22. Çarın M.: Transplantasyon İmmünolojisi, Aktüel Tıp Dergisi, 1996;1:33-37.
23. Bremier ME., Samuelson BE.: The specific distribution of glycolipid-based blood group A antigens in human kidney related to A1/A2, lewis, and secretor status of single individuals. Transplantation, 1986;42:88.
24. Akkoç N. And Scornic JC.: Intramolecular specificity of anti-HLA alloantibodies. Human Immunology, 1991;30:91.
25. Olerup O. and Zetterquist H.: HLA-DRB1*01 subtyping by allele-specific PCR amplification: a sensitive, specific and rapid technique, Tissue Antigens, 1991;37: 2197.
26. Christopher FB., Karen AB., Paul WN., Alan ML., John M., George EP., Gilbert R., Charles FS., III, Bradley AW., Mark IA., Thomas SH., And Nic M. Long term graft survival is improved in cadaveric renal retransplantation by flow cytometric crossmatching. Transplantation, 1998;66:1827-1832.
27. Abbas AK., Lichtman A.H. Cellular and Molecular Immunology, Fifth Edition. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005:1-15.
28. Banas B., Barat a., Mampaso F., De Lema GP. Introduction: The immune system. Renal transplant Rejection. A Practical Guide. 2007;9-17.
29. Hamid R. The cell as a bridge between innate and adaptive immune systems: implications for the kidney. Kidney International, 2002;61:1935-1946.
30. Kubly J. Generation of B cell and T cell responses. Immunology, third edition. 1997;555-571.

- 31.**Charles AJ., Paul T., Mark W., Donald JC. The recognition of antigen. Fourth Edition New York, 1999; 79-163.
- 32.**Abbas A.K., Lichtman A.H. Cellular and Molecular Immunology Fifth Edition. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005;16-39.
- 33.**Francis D.M.A., Dumble L.J., Bowes L., G.J.A. Clunie, and I.M. Macdonald.: Adverse Influence of Recipient Lymphoid Resistance to In Vitro Immunosuppression on the Outcome of Kidney Transplants, Transplantation. 1988; 46: 853-857.
- 34.**Dyer P., Middleton D.: Histocompatibility testing a practical Approach. 1992; 3-8.
- 35.**Weir DM., Stewart J.: Immunology, seventh edition. 1993; 8.
- 36.**IUIS/WHO Subcommittee on CD Nomenclature CD antigens 1993: an updated nomenclature for clusters of differentiation on human cells. Bulletin of the world Health Organization 1994; 72: 807-808.
- 37.**Abbas AK, Lichtman AH. Temel İmmünoloji. İmmün Sistem İşlev ve Bozuklukları.Yıldız Camcıoğlu, Günnur Deniz, editörler. 1.baskı. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık; 2007; 63-82.
- 38.**Abbas AK, Lichtman AH. Temel İmmünoloji. İmmün Sistem İşlev ve Bozuklukları.Yıldız Camcıoğlu, Günnur Deniz, editörler. 1.baskı. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık; 2007; pp. 1-20.
- 39.**Kraal G and RE Mebius. High endothelial venules: lymphocyte traffic control and controlled traffic. Adv Immunol 1997; 65: 347-395.
- 40.**Robey E, Schlissel M. Lymphocyte development. Curr Opin Immunol, 2003; 15: 155-157.
- 41.**Abbas AK, Lichtman AH. Temel İmmünoloji. İmmün Sistem İşlev ve Bozuklukları.Yıldız Camcıoğlu, Günnur Deniz, editörler. 1.baskı. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık; 2007; pp. 105-121.
- 42.**Peakman M., Vergani D. The human leukocyte antigen. Basic And Clinical Immunology, 1997; 54-57.
- 43.**Trowsdale J., Campbell RD. The 12th International MHC map genetic diversity of HLA, 1997; 8.
- 44.**Bender K. The HLA system medical services industry and investment Ltd, Biotest Diagnostics 1991;19.

- 45.**Rood JJ van., Emis JG., Leeuwen A van. Leukocyte antibodies in sera pregnant women. *Nature*. 1958;1881:1735.
- 46.**Abbas AK., Lichtman AH., Pober JS.: The Major histocompatibility complex. *Cellular and molecular immunology*, third edition, 1997; 103.
- 47.**Kuby J. Major histocompatibility complex. *Immunology* third edition, USA 1997; 224–240.
- 48.**Abbas AK., Lichtman AH., Pober JS.: The Major histocompatibility complex. *Cellular and molecular immunology*, second edition, 1994; 104-114.
- 49.**Stites DP., Terr AI., Parslow TG.: Antigen presentation and The Major Histocompatibility Complex. *Basic and Clinical Immunology*, eighth edition. 1994;58-65.
- 50.**Kelly AP., Monaco JJ., Cho S., Trowsdale JA.: New human HLA class II locus, DM, 1991; 353571: -573.
- 51.**Roitt. The recognition of antigen. *Roitt's Essential Immunology*, ninth edition. 1997; 72-79.
- 52.**Stites DP., Terr AI., Parslow TG.: Cells of the immune response: Lymphocytes and Mononuclear Phagocytes. *Basic and Clinical Immunology*, seventh edition. 1991;61-68.
- 53.**Weir DM., Steward J.: Antigen processing and presentation. *Immunology*, seventh edition. 1993;12:124.
- 54.**Abbas AK, Lichtman AH. Temel İmmünoloji. İmmün Sistem İşlev ve Bozuklukları. Yıldız Camcıoğlu, Günnur Deniz, editörler. 1.baskı. İstanbul Medikal Yayıncılık, 2007;41-61.
- 55.**Madden DR.: The three dimensional structure of peptide MHC complexes. *Ann Rev Immunol*,1995; 13: 587-622.
- 56.**Male et al.: Response to antigen: processing and presentation. *Immunology*, seventh edition. 2010;40-48.
- 57.**Sayegh MH, Turka LA. The role of T cell costimulatory activation pathways in transplant rejection. *N Engl J Med*,1998; 338: 1813-1821.
- 58.**Craft M. Activation of naive memory and effector T cells. *Current Opin. Immunol*. 1994;6-431.
- 59.**Robey E. And JP Allison, T cell activation, integration of signals from antigen receptors and costimulatory, molecules. *Today, Immunol*, 1995; 16: 306.

- 60.**Gillis S., MM Ferm, W Ou and KA Smith, T cell growth factor: parameters of production and a quantitative microassay for activity, *J. Immunol*, 1978;120-202.
- 61.**Abbas AK, Lichtman AH. Temel İmmünoloji. İmmün Sistem İşlev ve Bozuklukları.Yıldız Camcıoğlu, Günnur Deniz, editörler. 1.baskı. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık; 2007;83-104.
- 62.**Danovitch GM.: Böbrek Nakli El Kitabı. Tuncer Karpuzoğlu, çeviri editörü. Üçüncü baskı. Ankara: Güneş Kitapevi, 2003; pp.17-37.
- 63.**Abbas AK, Lichtman AH. Temel immünoloji. İmmün Sistemin İşlev ve Bozuklukları. Yıldız Camcıoğlu, Günnur Deniz, editörler. 1. baskı. İstanbul, İstanbul Medikal Yayıncılık; 2007;177-192.
- 64.**Titiz İ. Renal Transplatasyona Pratik Yaklaşım. İkinci baskı.Bölüm (1) 2004;1:15-52.
- 65.**Braun WE. Renal transplantation: basic concepts and evolution of therapy. *J Clin Apher*, 2003;18:141-152.
- 66.**Solez K, Colvin RB, Racusen LC, Haas M, Mengel M, Halloran PF, Baldwin W and at al. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant* 2008; 8: 753-760.
- 67.**Mathew R. Weir, Medical Management of Kidney Transplantation. 1.basım Philadelphia, Lipincot Williams&Wilkins, 2005;153-187.
- 68.**Cecka JM, Terasaki PI Early rejection episodes. *Clinical Transplants*, Terasaki PI, UCLA Tissue Typing Laboratory Los Angeles, 1989; pp 425.
- 69.**AK Abbas, AH Lichtman, JS Pober; Transplantation immunology, celluler and moleculer immunology Fourth Edition, 2000;363-383.
- 70.**Sarwal MM, Jani A, Chang S, et all. Granulysin expression is a marker for acut rejection and steroid resistance in human renal transplantation *Human Immunology*, 2001; 62 (1) : 21 -31.
- 71.**Satterwhite T, Chua MS, Hsieh SC et all. Increased expression of cytotoxic effector molecules: different interpretations for steroid-based and steroid-free immunosuppression. *PediatricTransplant*, 2003;7(1): 4-6.
- 72.**Singh N, Pirsch J, Samaniego M. Antibody-mediated rejection: treatment alternatives and outcomes. *Transplant Rev*, 2009; 23: 34-36.

- 73.**Colvin BR. Antibody-Mediated Renal allograft rejection diagnosis: and pathogenesis. . J Am Soc Nephrol, 2007;18: 1046-1056.
- 74.**Bickerstaff A, Pelletier R, Wang J.J, Nadasdy G, et al. An Experimental model of acute humoral rejection of renal allograft associated with concomitant cellular rejection. J Am Soc Nephrol,2008; 173:347-357.
- 75.**Mauiyyedi S., Crespo M, Collins AB, et al. Acute humoral rejection in kidney transplantation: II.Morphology; immunopathology, and pathology classification. J Am Soc Nephrol, 2002;13: 779-787.
- 76.**Feucht HE. Significance of donor-specific antibodies in acute rejection. Transplant proc, 2005;14:592-598.
- 77.**Braun WE, Yadlapalli NG. The spectrum of long-term renal transplantation: outcomes, complications and clinical studies. Transplantation Rev, 2002;16:22-50.
- 78.**Meier-Kriesche HU, Ojo AU, Hanson JA, et al. Increased impact of acute rejection on chronic allograft failure in recent era. Transplantation, 2000;(70):1089-1100.
- 79.**Haval Shirvan. Chronic allograft rejection, Transplantation,1999;68:715-726.
- 80.**Azuma H Tilney NL. Chronic graft rejection Curr Opin Immunol, 1994;6:70.
- 81.**Güllülü M., Kahvecioğlu S.: Böbrek nakli sonrası erken dönem. Türkiye Klinikleri J Surg Med Sci, 2006; 2 (21):48-53.
- 82.**Şevki Sert, editör.: Böbrek Transplantasyonu El Kitabı, 2000;147-161.
- 83.**Titiz İ. Renal Transplantasyona Pratik Yaklaşım. Üçüncü baskı. 2010;Bölüm 1:105-228.
- 84.**Danovitch GM.: Böbrek Nakli El Kitabı. Tuncer Karpuzoğlu, çeviri editörü. Üçüncü baskı. Ankara Güneş Kitapevi, 2003; pp.62-110.
- 85.**Halloran PF.: Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. N Engl J Med, 2004; 351: 2715-2729.
- 86.**Emin Kansu.: İmmüno-supresif ajanların genel özellikleri ve etki mekanizmaları. Ankem Dergisi, 2002; 16 (3):194-198.
- 87.**Zhao Y., Song M., Guan D., Bi S., Meng J., Li Q., and Wang W.: Genetic Polymorphisms of CYP3A5 Genes and Concentration of the Cyclosporine and Tacrolimus. Transplantation Proceedings, 2005;37:178-181.

- 88.**Halloran PF. Mechanism of action of the calcineurin inhibitors. *Transplant Proc*,2001;33 (7-8):3067-3069.
- 89.**Halloran PF., Kung L, Noujaim J. Calcineurin and the biological effect of cyclosporine and tacrolimus. *Transplant Proc*,1998;30 (5):2167-2170.
- 90.**Calne RY., Rolles K., White DJG., et al.: Cyclosporin a initially as the only immunosuppressant in 36 recipients of cadaveric organs: 32 kidney, 2 pancreas and 2 livers. *Lancet*, 1979;2:1033.
- 91.**Konuk N.: Akut Graft Versus Host hastalığı, *Klinik Gelişim*, 1997;10:57-59.
- 92.**Roy First M.: An update on new Immunosuppressive Drugs undergoing preclinical and clinical trials: Potential applications in organ transplantation. *American journal of Kidney diseases*, 1997;29 (2):303-217.
- 93.**Stuart LS. And Gerald RC.: The mechanism of action cyclosporine A and FK506. *Immunology Today*, 1992;13:137-141.
- 94.**Denton MD, Magee CC, Sayegh MH. Immunosuppressive strategies in transplantation. *Lancet*,1999; **353**: 1083-1091.
- 95.**Ellion GB., Callahan S., Bieber S., Hitchings GH., and Rundles RW.: A summary of investigations with 6-(1-methyl-4-nitro-1H-imidazol-5-yl) thio purine (BW 57-322) *Cancer Chemother Rep*, 1961;14:93.
- 96.**Murray JE., Merrill JP., Harrison JH., Wilson RE., and Dammin GJ.: Prolonged survival of human-kidney homograft by immunosuppressive drug therapy. *N Engl J Med*, 1963;263:1315.
- 97.**Srinivas TR., Kaplan B., Meier-Kriesche HU.: Mycophenolate mofetil in solid-organ transplantation. *Expert Opinion*2003; 4: 2325-2345.
- 98.**Fulton B., and Markham A.: Mycophenolate Mofetil. A review of its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic properties and clinical efficacy in renal transplantation. *Drugs*, 1996;51 (2):278-298.
- 99.**Shaw LM., Sollinger HW., Halloran P., Morris RE., Yatscoff RW., Ransom J., Tsina I., Keown P., Holt DW., Lieberman R., Jaklisch A. And Potter J.: Mycophenolate mofetil: A report of the consensus panel. *Therapeutic Drug Monitoring*, 1995;17:690-699.
- 100.**Pellegrino B., Mancini MC.: Immunosuppression. *Drug and diseases*, 2011;470-471.

- 101.**David NE., Pereira LM., Kakehashi E., Sumita NM., mendes MC. Et al.: The need of mycophenolic acid monitoring long term renal transplants. *Clin Transplant*, 2005; 19 (1):19-25.
- 102.**Auphan N., Didonato JA., Helmberg A., Rosette C., Karin M.: Immuno regulatory genes and immunosuppression by glucocorticoids. *Arch toxicol Suppl*, 1997; 19:87-95.
- 103.**Scheinman RI., Cogswell PC., Lofquist AK., Baldwin AS.: Role of transcriptional activation of I kappa B alpha in mediation of immunosuppression by glucocorticoids. *Science*, 1995; 270 (5234): 283-286.
- 104.**Karin M.: New twists in gene regulation by glucocorticoid receptor: is DNA binding dispensable. *Cell*, 1998; 93 (4):487-490.
- 105.**Tom SB., Melk A.: Immunosuppression in pediatric kidney transplantation. In: geary DF., Schaefer F., eds. *Comprehensive Pediatric Nephrology*, 2008; p.905-926.
- 106.**Nashan B.: Antibody induction therapy in renal transplant patients receiving calcineurin inhibitor immunosuppressive regimens a comparative review *BioDrugs*, 2005; 19: 39-46.
- 107.**Weimer R., Staak A., Susal C., Steller S., Yildiz S., Pelzl S., ve ark.: ATG induction therapy long-term effects on Th1 but not on Th2 responses. *Transpl Int*, 2005; **18**: 226-236.
- 108.**Brennan DC., Flavin K., Lowell JA., Howard TK., Shenoy S., Burgess S., et al. A randomized double-blinded comparison of Thymoglobulin versus Atgam for induction immunosuppressive therapy in adult renal transplant recipients. *Transplantation*, 1999; 67 (7):1011-1018.
- 109.**Schwartz SA.: Intravenous immunoglobulin treatment of immunodeficiency disorders. *Pediatr Clin North Am*, 2000; 47(6): 1355-1369.
- 110.**Schwartz SA.: Intravenous immunoglobulin (IVIG) for the therapy of autoimmune disorders. *J Clin Immunol*, 1990; 10: 81-89.
- 111.**Ayna TK., Çiftçi HŞ., Tozkır H., Gürtekin M., Çarın M.: İmmünespresif İlaçların Etki Mekanizmaları. *Gaziantep Tıp Dergisi*, 2009; 15 (3):42-47.
- 112.**Vondran FW., Timrott K., Tross J., Kollrich S., Schwartz A., Lehner F., et al. Impact of basiliximab on regulatory T-cells early after kidney transplantation: down-regulation of CD25 by receptor modulation. *Transpl Int*, 2009; 30:1-10.

- 113.** Salis P, Caccamo C, Verzaro R, Gruttadauria S, Artero M The role of basiliximab in the evolving renal transplantation immunosuppression protocol *Biologics* 2008; 2:175-188.
- 114.** Morales J., Bono MR., Fierro A., Iniguez R., Zehnder C., Roseblatt M, et Alemtuzumab induction in kidney transplantation: clinical results and impact on T-regulatory cells. *Transplant Proc*, 2008;40 (9):3223-8.
- 115.** Calne R, Moffatt SD., Friend PJ., Jamieson NV., Bradley JA., Hale G, et al: Campath IH allows low-dose cyclosporine monotherapy in 31 cadaveric renal allograft recipients. *Transplantation*, 1999;68 (10):1613-6.
- 116.** Becker YT., Becker BN., Pirsch JD., Sollinger HW.: Rituximab as treatment for refractory kidney transplant rejection. *Am J Transplant*, 2004;4 (6):996-1001.
- 117.** Johnson RW., Kreis H., Oberbauer Brattstrom C., Claesson K., Eris J.: Sirolimus allows early cyclosporine withdrawal in renal transplantation resulting in improved renal function and lower blood pressure. *Transplantation*, 2001;72:777-786.
- 118.** Podder H., Stepkowski SM., Napoli KL., Clark J., Verani RR., Chou TC. and et al.: Pharmacokinetic interactions augment toxicities of sirolimus/ cyclosporine combinations. *J Am Soc Nephrol*, 2001;12:1059-1071.
- 119.** MacDonald AS., RAPAMUNE Global Study Group. A worldwide, phase II/ I, randomized, controlled, safety and efficacy study of a sirolimus/ cyclosporine regimen for prevention of acute rejection in recipients of primary mismatched renal allografts. *Transplantation*, 2001;71 (2):271-280.
- 120.** Shefet D., BenDor I., Lustig S.: Sirolimus induced interstitial pneumonitis after renal transplantation. *Transplantation*, 2004;78 (6):950.
- 121.** Wadei H., Gruber SA., El-Amm JM., Garnick J., West MS., Granger DK., et al. Sirolimus induced angioedema. *Am J Transplant*, 2004;4 (6):1002-1005.
- 122.** Terasaki PI.: Humoral theory of transplantation. *Am J Transplant*, 2003;3 (6):665-673.
- 123.** Pascual J. Everolimus in clinical practice-renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant*, 2006;21:8-23.
- 124.** Pascual J, Boletis IN, Campistol JM. Everolimus (Certican) in renal transplantation: a review of clinical trial data, current usage and future

directions. *Transplant Rev*, 2006; 20: 1–18.

125. Nashan B.: The role of Certican (Everolimus, RAD) in the many pathways of chronic rejection. *Transplantation Proceedings*, 2001;33:3215-3220.

126. Kuhn B., Jacobsen W., Christians UB., Benet LZ., Kollman PA.: Metabolism of sirolimus and its derivative everolimus by cytochrome P450 3A4: insights from docking, molecular dynamics and quantum chemical calculations. *J Med Chem*, 2001;44 (12):2027-2034.

127. Mir S., Sözeri B., Kara OD., Toroslu ED.: The evaluation immunosuppressant drugs in renal transplantation: review. *Türkiye Klinikleri J Pediatr*, 2009;18 (4):305-312.

128. Mycek MJ., Harvey RA., Champe PC.: Lippincot's illustrated reviews: Pharmacology millennium edition, updated second edition, 2001;1-2.

129. Kayaalp SO.: İlaçların biyotransformasyonu. *Tıbbi Farmakoloji*, 2000;96-107.

130. Vural N.: Toksikoloji, 1996;299-301.

131. Kalow W.: Pharmacogenetics and pharmacogenomics. *The Pharmacogenomics Journal*, 2007; 6 (1):162-165.

132. Evans WE., Relling MV.: *Science*, 1999; 286:487-491.

133. Nebert DW., Adesnik M., Coon MJ., Estabrook RW., Gonzalez FJ., Guengerich FP., Gunsalus IC., Johnson EF., Kemper B., Levin W, et al.: The P450 gene superfamily: recommended nomenclature. *Annu Rev Biochem*, 1987; 6 (1): 1-11.

134. Hasler JA, Estabrook R, Murray M et al.: Human cytochromes P450. *Molecular Aspects of Medicine*, 1999; 20: 1-137.

135. Nelson DR., Koymans L., Kamataki T., Stegeman JJ., Feyereisen R., Waxman DJ., Waterman MR, Gotoh O, Coon MJ, Estabrook RW, Gunsalus IC, Nebert DW.: P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. , 1996;6 (1):1-42.

136. Omari AA., MS, and Murry DJ.: Pharmacogenetics of the Cytochrome P450 Enzyme System: review of Current Knowledge and Clinical Significance. *Journal of Pharmacy Practise*, 2007;20 (3):206-218.

137. Omura T.: Forty years of Cytochrome P450. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999; 266: 690-698.

- 138.**Shimada T., Yamazaki H., Mimura M., Inui Y. and Guengerich FP.: Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. *J Pharmacol Exp Ther*, 1994; 270: 414-423.
- 139.**Guengerich FP.: Cytochrome P-450 3A4: regulation and role in drug metabolism. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1999; 39:1-17.
- 140.**Keshava C., McCanlies EC., Weston A.: CYP3A4 Polymorphisms Potential Risk Factors for Breast and Prostate Cancer: A Huge Review. *American Journal of Epidemiology*, 2004;160:825-841.
- 141.**He W., and Li K.: Incidence of genetic polymorphisms involved in lipid metabolism among Chinese patients with osteonecrosis of the femoral head. *Acta Orthopaedica*, 2009; 80 (3):325-329.
- 142.**Nakajima M., Fujiki Y., MS., Kyo S., Kanaya T., Nakamura M., Miada Y., Tanaka M., Inoue M., and Yokoi T.: Pharmacokinetics of Paclitaxel in Ovarian Cancer Patients and genetic Polymorphisms of CYP2C8, CYP3A4, and MDR1. *I Clin Pharmacol*, 2005; 45: 674-682.
- 143.**Uwe C., Volker S., and Manuel H.: Functional interactions between P glycoprotein and CYP3A in drug metabolism. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol*, 2005; 1 (4):1-14.
- 144.**Büyükdoğan M., Boruban MC., Artac M., Demirel S.: Kolorektal Kanserli hastalarda Sitokrom P450 (CYP2C9 ve CYP2C19) Genetik polimorfizm sıklığı). *International Journal of hematology and Onkology*, 2009; 3 (19): 134-139.
- 145.**Miura M., Inoue K., Kagaya H., Satoh S., Tada H., Sagae Y., Habuchi T., And Suzuki T.: Influence of Rabeprazole and Lansoprazole on the Pharmacokinetics of Tacrolimus in Relation to CYP2C19, CYP3A5 and MDR1 Polymorphisms in Renal Transplant Recipients. *Biopharm. Drug Dispos.*, 2007; 28: 167-175.
- 146.**Kudzi W., Dodoo ANO., and Mills JJ.: genetic polymorphisms in MDR1, CYP3A4 and CYP3A5 genes in a Ghanaian population: a plausible explanation for altered metabolism of ivermectin in humans? *BMC Medical genetics*, 2010; 11: 111.
- 147.**Sailaja K., Surekha D., Rao DN., Raghunadharao D., Vishnupriya S.:

Association of MDR1 gene polymorphism (G2677T) with chronic myeloid leukemia. 2010; 2 (4): 17-21.

148. Wang J., Zeevi A., McCurry K., Schuetz E., Zheng H., Iacono A., McDade K., Zaldonis D., Webber S., Watanabe RM., Burckart GJ.: Impact of ABCB1 (MDR1) haplotypes on tacrolimus dosing in adult lung transplant patients who are CYP3A5 *3/*3 nonexpressors. *Transplant Immunology*, 2006; 15: 235-240.

149. Badyal DK, Dadhich AP. Cytochrome P450 and drug interactions. *Indian J Pharmacol*, 2001;33:248-59.

150. Durmaz R.: Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji. Nobel Tıp Kitabevi, 2001; s.242.

151. Klug SW., Cummings RM.: Concepts of Genetics, (C. Öner editör) Genetik Kavramlar. 2. baskı, Palme Yayıncılık, 2003; s578.

152. Bussey HI., Hoffman EW.: A prospective evaluation of therapeutic drug monitoring. *Ther Drug Monit*, 1983; 5(3):245-8.

153. Schütz E., Svinarov D., Shipkova M., Niedmann PD., Armstrong VW., Wieland E., Oellerich M.: Cyclosporin whole blood immunoassays (AxSYM, CEDIA, and Emit): a critical overview of performance characteristics and Comparison with HPLC. *Clinical Chemistry*, 1998; 44(10): 2158-2164.

154. Dietemann J., Berthoux P., Montchamp JPG., Batie M., Berthoux F.: Comparison of ELISA method versus MEIA method for daily practice in the therapeutic monitoring of tacrolimus. *Nephrol. Dial. Transplant*, 2001;16 (11): 2246-2249.

155. Westley IS., Taylor PJ., Salm P., Morris RG.: Cloned Enzyme Donor Immunoassay Tacrolimus Assay Compared With High-Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry and Microparticle Enzyme Immunoassay in Liver and Renal Transplant Recipients. *Therapeutic Drug Monitoring*, 2007;29 (5): 584-591.

156. Karahan GE, Seyhun Y, Oguz FS, Kekik C, Onal AE, Yazici H ve ark. Impact of HLA on the underlying primary diseases in Turkish patients with end-stage renal disease. *Ren Fail* 2009; **31**: 44-49.

157. Morales JM., Domingues-Gil B. Cardiovascular risk profile with the new immunospressive combinations after renal transplantation. *Journal of Hypertension*, 2005; 23 (9):1609-1616.

- 158.** Kasiske BL, Ballantyne CM. Cardiovascular Risk Factors Associated With immunosuppression in Renal Transplantation. *Transplantation Reviews*, 2002; 16(1):1-21.
- 159.** Eiam-Ong S, Sitprija V. Comorbidities in patients with end stage renal disease in developing countries. *Artif Organs*, 2002; 26: 753-765.
- 160.** Saidman S. Significance of anti-HLA and donor-specific antibodies in long-term renal graft survival. *Transplant Proc.* 2007;39(3):744-746.
- 161.** McKenna RM, Takemoto SK, Terasaki PI. Anti-HLA antibodies after solid organ transplantation. *Transplantation.* 2000;15;69(3):319-26.
- 162.** Mihaylova A, Baltadjieva D, Boneva P, Ivanova M, Penkova K, Marinova D, Mihailova S, Paskalev E, Simeonov P, Naumova E. Clinical relevance of anti-HLA antibodies detected by flow-cytometry bead-based assays--single-center experience. *Hum Immunol.* 2006 ;67(10):787-794.
- 163.** Smith RN, Kawai T, Boskovic S, Nadazdin O, Sachs DH, Cosimi AB, Colvin RB. Four stages and lack of stable accommodation in chronic alloantibody-mediated renal allograft rejection in *Cynomolgus* monkeys. *Am J Transplant.* 2008 ;8(8):1662-1672.
- 164.** Panigrahi A, Deka R, Bhowmik D, Tiwari SC, Mehra NK. Immunological monitoring of posttransplant allograft sensitization following living related donor renal transplantation. *Transplant Proc.* 2004;36(5):1336-1339.
- 165.** Yılmaz VT., Gürkan A., Süleymanlar İ., Dinçkan A., Koçak H., Ersoy F., Yakupoğlu G., Süleymanlar G.: Renal transplantasyonda idame immüno-supresif tedavi: Genel yaklaşımlar ve deneyimi. *Türkiye Klinikleri J Nephrol-Special Topics*, 2010;3(2):18-34.
- 166.** Arellano EM., Campistol JM., Oppenheimer F., Rovira J., and Diekmann F.: Sirolimus Monotherapy as maintenance immunosuppression: Single-Center Experience in 50 Kidney Transplant Patients. *Transplantation Proceedings*, 2007;39:2131-2134.
- 167.** Alexander S. Goldfarb-Rumyantzev, Smith L., Shihab F. S., Baird B. C., Habib A. N., Lin S., and Barenbaum L. L. Role of Maintenance Immunosuppressive Regimen in Kidney Transplant Outcome. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2006; 1: 563-574.

- 168.** Dietl KH.: For the European Renal Transplantation Study Group. Oral Dosing of Tacrolimus and Cyclosporine Microemulsion-Results From a Large Multicenter Study in Renal Transplantation. *Transplantation Proceedings*, 2002;34:1659-1660.
- 169.** Wayman M.R., Oniscu GC., Forsythe JLR., and Whitworth CE. Two-Year Outcome in Renal Allograft Recipients Comparing Neoral-Led With Tacrolimus-Led Therapy. *Transplantation Proceedings*, 2002; 34:1663-1665.
- 170.** Abou-Jaoude MM., Ghantous I., Almawi W. Y. Tacrolimus (FK506) versus cyclosporin a microemulsion (neoral) maintenance immunosuppression: effects on graft survival and function kidney transplantation (KT). *Molecular Immunology*,2003; 39:1095-1100.
- 171.** Isoniemi H., Nurmien M., Tikkanen MJ, Von Willebrand E., Krogerus L., Ahonen J., Eklund B., Hockerstedt K., Salmela K., Hayry P., Risk factors predicting chronic rejection of renal allografts *Transplantation*. 1994 57:68-72
- 172.** Lucan M., Iacob G., Lapușan C., Munteanu A., and Sirbu S. Ten Years of Cyclosporine Use in Renal Transplantation: A Single-Center Experience With 479 Renal Transplants. *Transplantation Proceedings*, 2004;36:177-180.
- 173.** Danovitch GM. *Böbrek Nakli El Kitabı*. Tuncay Karpuzoğlu, çeviri editörü. Üçüncü baskı. Ankara:Günes Kitapevi; 2003. pp.290-312.
- 174.** Kahan BD, Rajagopalan PR, Hall M. Reduction of the occurrence of acute cellular rejection among renal allograft recipients treated with basiliximab, a chimeric anti-interleukin-2-receptor monoclonal antibody. United States Simulect Renal Study Group. *Transplantation*, 1999;67:276-284.
- 175.** Ojo OA, Meier-Kriesche HU, Hanson JA, Leichtman AB, Cibrik D, Magee JC, Woolfe RA, Agodoa LY, Kaplan B. Mycophenolate mofetil reduces late renal allograft loss independent of acute rejection. *Transplantation*, 2000;69:2405-2409.
- 176.** Numakura K, Satoh S, Tsuchiya N, Horikawa Y, Inoue T, Kakinuma H, Togashi H, Matsuura S, Tada H, Suzuki T, Habuchi T.:Incidence and risk factors of clinical characteristics, tacrolimus pharmacokinetics, and related genomic polymorphisms for posttransplant diabetes mellitus in the early stage of renal transplant recipients. *Transplant Proc.*, 2005;37(4):1865-1867.

- 177.**Zachary AA, Ratner LE, Graziani JA, Lucas DP, Delaney NL, Leffell MS. Characterization of HLA class I specific antibodies by ELISA using solubilized antigen targets: II. Clinical relevance. *Hum Immunol* 2001; 62: 236-246.
- 178.**Uyar FA, Dorak MT, Saruhan-Direskeneli G. Human leukocyte antigen – A, -Band –C alleles and human leukocyte antigen haplotypes in Turkey: relationship to otherpopulations. *Tissue Antigens* 2004; 64: 180.
- 179.**Crespo M, Lozano M, Sole M, Mila J, Esforzado N, Martorell J. Diagnosis and treatment of acute humoral rejection after kidney transplantation: preliminary experience. *Transplant Proc* 2003; 35: 1677-1678.
- 180.**Fernández-Fresnedo G, Pastor JM, López-Hoyos M, Ruiz JC, Zubimendi JA, Gonzalez-Cotorruelo J ve ark. Relationship of donor-specific class-I anti-HLA antibodies detected by ELISA after kidney transplantation on the development of acute rejection and graft survival. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 990-995.
- 181.**Hohage H., Hillebrant U., Welling U., Zeh M., Heck M., Gerhardt U. W., and Suwelack B. M.. Cyclosporine and Tacrolimus: Influence on Cardiovascular Risk Factors. *Transplantation Proceedings*, 2005;37:1036-1038.
- 182.**Venkiteswaran K., Sgoutas D. S., Santanam N., Neylan J. F. . Tacrolimus, cyclosporine and plasma lipoproteins in renal transplant recipients. *Transpl. Int.*,2001; 14: 405-410.
- 183.**Oberholzer J., Thielke J., Hatipoglu B., Sankary H. N., and Benedetti E. . Immediate Conversion From Tacrolimus to Cyclosporine in the Treatment of Posttransplantation Diabetes Mellitus. *Transplantation Proceedings*, 2005;37, 999-1000.
- 184.**Higgins R., Ramaiyan K., Dasgupta T., Kanji H., Fletcher S., For Lam and Kashi H. Hyponatraemia and hyperkalaemia are more frequent in renal transplant recipients treated with tacrolimus than with cyclosporin. Further evidence for differences cyclosporin and tacrolimus nephrotoxicities. *Nephrol. Dial. Transplant*, 2004; 19: 444-450.
- 185.**Miners JO, Birkett DJ. Cytochrome P4502C9: an enzyme of major importance in human drug metabolism. *Br J Clin Pharmacol*,1998;45:525-538.

- 186.**Miao LY., Huang CR., Hou JQ., and Qian MY.: Association study of ABCB1 and CYP3A5 gene polymorphisms with sirolimus trough concentration and dose requirements in chinese renal transplant recipients. *Biopharmaceutic and Drug Disposition*, 2008;29:1-5.
- 187.**Petrova DT., Yaramov N., Toshev S., Nedeva P., Maslyankov S., Ahsen NV., Oellerich M., Toncheva D.: Genotyping of CYP3A5 polymorphisms among Bulgarian patients with Sporadic colorectal cancer and Controls. *Onkologia*, 2007;30:559-563.
- 188.**Lamba JK., Lin YS., Schuetz EG., Thummel KE.: Genetic contribution to variable human CYP3A-mediated metabolism. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2002;54:1271-1294.
- 189.**Ron Schaik HN., Heiden IP., Anker JN., and Lindemans.: CYP3A5 variant allele Frequencies in Dutch caucations. *Clinical Chemistry*, 2002;48(10):1668-1671.
- 190.**Zhang J., Zhang X., Liu L., and Tong W.: Value of CYP3A5 genotyping on determining initial dosage of tacrolimus for Chinese renal transplant recipients. *Transplantation Proceedings*, 2010;42:3459-3464.
- 191.**Makeeva O., Stepanov V., Puzyrev V., Goldstein DB., Grosman I.: Global pharmacogenetics genetic substructure of eurasion populations and its effect on variants of drug metabolizing enzymes. *Pharmacogenetics*, 2008; 9(7):847-868.
- 192.**Sayitoğlu MA., Yıldız İ., Hatırnaz Ö., Özbek U.: Common Cytochrome p4503A (CYP3A4 and CYP3A5) and Thiopurine S-Methyl Transferase (TPMT) Polymorphisms in Turkish Population. *Turk J Med Sci*, 2006;30:11-15.
- 193.**Ashavaid T., Raje H., Shaila K., Shah B.: Effect of gene polymorphisms on the levels of calcineurin inhibitors in Indian renal transplant recipients. *Indian Journal of Nephrology*, 2010;20(3):146-151.
- 194.**Aynacıoğlu A.S., Sachse C., Bozkurt A., Kortunay S., Nacak M., Schroder T., et al. Low frequency of defective alleles of cytochrome P450 enzymes 2C19 and 2D6 in the Turkish population. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 1999;66: 185-92.

- 195.**Başcı NE., Bozkurt A., Kortunay S., İsimer A., Sayal A., Kayaalp SO.: Proguanil metabolism in relation to S- mephenytoin oxidation in a Turkish population. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 1993;42 : 771-773.
- 196.**Sandberg M., Yasar Ü., Strömberg P., Höög J.O.: Oxidation of celecoxib by polymorphic cytochrome P450 2C9 and alcohol dehydrogenase. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 2002;54: 423-429.
- 197.**Komatsu T., Yamazaki H., Nakajima M., Tokoi T.: Identification of catalase in human livers as a factor that enhances phenytoin dihydroxy metabolite formation by human liver microsomes. *Biochemical Pharmacology*, 2002; 63: 2081-2090.
- 198.**Katsakiori PF., Papapetrou EP., Goumenos DS., Nikiforidis GC., Flordellis CS.: Investigation of clinical interaction between omeprazole and tacrolimus in CYP3A5 non-expressors, renal transplant recipients. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 2010;6:265-269.
- 199.**Akbaş SH., Bilgen T., Keser I., Tuncer M., Yüceci L., Tosun O., Gültekin M., and Lülecı G.: The effect of MDR1 (ABCB1) polymorphism on the pharmacokinetic of Tacrolimus in Turkish Renal Transplant Recipients. *Transplantation Proceedings*, 2006;38:1290-1292.
- 200.**Bebek N., Çine N., Öner GÖ., Eşkazan E., Özbek U.: genotype and Allele Frequencies of MDR-1 C3435T polymorphism in Turkish Population. *Journal of Neurological Sciences*, 2005; 37:261-266.
- 201.**Fromn MF.: The influence of MDR 1 polymorphisms on P- glycoprotein expression in humans . *Advanced Drug Delivery Reviews*,2002;54:1295-1310.
- 202.**Kaya P., Gündüz U., Arpacı F., Ural AU., Güran S.:Identification of Polymorphisms on the MDR 1 gene among Turkish population and their effects on multidrug resistance in acute leukemia patients. *American Journal of Hematology*,2005; 80: 26 – 34.
- 203.** Singh R., Srivastava A., Kapoor R., Sharma RK., Mittal RD.: Impact of CYP3A5 and CYP3A4 gene polymorphisms on dose requirement of calcineurin inhibitors, cyclosporine and tacrolimus, in renal allograft recipients of North India.
- 204.**Eichelbaum M., Fromn MF., Scwab M.: Clinical Aspects of the MDR 1 (ABCB1) Gene Polymorphism . *Ther Drug Monit*, 2004; 26:180-185.

- 205.**Ahsen VN., Richter M., Grupp C. and at al.: No influence of the MDR 1 C3435T polymorphisms or a CYP3A4 promoter polymorphism (CYP3A4-V Allele) on dose-adjusted cyclosporin A trough concentrations or rejection incidence in stable renal transplant recipients. *Clin Chem*, 2002;24:400-404.
- 206.**Montenegro Soria MAL., Berga JK., Catalan SB., Paya JM., PallardoMateu LM. and Jimenez Torrez NV.: Genetic Polymorphisms and Individualized Tacrolimus Dosing. *Transplantation Proceedings*, 2010;42:3031-3033.
- 207.**Wang Y., Wang C., Li J., Wang X., Zhu G., Chen X., Bi H. and Huang M.: Effect of genetic polymorphisms of CYP3A5 and MDR1 on cyclosporine concentration during the early stage after renal transplantation in Chinese patients co-treated with diltiazem. *Eur J Clin Pharmacogenetics*, 2009;65:239-247.
- 208.** Kahan BD., Welsh M., Schoenberg L. Et al.: variable oral absorption of cyclosporine. A biopharmaceutical risk factor for chronic renal allograft rejection. *Transplantation*, 1996;62:599.
- 209.**Katsakiori PF., Papapetrou EP., Skellaropoulos GC., Goumenos DS., Nikiforidis GC., Flordellis CS.:factors affectşng the long-term response to tacrolimus in renal transplant patients: Pharmacokinetic and pharmacogenetic approach. *International Journal of Medical Sciences*, 2010;7(2):94-100.
- 210.** Omari AA., and Daryl JM.: Pharmacogenetics of the Cytochrome p450 enzyme system: Review of Current Knowledge and Clinical Significance. *Journal of Pharmacy practice*, 2007;20(3):206-218.
- 211.**Ferraris JR., Argibay PF., Costa L., Jimenez G., Coccia PA., Ghezzi LFR., Ferraris V., Belloso Wh., Redal MA., Larriba JM.: Influence of CYP3A5 polymorphism on tacrolimus maintenance doses and serum levels after renal transplantation: age dependency and pharmacological interaction with steroids. *Pediatr Transplantation*, 2011;15:525-532.

ETİK KURUL KARARI

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
ETİK DEĞERLENDİRME KOMİSYONU



Toplantı Tarihi : 09/06/2010

Toplantı Yeri : Behçet Kütüphanesi Etik Değerlendirme Komisyonu Toplantı Salonu

Toplantı Sayısı : 01

Sorumlu araştırmacılığını Fakültemiz Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr. Mehmet GÜRTEKİN'in üstlendiği ve Araştırma Görevlisi Hayriye Şentürk ÇİFTÇİ'nin yürüteceği 2010/205-13 dosya numaralı "Böbrek nakli yapılan hastalarda CYP3A, CYP2C ve MDR-1 Polimorfizminin Kalsinörin İnhibitörlerinin Farmakokinetiği ile ilişkisi" başlıklı doktora tezi komisyonumuzca incelendi.

Etik yönden bir sakınca taşımadığı görüldü, uygulamaya konulabileceğine karar verildi.

Prof.Dr. A. Yağız ÜRESİN
İ.Ü. Farmakoloji ve Klinik Far. A.D.
Etik Değerlendirme Komisyon Başkanı

Prof.Dr. Ayşen BULUT
Halk Sağlığı (Emekli)

Prof.Dr. Berrin UMMAN
İ.Ü. Kardiyoloji A.D. (Bşk. Yardımcısı)

Doç.Dr. Tufan TÜKEK
Vakıf Gureba E. ve Araş. Hst. İç Hast.

Prof.Dr. Ahmet GÜL
İ.Ü. İç Hastalıkları A. D.

Prof.Dr. Ünal KUZGUN (T. Katılmadı)
Şişli Etfal Eğitim ve Araş. Hst. Ortopedi

Prof.Dr. Oğuzhan ÇOBAN
İ.Ü. Nöroloji A. D.

Prof.Dr. Ahmet O. ARAMAN (T. Katılmadı)
İ.Ü. Eczacılık Fakültesi Eczacı

Prof.Dr. Pınar SAİP
İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü

Prof.Dr. Demir TIRYAKI
Biyofizik (Emekli)

Prof.Dr. Rukiye Eker ÖMEROĞLU
İ.Ü. Çocuk Sağ. ve Hast. A. D.

Av. Dilek TEMİZ ÖZBEK
İstanbul Üniversitesi

Uzm.Dr. Ahmet Rıza URAS
Vakıf Gureba E. ve Araş. Hst. Biyokimya

M. Kerim AKMAN
İİBF İktisat Bölümü (Özel)

Doç.Dr. H. Hanzade DOĞAN
İ.Ü. Cerrahpaşa T.F. Deontoloji

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	HAYRİYE	Soyadı	ŞENTÜRK ÇİFTÇİ
Doğ. Yeri	GEYİKLİ/ÇANAKKALE	Doğ. Tar.	20/06/1972
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	18859717062
Email	hayriyesenturk@gmail.com	Tel	05323164576

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İÜ. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Programı	
Yük.Lis.	İÜ. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Programı	2001
Lisans	İÜ. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	1995
Lise	Kadıköy Kız Lisesi	1989

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Araştırma Görevlisi	İÜ. İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD.	1996-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	iyi	iyi	55/65	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	Çok iyi
SPSS	Çok iyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan ve kabul edilen makaleler :

1. Şükrü Öztürk, Tülay K. Ayna, Kıvanç Çefle, Şükrü Palanduz, **Hayriye Ş. Çiftçi**, Selvi A. Kaya, A. Sarper Diler, Aydın Türkmen, Mehmet Gürtekin, Mehmet Şükrü Sever, Mahmut Çarin. Effect of cyclosporin A and Tacrolimus on sister chromatid exchange frequency in renal transplant. Investigation of Sister Chromatid Exchange by Cyclosporin A and Tacrolimus. Genetik Testing. 2008;12(3):427-430.
2. Hulya Sayılan Sen, Tulay Kilicaslan Ayna, **Hayriye Sentürk Ciftci**, Sevgi Kalayoğlu Besisik, Emel Ayse Onal, Arzu Akcay, Hulya Bilgen, Mehmet Gurtekin, Deniz Sargin, Mahmut Carin. The predictive value of Stimulation Index calculated by Modified Mixed Lymphocyte Culture in the detection of GVHD following Hematopoietic Stem Cell Transplantation. Turkish Journal of Hematology, 2010; 27:165-170.
3. T.K. Ayna, **H.S. Ciftci**, G. Isitmangil, M. Gurtekin, M. Carin . Flow Cytometric Cross Matching and Panel Reactive Antibodies in Chronic Renal Failure Patients. Transplantation Proceedings, 43(3);805-808:2011.

Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan editöre mektup, teknik not ve sağlık bilimlerinde vaka takdimleri

1. Tülay Kılıçaslan-Ayna, Hilmi Tozkır, **Hayriye Şentürk Çiftçi**, Hakan Gürkan, Emre Tekgündüz, Çetin Algüneş, Mehmet Gürtekin, Mahmut Çarin. HLA-DP uyumsuzluğunun mikst lenfosit kültür testinde hücre proliferasyonu üzerine etkisi. Balkan Medical Journal, 2011;28(2):224-226.
2. Koray M, Ak G, Kürklü E, Tanyeri H, Aydın F, Oguz FS, Temurhan S, **Ciltci H**, Carin M, Onal AE, Ozdilli K. The effect of beta-Glucan on Recurrent Aphthous Stomatitis. J Altern Complement Med, 2009;15(2):111-2.

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler :

1. M. Çarin, G. Sönmez, **H. Sentürk**: Comparison of two different methods of CsA measurements in renal transplant subjects. Progress in Transplantation medicine: Research, Laboratory Monitoring and Clinical Perspectives. 22-24 October 1997.
2. Kılıçaslan Ayna T., Aydın F., **Şentürk H.**, Karahan G., Kalayoğlu Beşışık S., Sargın D., Çarin M.: Comparison of Immunosuppressives in Modified Mixed Lymphocyte Culture. European Group For Blood and Marrow Transplantation. Volume 27, Supplement 1., March 2001.
3. **Çiftçi HŞ.**, Diler AS., Öztürk Ş., Önal EA., Kaya S., Ayna T., Cefle K., Karahan G., Palandüz Ş., Gürtekin M., Çarin M.: Effects of cyclosporin A and tacrolimus on sister chromatid exchange frequency in renal transplant patients. 18. European Immunogenetics and Histocompatibility Conference 08-11 May 2004, Sofia; Bulgaria NPG Volume 5. supplement 1. May 2004.
4. Diler AS., **Çiftçi HŞ.**, Ayna T., Kaya S., Gürtekin M., Çarin M.: Proficiency testing for measurement of sirolimus by HPLC: PT Distribution & %; Centre 110 experience. Turc J Immunol, 9-2 Supplement 4th balkan congress of immunology- Abstract book 2004.
5. Koray M., Oğuz FS., Ak G., Onal AE., **Ciftci H**, Kurklu E., Tanyeri H., Aydın F.: The effects of 1.3-1.6 beta-glukan (Imunek) in vitro proliferation of lymphocytes in treatment of recurrent aphthous stomatitis. 7. Biennial Congress of the European Association of Oral Medicine & 26. Annual Scientific Meeting of the Academy of Oral Pathology and Oral medicine (AKOPOM), 23-25. September 2004.
6. **Hayriye Ş. Çiftçi**, Tülay K. Ayna, Hilmi Tozkır, Selvi A. Kaya, A. Sarper Diler, Aydın Türkmen, Mehmet Gürtekin, Mahmut Çarin: Stability of Rapa in Whole Blood. 19th European Immunogenetic and Histocompatibility Conference 23-26 April 2005.
7. Tülay K. Ayna, **Hayriye Ş. Çiftçi**, A. Sarper Diler, Hilmi Tozkır, Selvi A. Kaya, Mehmet Gürtekin, Mahmut Çarin: Comparison of EMIT and MEIA Assays for Whole Blood Tacrolimus Determination: 19th European Immunogenetic and Histocompatibility Conference 23-26 April 2005.

8. Hilmi Tozkır, A. Sarper Diler, **Hayriye Ş. Çiftçi**, Ayna T, Türkmen A, Gürtekin M, Carin M.:Correlation Between Sirolimus Levels and Erythrocyte Count. 19th European Immunogenetic and Histocompatibility Conference 23-26 April 2005.
9. **Hayriye Ş. Çiftçi**, A. Sarper Diler, Tülay K. Ayna, Hilmi Tozkır, Selvi A, Kaya, Aydın Türkmen, Binnur Pınarbaşı, Sebahattin Kaymakoğlu, Mehmet Gürtekin, Mahmut Çarin.: Factors Effecting Blood Tacrolimus Levels measured By MEIA in Transplant Patients. 19th European Immunogenetic and Histocompatibility Conference 23-26 April 2005.
10. Mehmet Gürtekin, A. Sarper Diler, **Hayriye Ş. Çiftçi**, Tülay K. Ayna, Hilmi Tozkır, Mahmut Çarin: Number of HLA Disparity is not Correlated with Quantitative Responsiveness İn Mixed Lymphocyte Culture Setting. 19th European Immunogenetic and Histocompatibility Conference 23-26 April 2005.
11. Sarper Diler, **Hayriye Şentürk Çiftçi**, Fatma Savran Oğuz, Hilmi Tozkır, Tülay Ayna, cemal Çiftçi, Mehmet Gürtekin, Mahmut Çarin.: Association of Certain HLA Antigens With Acute Myeloid Leukemia.. 30th World Congress of the International Society of Hematology 28-2 September-October 2005.
12. Sarper A. Diler M.D, Hilmi Tozkır, **Hayriye Senturk** , Tulay Ayna , Fatma Oguz , Mehmet Gürtekin, Melih Aktan and Mahmut N. Çarin.: The Influence of HLA in Turkish Chronic Lymphocyte Leukemia Patients and A Familial Association. 31th ASHI Annual Meeting American Society For Histocompatibility and Immunogenetic 17-21 October 2005.
13. Diler AS, Ayna T, **Senturk Ciftci H**, Karaman V, Gürtekin M, Carin M. KIR Gene Diversty in Turkish population.. Tissue Antigens Immune Response Genetics Vo, 67 (6). June 2006.
14. Ayna T, Diler AS, **Senturk Ciftci H**, Tozkır H, Gürtekin M, Carin M. Cd 45 RA, CD 45 RO, CD 33 and $\delta\gamma$ T cell expression in Behcets Disease.. Tissue Antigens Immune Response Genetics Vo, 67 (6). June 2006.
15. **Ciftci H**, Ayna T, Ciftci C, Tozkır H, Diler AS, Gürtekin M, Carin M. Comparison of Cyclosporin A measurement with enzyme multiple immunoassay technique using Cobas Mira and Viva. Tissue Antigens Immune Response Genetics, Vo, 67 (6). June 2006.

16. Diler AS, **Senturk Ciftci H**, Ayna T, Ozkan O, Gürtekin M, Türkmen A, Carin M. Role of HLA antigens in in-vitro steroid sensitivity and resistance in renal insufficiency patients. *Tissue Antigens Immune Response Genetics* Vo 67, (6). June 2006.
17. **Senturk Ciftci H**, , Diler AS, Ayna T, Gürtekin M, Ciftci C, Carin M. Lymphocyte responsiveness to phytohemagglutinin in Behçet's disease. *Tissue Antigens Immune Response Genetics* Vo, 67 (6). June 2006.
18. Gürtekin M, Diler AS, **Senturk Ciftci H**, Ayna T, Ciftci C, Carin M. Low proliferative capacity of HLA-DRB1*14 in mixed lymphocyte culture assay. *Tissue Antigens Immune Response Genetics* Vo, 67 (6). June 2006.
19. Ayna T, **Senturk Ciftci H**, Diler AS, Ciftci C, Gürtekin M, Carin M. Autoresponsiveness of peripheral blood mononuclear lymphocytes in alopecia areata patients. *Tissue Antigens Immune Response Genetics* Vo, 67 (6). June 2006.
20. Azizlerli G., Ayna T., **Sentürk Çiftçi H.**, Topkarcı Z., Tozkır H., Akdağ-Köse A., Gürtekin M., Diler AS.: KIR Genotypes in Behçet's disease. 12th International Conference on BEHÇET's disease. *Clinical and Experimental Rheumatology* Vol 24 (42) 19-23 September 2006.
21. Zeynep Topkarcı, Sarper A. Diler, Tülay Kılıcaslan Ayna, **Hayriye Sentürk Ciftci**, Afet Akdağ Köse, Mehmet Gürtekin, Gülsevım Azizlerli.: measuring in vitro responsiveness of peripheral blood lymphocytes in alopecia areata patients. 15 th congress of the European Academy of Dermatology and Venereology. 4-8 October 2006.
22. Tülay Kılıcaslan Ayna, **Hayriye Sentürk Ciftci**, Sarper A. Diler, Afet Akdağ Köse Zeynep Topkarcı, Mehmet Gürtekin, Gülsevım Azizlerli.: Association of HLA-B and HLA-C antigens with alopecia areata. 15 th congress of the European Academy of Dermatology and Venereology. 4-8 October 2006.
23. T. Kılıcaslan Ayna, H. Tozkır, **H. Senturk-Ciftci**, M Gurtekin, A. Diler, M. Carin.: Role of post transplant donor specific antibodies by flow cytometric cross-match. 21st European Immunogenetic and Histocompatibility Conference 5-8 May 2007.
24. V Karaman, A Diler, T Kılıcaslan Ayna, **H Senturk Ciftci**, H Tozkır, N Yalman, M Gurtekin, M Carin.: Relatedness of lymphocyte culture test with patient-donor parameters in hematopoietic stem cell transplantation. 21st European

Immunogenetic and Histocompatibility Conference 5-8 May 2007.

25. H Senturk Ciftci, H Tozkır, T Kılıcaslan Ayna, A Diler, M Gurtekin, M Carin.: Predictive role of cellular assays in appropriate immunosuppressive agents selection in renal transplantation. 21st European Immunogenetic and Histocompatibility Conference 5-8 May 2007.

26.H.Tozkır, TK Ayna, **HS Ciftci**, H Bakkaloğlu, H. Yazıcı, M Çobanoğlu, M Yıldırım, A Turkmen, U Eldegez, M Gürtekin, M Carin. Flow cytometric crossmatching in cadaveric renal transplantation. European Immunogenetics and Histocompatibility Conference, (Tissue Antigens Vol 71 (4): S 298), 2-5 April 2008.

27. HS Ciftci, TK Ayna, H.Tozkır, M Gürtekin, M Carin. Lymphocyte reactivity to phytohaemagglutinin in chronic myeloid leukemia. European Immunogenetics and Histocompatibility Conference, (Tissue Antigens Vol 71 (4): S 311), 2-5 April 2008.

28. TK Ayna, H.Tozkır, , **HS Ciftci**, G Karahan, M Gürtekin, M Carin. Flow cytometric evaluation of pregnancy-induced anti-donor immunization. European Immunogenetics and Histocompatibility Conference, (Tissue Antigens Vol 71 (4): S 296), 2-5 April 2008.

29. Hayriye Şentürk Çiftçi, Tülay Kılıçaslan Ayna, Mehmet Gürtekin, Mahmut Çarin. Comparison of two different assays for the determination of whole Blood Tacrolimus. 11th International Congress of Therapeutic Drug Monitoring & Clinical Toxicology, (Therapeutic Drug Monitoring 31(5)- P333), October 3-8, -10-13, 2009.

30. Hayriye Şentürk Çiftçi, Tülay Kılıçaslan Ayna, Mehmet Gürtekin, Alp Gürkan, Sevgi Şahin, Mahmut Çarin. Evolution of the new FPIA for the determination of whole blood everolimus concentrations in kidney transplant recipients. 11th International Congress of Therapeutic Drug Monitoring & Clinical Toxicology, (Therapeutic Drug Monitoring 31(5)- P509), October 3-8, -10-13, 2009.

31. Hayriye Senturk Ciftci, Tulay Kılıcaslan Ayna, Yasar Caliskan, Hilmi Tozkır Gulbu Isıtmangil, Mehmet Gurtekin, Aydın Turkmen, Mahmut Carin. Determination of Whole-Blood everolimus concentrations in kidney transplant recipients using the innoFluor FPIA. 23rd International Congress of the Transplantation Society, August 15-19,2010.

- 32.** Tulay Kılıcaslan Ayna, **Hayriye Senturk Ciftci**, Hilmi Tozgir, Gulbu Isıtmangil, Mehmet Gurtekin, Mahmut Carin. Determination of panel reactive antibodies with flow cytometry. 23. International Congress of the Transplantation Society, August 15-19,2010.
- 33.** Tülay Kılıcaslan Ayna, **Hayriye Senturk Ciftci**, Yasar Kerem Caliskan, Mehmet Gürtekin, Aydın Türkmen, Mahmut Carin. Investigation Of Post-Transplant Panel Reactive Antibodies By Flow-PRA Method In The Long-Term Period. Highlights In Biological Agents and Transplantation. October 1-3,2010.
- 34.** **Hayriye Senturk Ciftci**, Tülay Kılıcaslan Ayna, Yasar Kerem Caliskan, Mehmet Gürtekin, Aydın Türkmen, Mahmut Carin. The Effect Of Presensitization On The Allograft Function In the Post-Transplant Peirod. Highlights In Biological Agents and Transplantation. October 1-3,2010.
- 35.** **Ciftci HS**, Ayna TK, Caliskan Y, Türkmen A, Gürtekin M. Lipid parameters doses and blood levels of calcineurin inhibitors in renal transplant recipients. 12th International Congress of Therapeutic Drug Monitoring & Clinical Toxicology, (Therapeutic Drug Monitoring 33(4)- P242), October 2-7, 2011.
- 36.** Ayna TK, **Ciftci HS**, Aydogan G, Sen HS, Akıcı F, Tucu D, Akcay A, Salciuglu Z, Gurtekin M. Plasma concentration monitoring during high-dose methotrexate in childhood leukemia. 12th International Congress of Therapeutic Drug Monitoring & Clinical Toxicology, (Therapeutic Drug Monitoring 33(4)- P260), October 2-7, 2011.

Ulusal hakemli dergilerde yayınlanan makaleler :

1. Gülay Sönmez, **Hayriye Şentürk**, Mahmut Çarin.: Böbrek Transplantasyonu Yapılan Hastalarda Cyclosporin-A Düzeylerinin İki Değişik Metod İle Karşılaştırılması. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi, 2: (7), 71-73, 1998.
2. Doç. Dr. Mehmet Gürtekin, Dr. Esra Balaban,-Gürel, Dr. Hülya Şen, **Araş. Gör. Hayriye Şentürk**, Dr. Sarper Diler., Prof. Dr. Mahmut N. Çarin.: AGVH ve Doku Redddinin Karışık Lenfosit Kültürde belirlenmesi. Sendrom, 10:8; 36-40, 1998.

3. Kaya AS., Kılıçaslan AT., **Şentürk H.**, Ağırbaşı H., Gürtekin M., Yalman N., Anak S., Çarin M.: The comparison of CSA whole blood levels using TDx-M, EMIT AND AXSYM Immunoassay, International Journal of Hematology and Oncology.2000;10(4):212-216.
4. Kaya AS., **Şentürk H.**, Ayna KT., Görgün Ö., Başaran M., Gürtekin M., Çarin M.: Osteosarkomlu hastalarda methotrexate düzeylerinin değerlendirilmesi. İTF Mecmuası, 64: 1-2, S:59-65 2001.
5. Selvi Aygün Kaya, **Hayriye Şentürk Çiftçi**, Tülay Kılıçaslan Ayna, Mehmet Gürtekin, Mahmut Çarin.: Assesment of Different Dilutions in the Determination of the C2 Level. Turkish Journal of Immunology, 8:1-2;39-44,2003.
6. **Hayriye ŞENTÜRK ÇİFTÇİ**, Aydın TÜRKMEN, Gülay SÖNMEZ.: Böbrek transplantasyonu öncesi immüsupresif ajanların etkinliklerinin hücre kültürü ortamında değerlendirilmesi. Klinik Gelişim, 19 (2);16-21,2006.
- 7.Tülay K. AYNA, A.Sarper DİLER, **Hayriye ŞENTÜRK**, Mehmet GÜRTEKİN, Mahmut ÇARİN.: Flow cytometri ile panel reaktif antikorların belirlenmesi. Klinik Gelişim, 19 (2); 21-25, 2006.
8. Tülay Kılıçaslan-Ayna, **Hayriye Şentürk-Çiftçi**, Hilmi Tozkır, Ali Sarper Diler, Mehmet Gürtekin, Mahmut Çarin.: Yüksek Performans likit kromatografisi (HPLC) ve Mikropartikülenzim düzeyi (MEIA) yöntemleri ile saptanan tam kan sirolimus düzeylerinin karşılaştırılması. İTF Mecmuası, 70 (Sayı 4): (93-97); 2007.
9. Tülay Kılıçaslan-Ayna, **Hayriye Şentürk-Çiftçi**, Sarper Diler, Mehmet Gürtekin, Mahmut Çarin.: Hematopoitik kök hücre nakli, Nakil yapılacak hastaya uygun verici seçiminde karışık lenfosit kültür testinin belirleyiciliği. Sendrom, 19 (12): 32-36, 2007.
10. Tülay Kılıçaslan-AYNA, **Hayriye Şentürk ÇİFTÇİ**, Hilmi TOZKIR, Mehmet GÜRTEKİN, Mahmut ÇARİN.: İmmüsupresif İlaçların Etki Mekanizmaları. Gaziantep Tıp Dergisi, 15 (3):42-47,2009.
11. Tülay Kılıçaslan-AYNA, **Hayriye Şentürk ÇİFTÇİ**, Yaşar ÇALIŞKAN, Mehmet GÜRTEKİN, Aydın TÜRKMEN, Mahmut ÇARİN.: Akım Sitometrisi ile Böbrek Nakli Sonrası Vericiye Özgü Antikorların Monitorizasyonu. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi, 19 (2):94-101, 2010.
12. Tülay Kılıçaslan Ayna, **Hayriye Şentürk Çiftçi**, Mehmet Gürtekin. Tek Antijen

Boncuk Çalışması İle Döner'a Özgü Antikorların Saptanması. Türkiye Klinikleri J Nephrol, 2011;6(1):17-21.

13. Tülay Kılıçaslan Ayna, **Hayriye Şentürk Çiftçi**, Yaşar Kerem Çalışkan, Hilmi Tozkır, Mehmet Gürtekin, Aydın Türkmen, Mahmut Nezih Çalışkan. "Böbrek Nakli Sonrası Birinci Yılda Panel Reaktif Antikorların Akım Sitometri İle Takip Edilmesi" Türkiye Klinikleri J Nephrol, 2011;6(1):1-11.

14. **Hayriye Şentürk ÇİFTÇİ**, Tülay Kılıçaslan-AYNA, Yaşar ÇALIŞKAN, İtler GÜNEY, Mehmet GÜRTEKİN.: Farmakogenetik ve Kalsinörin İnhibitörleri. Türkiye Klinikleri J Nephrol, 2011;6(2):62-8.

. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler (sözlü ve poster):

1. G. Sönmez, **H. Şentürk**, M. Çarin: Böbrek transplantasyonu yapılan hastalarda Cyclosporin-A düzeylerinin iki değişik metod ile karşılaştırılması. XIV. Ulusal Farmakoloji Kongresi ve Angiotensin II Receptor Antagonists in Cardiovascular Disease Sempozyumu. 2-7 Kasım 1997.

2. Mehmet Gürtekin, Uğur Akar, **Hayriye Şentürk**, Filiz Aydın, Fatma Savran Oğuz, Mahmut Çarin: kemik İliği Nakli Yapılacak Hastalarda 1 veya 2 HLA Uyumsuzluğunun Mikst lenfosit Kültürde (MLC) Değerlendirilmesi. 5. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi, 21-24 Eylül 1998.

3. **Hayriye Şentürk**, Selvi Kaya, Gülay Sönmez, Mahmut Çarin: Değişik Lösemi Tiplerinde MTX Tedavisi Sonuçları. 5. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi, 21-24 Eylül 1998.

4. **Hayriye Şentürk**, Tülay Kılıçaslan, Hülya S. Şen, Mehmet Gürtekin, Filiz Aydın, Mahmut Çarin: Kemik İliği Nakli Yapılacak Hastalara Verici Seçiminde Uygulanan Mixed Lymphocyte Culture (MLC) Testinde Yapılan Değişiklikler. 5. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi, 21-24 Eylül 1998.

5. G. Sönmez, **H. Şentürk**, S. Kaya, U. Akar, M. Çarin: Neoral Kullanan Hastalarda Doz Takiplerinin Dğerlendirilmesi. 1. Transplantasyon Kongresi, 11-15 Kasım 1998.

6. G. Sönmez, **H. Şentürk**, S. Kaya, M. Çarin: Mycophenolate Mofetil Kullanan Hastaların Kan Düzeylerinin Ölçülmesi. 1. Transplantasyon Kongresi, 11-15 Kasım 1998.

7. G. Sönmez, S. Kaya, **H. Şentürk**, V. Çelik, M. Çarin: Cyclosporin-A Düzeyi Ölçümlerinin Demografik değerlendirilmesi. 1. Transplantasyon Kongresi, 11-15 Kasım 1998.
8. **H. Şentürk**, G. Sönmez, Y. Seyhun, H. Tozkır, M. Çarin.: Böbrek transplantasyonuna hazırlanan hastalarda immünolojik parametrelerin incelenmesi. 1. Transplantasyon Kongresi, 11-15 Kasım 1998.
9. Kaya S., Ayna T., **Şentürk H.**, Ağırbaşı H., Gürtekin M., Yalman N., Anak S., Çarin M.: CsA düzeylerinin TDx-m, EMIT ve AxSYM yöntemleri ile Karşılaştırılması. ONKKD 2. Kongresi 25-29 Ekim 2000.
10. **Şentürk H.** Kaya AS., K.Ayna T., Gürtekin M., Bilgen H., Çarin M., Gedikoğlu G.: Pediatrik Hastalarda CsA Kan Düzeyi Tayininde Abot- EMIT Metodlarının Karşılaştırılması. 6. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi 2-5 Kasım 2000.
11. Selvi Aygün Kaya, **Hayriye Şentürk**, Tülay Kılıçaslan Ayna, Ömer Görgün, Mert Başaran, Mehmet Gürtekin, Mahmut Çarin: Osteosarkomlu Hastalarda Methotrexate Düzeylerinin Değerlendirilmesi. 6. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi 2-5 Kasım 2000.
12. Kaya AS., Kılıçaslan AT., **Şentürk H.**, Gürtekin M., Çarin M.: C2 monitörizasyonunda farklı dilüsyonların karşılaştırılması. 7. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi 18-21 Eylül 2001.
13. Aygün KS.,**Şentürk ÇH.**,Kılıçaslan AT., Gürtekin M., Çarin M., EMIT yöntemi İle C2 Düzeyinin Belirlenmesi ONKKD III. Kongresi 17-22 Ekim 2002.
14. **Hayriye Ş. Çiftçi**, Selvi A. Kaya, Mehmet Gürtekin, Filiz Aydın, Mahmut Çarin: Siklosporin-A ve takrolimus'lu Kombinasyonların lenfosit Proliferasyonu Üzerine Etkileri. 8. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi, 14-17 ekim 2003.
15. **Hayriye Ş. Çiftçi**, Fatma S. Oğuz, Tülay K. Ayna, Filiz Aydın, Mehmet Gürtekin, Mahmut Çarin: karışık Lenfosit Kültür Testinde Stimülasyon İndeks değerleri ve HLA Antijenlerinin Dağılımı. 8. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi, 14-17 ekim 2003.
16. **Hayriye Şentürk Çiftçi**, A. Sarper Diler, Tülay Ayna, Hilmi Tozkır, Mehmet Gürtekin, Mahmut Çarin: Posttransplant dönemde HPLC ile Sirolimus Kan Düzeyi Ölçümü:Uluslararası Kalite Kontrolü ve Akreditasyon. 4. Transplantasyon Kongresi, 15-19 Eylül 2004.

17. Hilmi Tozkır, A. Sarper Diler, Tülay Ayna, **Hayriye Şentürk Çiftçi**, Aydın Türkmen, İsmet Nane, Mahmut Çarin: Renal transplantasyonda Nakil Öncesi cross-Match sonuçlarının değerlendirilmesi. 4. Transplantasyon Kongresi, 15-19 Eylül 2004.
18. T.K.Ayna, **H.Ş.Çiftçi**, H.Tozkır, A.S.Diler, M.Gürtekin, M.Çarin. HPLC ve MEIA Yöntemleri ile saptanan Tam Kan Sirolimus Düzeylerinin Karşılaştırılması. IX. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi 24-27 Kasım 2005.
19. M. Gürtekin, H.S.Şen, **H.Ş.Çiftçi**, T.K.Ayna, A.S.Diler, M.Çarin. Modifiye Karışık Lenfosit Kültür testinin Kemik iliği Transplantasyonunda Graft Versus Host Hastalığının Belirlenmesindeki Önemi. IX. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi 24-27 Kasım 2005.
20. T. K. Ayna, **H. Ç. Şentürk**, A. Türkmen, H. Tozkır, A.S. Diler, M. Gürtekin, M. Çarin: Canlı Vericiden Yapılan Böbrek Nakli Sonrasında Flow Cytometry ile Donör Spesifik Antikorların Önemi. IX. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi 24-27 Kasım 2005
21. **Hayriye Şentürk Çiftçi**, Tülay Kılıçaslan Ayna, Aydın Türkmen, Mehmet Gürtekin, Mahmut Çarin. Böbrek Nakli Öncesi İmmünesupresif İlaçların Lenfosit Cevabının İn Vitro Ortamda Değerlendirilmesi. III. Multidisipliner Kanser Araştırma Sempozyumu Teorik Metot Çalıştayı, 14-17 Mart 2010
22. Hilmi Tozkır, Tamer Sağıroğlu, Tülay Kılıçaslan Ayna, **Hayriye Şentürk Çiftçi**, Hüseyin Bakkaloğlu, Halil Yazıcı, Mehmet Gürtekin, Mahmut Çarin. Kadavra Böbrek Transplantasyonunda Akım Sitometrisi ile Cross-Match Testi. Ulusal Transplantasyon İmmünolojisi ve Genetiği Kongresi. 15-18 Nisan 2010.
23. Tülay Kılıçaslan Ayna, **Hayriye Şentürk Çiftçi**, Yaşar Çalışkan, Hilmi Tozkır, Mehmet Gürtekin, Aydın Türkmen, Mahmut Çarin. Nakil Sonrası Panel Reaktif Antikorların Flow PRA yöntemi ile Araştırılması. Ulusal Transplantasyon İmmünolojisi ve Genetiği Kongresi. 15-18 Nisan 2010.
24. Tülay K. Ayna, **Hayriye Ş. Çiftçi**, Gülbu Işıtmangil, Mehmet Gürtekin, Mahmut Çarin. Kronik Böbrek yetmezliği Olan hastalarda HLA Antikorlarının Akım Sitometrisi Yöntemleri İle Araştırılması. Türkiye Organ Nakli Kuruluşları Koordinasyon Derneği VII. Kongresi. 14-17 Ekim 2010.
25. Gülbu Işıtmangil, Tülay K. Ayna, **Hayriye Ş. Çiftçi**, Sebahat Aksaray, Mehmet Gürtekin, Mahmut Çarin. Klasik Flow Sitometri Cross-Match İle T ve B Hücre

İzolasyonu Yapılan Flow Sitometri. Türkiye Organ Nakli Kuruluşları Koordinasyon Derneği VII. Kongresi. 14-17 Ekim 2010.

26. Yaşar Çalışkan, Tülay Kılıçaslan Ayna, **Hayriye Şentürk Çiftçi**, Nadir Alpay, Halil Yazıcı, Mehmet Gürtekin, Aydın Türkmen, Mehmet Şükrü Sever. Böbrek Transplantasyonu Alıcılarında Hepatit c Virüs Enfeksiyonu İle Transplantasyon Sonrası saptanan anti-HLA Aantikor İlişkisi. Ulusal Transplantasyon İmmünolojisi ve Genetiği Kongresi. 21-24 Nisan 2011.

27. Yaşar Çalışkan, **Hayriye Şentürk Çiftçi**, Tülay Kılıçaslan Ayna, Halil Yazıcı, Tülin Akdoğan, Mehmet Gürtekin, Aydın Türkmen. Böbrek Transplantasyonu Sonrası Kalsinörin İnhibitörlerinin Serum Lipid Parametreleri Üzerine Olan Etkileri. Ulusal Transplantasyon İmmünolojisi ve Genetiği Kongresi. 21-24 Nisan 2011.

28. **Çiftçi Hayriye Şentürk**, Çalışkan Yaşar Kerem, Ayna Tülay Kılıçaslan, Güney İlter, Bakkaloğlu Hüseyin, Nane İsmet, Aydın Ali Emin, Türkmen Aydın, Mehmet Gürtekin. Böbrek Nakilli Hastalarda CYP3A5 Polimorfizminin Takrolimus ve Siklosporin Kan Seviyeleri Üzerine Etkisi. XII.Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi. 27-30 Ekim 2011.

29. Ayna Tülay Kılıçaslan, **Çiftçi Hayriye Şentürk**, Çalışkan Yaşar Kerem, Türkmen Aydın, Mehmet Gürtekin,. Böbrek Nakli Sonrası Bir Yıl Boyunca Akım Sitometri İle Saptanan HLA Antikorlarının Uzun Dönemdeki Etkileri. XII.Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi. 27-30 Ekim 2011.

Özel İlgi Alanları (Hobileri):

Masa tenisi, bowling, şiir okumak ve yazmak