



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**BÖBREK NAKLİ ALICILARINDA KRONİK
REJEKSİYON GELİŞİMİNDE D VİTAMİNİ VE
D VİTAMİNİ RESEPTÖR DÜZEYİNİN ROLÜ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Sultan EDEBALI

Antalya, 2014



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**BÖBREK NAKLİ ALICILARINDA KRONİK
REJEKSİYON GELİŞİMİNDE D VİTAMİNİ VE
D VİTAMİNİ RESEPTÖR DÜZEYİNİN ROLÜ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Sultan EDEBALI

Tez Danışmanı: Prof.Dr. F. Fevzi ERSOY

“Kaynak gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

Antalya, 2014

Bu çalışma, Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından 2013.04.0103.021 Proje No ile desteklenmiştir.

TEŐEKKÜR

Bu tezin oluŐturulmasında beni baŐından sonuna kadar yönlendiren, her konuda yardım ve bilgilerini esirgemedi, bilimsel çalıŐmanın gereklerini öğreten değerli tez hocam Prof.Dr. F.Fevzi Ersoy'a,

Tez çalıŐmamın büyük kısmının Őekillendiđi ve tezimin laboratuvar ölçümlerinin yapıldığı Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nın ve İmmünoloji Araştırma Laboratuvarı'nın değerli çalıŐanlarına, Prof.Dr. Sadi Köksoy ve Prof.Dr. S.Halide AkbaŐ'a,

Uzmanlık eğitimim süresince deneyimlerinden yararlandığım bilgi ve desteğini esirgemeyen İç Hastalıkları Anabilim Dalının tüm öğretim üyelerine,

Birlikte çalıŐmaktan keyif aldığım tüm klinik arkadaşlarıma teŐekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	ii
Tablolar Dizini	iv
Şekiller Dizini	v
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Renal Transplantasyon	3
2.2. Allogreft Rejeksiyon Tipleri	5
2.3. Alloimmün Yanıt	13
2.4. Böbrek Naklinde İmmünolojik Testlerin Yeri ve Önemi	22
2.5. D Vitamini	25
2.6. D Vitamini Oluşum Mekanizması	27
2.7. D Vitamini Metabolizmasının Kontrolü	30
2.8. D Vitamininin Etki Mekanizması	33
2.9. D Vitamini Düzeyleri	35
2.10. D Vitamini ve İmmün Sistem	36
2.11. D Vitamininin Greft Fonksiyonları Üzerine Olan Etkisi	41
3. GEREÇ VE YÖNTEM	45
3.1. Olgular	45
3.2. Laboratuvar Ölçümleri	46
3.3. İstatistiksel Analiz	48
4. BULGULAR	49
5. TARTIŞMA	63
6. SONUÇLAR	69
7. ÖZET	70
8. ABSTRACT	71
9. KAYNAKLAR	72

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

1, 25(OH)₂D₃	1, 25 Dihidroksikolekalsiferol: kalsitriol
25(OH)D₂	25 Hidroksiergokalsiferol
25(OH)D₃	25 Hidroksikolekalsiferol: kalsidiol
7 DHC	7 Dehidrokolesterol: provitaminD3
ASH	Antijen sunan hücre
ATG	Antitimosit globulin
BMI	Beden kitle indeksi
Ca	Kalsiyum
CD	Ayırım kümesi ("cluster of differentiation")
CD4 +/ VDR%	VDR eksprese eden CD4+ lenfosit yüzdesi
CD4 VDR (MFI)	CD4+ lenfositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı
CD8 +/ VDR%	VDR eksprese eden CD8+ lenfosit yüzdesi
CD8 VDR (MFI)	CD8+ lenfositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı
CYP 27A1	25 Hidroksilaz
CYP 27B1	1-alfa hidroksilaz
DBP	D vitamini bağlayıcı protein
DH	Dendritik hücre
DM	Diabetes mellitus
DSA	Donör spesifik antikor
FGF23	Fibroblast büyüme faktörü 23 ("fibroblast growth factor 23")
GFR	Glomeruler filtrasyon hızı
HLA	İnsan lökosit antijeni ("human leukocyte antigen")
IFN-γ	İnterferon gamma
Ig	İmmunglobulin
IL	İnterlökin
KAN	Kronik allogreft nefropatisi
KBH	Kronik böbrek Hastalığı

KDIGO	Böbrek hastalığı: küresel sonuçları iyileştirme (“kidney disease: improving global outcomes”)
LT	Lenfotoksin
MHC	Büyük doku uygunluk kompleksi (“major histocompatibility complex”)
MMF	Mikofenolat mofetil
Mon / VDR %	VDR eksprese eden monosit yüzdesi
Mon VDR (MFI)	Monositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı
NF-kB	Nükleer transkripsiyon kB
NK	Doğal öldürücü (“naturel killer”)
OKT3	Muromonab
PAMPS	Patojen ilişkili moleküler paternler (“pathogen associated molecular patterns”)
PTH	Parathormon
RAAS	Renin anjiyotensin aldosteron sistemi
RXR	Retinoik asit X reseptörü
SDBY	Son dönem böbrek yetmezliği
TGFβ	Dönüştürücü büyüme faktörü β (“transforming growth faktörü β ”)
Th	Yardımcı T lenfosit
THR	T hücre reseptörü
TLR	Toll like reseptör
TNF α	Tümör nekroz faktör α
Treg	Regulatuar T hücre
Tx	Transplantasyon
UVB	Ultraviyole B
VDR	D vitamini reseptörü
VDRE	D vitamini cevap elemanı

TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
4.1. Grupların demografik verilerinin karşılaştırılması	49
4.2. Grupların serum ve biyokimyasal değerlerinin karşılaştırılması	49
4.3. İkili karşılaştırmalar	50
4.4. Rejeksiyon olan ve olmayan renal transplantasyon grubunun demografik ve klinik özellikleri	51
4.5. Primer böbrek hastalığının gruplar arası dağılımı	52
4.6. 25(OH)D ₃ , 1,25(OH) ₂ D ₃ ve VDR'nin sağlıklı ve transplantasyon olan grupta karşılaştırılması	53
4.7. Tüm hastalarda ve gruplarda GFR'nin 25(OH)D ₃ , 1,25(OH) ₂ D ₃ ve VDR değerleriyle ilişkisi	54
4.8. VDR yüzdeleri ile belirli ölçümler arasındaki ilişkiler	56
4.9. VDR eksprese eden CD8 ⁺ , CD4 ⁺ lenfosit ve monosit yüzdeleri ile laboratuvar ölçümleri arasındaki ilişkiler	57
4.10. CD8 ⁺ lenfositler, CD4 ⁺ lenfositler, monositlerde belirlenen D vitamini reseptör değerleri ile belirli ölçümler arasındaki ilişkiler	58
4.11. CD8 ⁺ lenfositler, CD4 ⁺ lenfositler, monositlerde belirlenen D vitamini reseptör değerleri ile laboratuvar ölçümleri arasındaki ilişkiler	59
4.12. VDR değerlerinin belirli gruplar arasındaki farkları	60
4.13. 25(OH)D ₃ düzeyi ve 1,25(OH) ₂ D ₃ düzeyi ile VDR değerleri arasındaki ilişkiler	61

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>		<u>Sayfa</u>
2.1.	Kronik allogreft nefropatisine neden olabilen faktörler	9
2.2.	Alloantijenin doğrudan ve dolaylı yolla tanınması	15
2.3.	T lenfositlerinin aktivasyonuna yol açan moleküller	15
2.4.	T lenfositlerde sinyal iletim yolları	16
2.5.	T hücre aktivasyonunda CD40'ın rolü	17
2.6.	T lenfositlerin aktivasyonu	18
2.7.	B hücrelerin yardımcı T hücre aracılı aktivasyon mekanizmaları	20
2.8.	D vitamini oluşumu ve etki mekanizması	29
2.9.	1- alfa hidroksilaz enzimini ve D vitamini reseptörü (VDR) dağılımı	30
2.10.	VDR aktivasyon şeması	35
2.11.	D vitamininin immün sistem üzerine etkisi	41
2.12.	Aktif D vitamininin renal koruyucu etki mekanizmaları	44
4.1.	25(OH)D ₃ değerlerinin gruplara göre dağılımı	55

1. GİRİŞ

KBH Evre 5, ülkemizde ve dünyada insidansı her geçen yıl artmakta olan morbidite ve mortalitesi yüksek bir sağlık sorunudur. Günümüzde, KBH Evre 5 gelişmiş olan hastalara uygulanabilecek en seçkin tedavi yöntemi olarak renal transplantasyon kabul edilmektedir. Hastaların, transplantasyon sonrası, yüksek yaşam kalitesi, düşük morbidite ve mortalite oranları, aktif sosyal yaşama katılımları bu etkinliği sağlayan başlıca faktörler olarak sıralanabilir (1).

Renal transplantasyonda kısa dönemde hasta ve greft sonuçlarındaki kabul edilebilir gelişmelere rağmen, uzun süreli takip sonuçlarında doyurucu bir gelişme halen mevcut değildir. Renal transplantasyon sonrasında ortaya çıkan en temel problemler, akut ve kronik rejeksiyon ve immünyüpresif ilaçların yan etkileridir. Renal transplantasyon bilimi son yarım yüzyılda, immün sistemin allogreft rejeksiyonundaki rolünün daha iyi anlaşılması, greft başarısızlığının altında yatan moleküler mekanizmaların açığa çıkarılması ve immünyüpresyonun daha iyi yönetilmesi sayesinde önemli ölçüde gelişme kaydetmiştir. Rejeksiyon her zaman başlıca engel kaynağı olmuştur. Greft alıcısından genetik olarak farklı olan bir donörün dokularının ya da hücrelerinin transplantasyonu, alıcıda donör greftinin alloantijenlerine karşı bir immün yanıtı indükler. Bu yanıt, kontrol edilmediği takdirde, greftin tahribatına neden olur.

Yakın zamanda yapılan keşifler, akut rejeksiyonun birincil ajanları olan T lenfositlerin allogreftte nasıl ulaştıklarını ve onu nasıl tanıdıklarını açıklığa kavuşturmuştur. Ayrıca, kostimülatör moleküllerin ve sitokinlerin etkilerinin anlaşılmasında ve doğal immün sistemin greft rejeksiyonuna nasıl katıldığına açıklanmasında önemli düzeyde ilerleme kaydedilmiştir (2).

Kronik allogreft nefropatisi (KAN), hipertansiyon, proteinüri, artmış serum kreatinini ve birkaç aydan yıllara kadar değişebilen süre içinde ortaya çıkabilecek ilerleyici böbrek disfonksiyonu ile karakterize klinik bir süreçtir. KAN etiyojisinde, akut rejeksiyon, subklinik rejeksiyon, antikor aracılı kronik rejeksiyon, HLA uyumsuzluğu, yetersiz immünyüpresyon gibi immünojenik faktörler veya viral enfeksiyonlar, hiperlipidemi, hipertansiyon, kalsinörin inhibitörlerinin nefrotoksik etkilerine bağlı immünojenik olmayan faktörler yer alır (3).

Geçtiğimiz on yıl içinde transplantasyon yapılan hastalarda uzun dönem böbrek fonksiyonlarının korunması ve bu hastaların yaşam kalitesinin artırılması ile ilgili

kaygılar ön plana çıkmıştır. Bu noktada transplantasyon sonrası dönemde daha iyi renal koruyucu tedaviler ve yeni tedavi seçenekleri ile ilgili araştırmalar devam etmektedir.

Geleneksel bilgi olarak, D vitamininin kemik sağlığı ile ilgili olduğu ve eksikliğinde çocuklarda rikets, yetişkinlerde osteomalazi görüldüğü ve osteoporoz riskinin arttığı kabul edilmektedir. Son yıllarda yapılan araştırmalarla D vitamininin, tip 2 Diabetes mellitus, kardiovasküler hastalıklar, kanser, otoimmün hastalık ve bazı enfeksiyon hastalıkları riskini azaltmada önemli rolü olduğu, kemik dışında bir çok doku ve organda otokrin ve parakrin etkilerinin bulunduğu anlaşılmıştır (4,5).

Çeşitli çalışmalarda elde edilen veriler, D vitamininin normal böbrek dokusu ve fonksiyonunun devamında önemli rolü olabileceğini düşündürmektedir (6,7). Hayvan modellerinde kalsitriolün enfeksiyon riskini artırmaksızın greft fonksiyonlarını iyileştirdiği gösterilmiştir. Ratlarda yapılan bir çalışmada aktif D vitamini bileşiklerinin kronik allogreft nefropatisine karşı koruyucu olduğu bulunmuştur (8). Böbrek transplantasyonunda yapılan bir araştırmada kalsitriolün (aktif D vitamininin) greftin fonksiyonunu uzatırken greft fibrozisini de azaltabileceğini gösteren sonuçlar elde edilmiştir (9).

Bugüne kadar yapılmış olan bazı araştırmalarda D vitamini alan hastalarda glomerular filtrasyon hızının (GFH) daha iyi olduğunu gösteren sonuçlar elde edilmiş olmasına rağmen D vitamini desteği ile greft fonksiyonlarındaki iyileşme arasında doğrudan bir ilişki kurmak zordur (10,11).

Günümüzde D vitamininin etkinliğinin sadece kalsiyum homeostazisini düzenleyerek kemik sağlığını devam ettirmekle sınırlı olmayıp, aynı zamanda proapoptotik, antiinflamatuvar ve immünmodülatuar özelliklere de sahip olduğu anlaşılmıştır (5). Bu nedenle önlenebilir ve tedavi edilebilir bir durum olan D vitamini eksikliği, özellikle eksiklik durumunda ortaya çıkabilecek klinik sonuçlar düşünüldüğünde renal transplantasyon kliniğinde izlenen hastalar açısından önemlidir.

Bu çalışmadaki amacımız, renal transplant alıcılarının; D vitamini düzeyleri ile renal greft fonksiyonları üzerine olan etkisini değerlendirmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Renal Transplantasyon

Günümüzde renal transplantasyon KBH Evre 5 gelişen hastalar için kabul edilen en etkili tedavi yöntemidir (1). Yeni ve güçlü immunsupresif ilaçların kullanıma girmesiyle başarı oranının artması bu tedavi seçeneğini daha yaygın kullanılabilir hale getirmiştir. Yapılan meta analizlerde, renal transplantasyonun, diyaliz tedavisi ile karşılaştırıldığında, yüksek yaşam kalitesi, düşük morbidite ve mortalite oranlarıyla, SDBY hastalarında başlıca ve en önemli tedavi şekli olduğu gösterilmiştir. Renal transplantasyonun beklenen yaşam süresi üzerine etkisi, kronik diyalize göre 25-30 yıl kadar uzun olabilmektedir (12).

Fonksiyon gören greft böbrek sayesinde, hastalar daha iyi bir hayat kalitesine sahip olmakta, daha iyi bir rehabilitasyon süreci geçirmekte, toplum içine karışabilmekte ve sosyal yaşamın bir parçası olabilmektedirler. Her tür diyaliz komplikasyonundan da uzak kalmaktadırlar. Enfeksiyon, anemi, elektrolit bozuklukları, kanama, kemik mineral bozukluklarının büyük ölçüde ortadan kalkması, hastaneye yatış oranlarını da çok büyük oranda düşürmektedir (1). Bütün bunların yanında transplantasyon sonrası disiplinli, kontrol altında bir yaşam, sıkı doktor hasta ilişkisi immünsupresif ilaçların hayat boyu kullanılması zorunluluğunu doğurmakta ve immün sistemin kronik baskılanmasının komplikasyonları olarak enfeksiyonlara, tümör gelişimine, lenfoproliferatif hastalıklara meyil oluşturmaktadır. Selektif etkili immunsupresif ilaçların kombinasyonlarıyla minimal yan etki, maksimum immunsupresyon politikası uygulanıyor olmasına rağmen yine de tam olarak çözülemeyen akut red problemi, zaman içinde immün mekanizmalarla ya da nonimmün faktörlerin etkisiyle, KAN nedeniyle greftin fonksiyonel dokusunun yıpratılarak yerine fibröz doku oluşması ve fonksiyon yetersizliğine gitmesi ve sonuçta hastanın tekrar hemodiyaliz desteğine dönmesi ya da yeni bir allogreft gereksinimine neden olmaktadır (2).

İmmunsupresif ilaçlar geliştirilmeden önce başarılı böbrek nakli sadece tek yumurta ikizleri arasında yapılabilmekteydi. Bu yüzden başarılı böbrek transplantasyonunda immunsupresif ilaçların geliştirilmesi dönüm noktası olmuştur (13). 1960'ların başında azatioprin, 1980'lerin başında siklosporin A'nın ve

antilenfositik globulinlerin kullanıma girmesiyle allogreft sağkalımı uzamış ve rejeksiyon sıklığında belirgin azalma olmuştur. Bununla birlikte bu ilaçların ciddi yan etkilerinin olması böbrek transplantasyonundan sonra beklenen komplikasyonların artırmış ve kullanımlarını kısıtlamaktadır. Bu komplikasyonlar arasında hipertansiyon, hiperlipidemi, transplantasyon sonrası gelişen DM, osteoporoz, enfeksiyonlar, organ toksisiteleri ve malignite gelişimi sayılabilir.

Son yıllarda renal transplant alıcılarının uzun dönem greft fonksiyonlarında önemli değişiklikler olmuştur. Cerrahi tekniklerde iyileşme, uygun donör seçimi, güçlü immunsupresif ilaçların kullanıma girmesi ve bu konuda deneyimin artması, özelleşmiş transplantasyon ekiplerinin oluşması ile renal greft sağ kalımında belirgin iyileşmeler olmuştur (1).

Greft yaşam süresini etkileyen başlıca faktörler olarak donör tipi (canlı/kadavra), HLA uyumu, iskemi zamanı, transplantasyon öncesi diyaliz süresi, gecikmiş greft fonksiyonu, alıcının ve donörün yaşı, son dönem böbrek yetmezliğine neden olan primer hastalık, tedaviye uyum, akut ve kronik rejeksiyon sayılabilir. Canlı donörlerde iskemi süresi daha kısa ve doku daha sağlıklı ve genellikle de anne veya babadan nakil yapıldığı için, greft ömrü daha uzun olmaktadır (14). Genel olarak HLA uyumlu nakillerde greft ömrü daha uzun olmaktadır (15).

Greft ömrünü uzatan faktörlerden biri de soğuk iskemi zamanının kısa olmasıdır. Bunun canlı donörlerde kolaylıkla sağlanabilmesi, canlı vericiden yapılan transplantasyon sonuçlarının daha iyi olmasının nedenlerinden biridir. Kronik diyaliz tedavisi uygulanmadan preemptif olarak yapılan transplantasyon, büyüme ve psikolojik gelişim üzerine son derece olumlu etkiler yapmakta, hemodiyaliz ve periton diyalizi için gerekli yapıların korunmasını sağlamaktadır. Gecikmiş greft fonksiyonu, transplantasyon sonrası ilk bir haftada diyaliz gereksinimi olması şeklinde tanımlanır. Kadavradan nakillerde daha sık görülmektedir. Bunun nedenleri uzamış soğuk iskemi zamanı, HLA uyumsuzluğu, indüksiyon tedavisinde antikor kullanılmamasıdır. Donör yaşı ilerledikçe nefron sayısı azalır ve bu da prognozu etkileyen önemli bir faktördür (16). Kronik ve akut rejeksiyon greft kaybının en önemli nedenleridir. Bu nedenle greft fonksiyonunun duyarlı ve güvenilir bir şekilde değerlendirilmesi, erken dönemde rejeksiyon tanısının konması ve tedavinin düzenlenmesi çok önemli bir süreçtir. Vasküler tromboz, kardiyovasküler hastalıklar nedeniyle ölüm, primer hastalık rekürrensi, enfeksiyonlar ve malignite gelişimi greft kaybına neden olan diğer nedenler

arasındadır. Böbrek naklinin başarısını artırmak için nakil öncesinde alıcı ve donöre ait pek çok faktör göz önünde bulundurulmalıdır (17).

2.2. Allogreft Rejeksiyon Tipleri

Greft rejeksiyonları reddin gerçekleşme sürelerine göre hiperakut (sonraki birkaç dakika içinde), akut (birkaç gün ile hafta içinde), geç akut (3 aydan sonra) ya da kronik (birkaç ay ile birkaç yıl sonra) olabilir. Greft rejeksiyonu patofizyolojik değişikliklere göre sellüler, intersisyel, vasküler, antikor-endotelial olarak ayrılır. Histolojik inflamasyonun şiddetine göre Banff sınıflaması yapılmıştır. Tedaviye yanıtı (glukokortikoid direncinin varlığı ya da yokluğu), disfonksiyonun varlığına ya da yokluğuna (sırasıyla akut ya da subklinik rejeksiyon) ve immünolojik mekanizmalara göre (edinsel ya da doğal immün yanıtı) de sınıflandırılabilir (18,19). Genel olarak rejeksiyonun hiperakut, akut ve kronik olmak üzere 3 temel şekli gözlenir (20).

Renal allogreft biyopsi endikasyonları:

Transplant biyopsisi klinik bulgular ve diğer yöntemlerle etiyojisi tam aydınlatılmamış greft fonksiyon bozuklukları için kullanılır. Biyopsideki histolojik bulgular prognozu ve tedavi seçimini etkileyebilir. Allogreft biyopsi endikasyonları şu şekilde sıralanabilir (21,22).

- 1- Kadavra donör transplantasyonları sonrası ilk 2-3 hafta içinde, canlı donör transplantasyonlu hastalarda ise ilk hafta içinde greftte fonksiyon görülmemesi (primer nonfonksiyon),
- 2- Rejeksiyon açısından yüksek risk taşıyan hastalarda,
- 3- Gecikmiş greft fonksiyonu olan hastalarda iki hafta sonra halen serum kreatinin düzeyinin yüksek seyretmesi,
- 4- Başlangıçtaki iyi fonksiyona rağmen, bilinmeyen bir etiyojisi ile greft fonksiyonlarında hızla bozulma,
- 5- Renal fonksiyonlarda yavaş şekilde progresyon gösteren bozulma,
- 6- Ampirik antirejeksiyon tedaviye belirli bir süre geçtiği halde yanıt alınamaması,
- 7- Açıklanamayan nefrotik sendrom ya da 1 g/L'yi aşan proteinüri,
- 8- Dismorfik eritrositlerle seyreden hematüri,

- 9- Diğer noninvaziv tekniklerle çelişkide kalınan veya net sonuç alınamayan herhangi bir renal fonksiyon bozukluğu,
- 10- Konvansiyonel antirejeksiyon tedaviye dirençli olan akut rejeksiyon olgularında, ATG yada OKT3 gibi potent immunsupresif ajanların kullanılmasından önce allogreft biyopsisi yapılabilir.

Ancak bazı yayınlarda akut rejeksiyon tedavilerinden sonra yapılacak protokol biyopsilerin yararından bahsedilmektedir (23) Yakın geçmişe kadar renal allogreft patolojisi için histopatolojik incelemede ve rejeksiyonların derecelenmesinde dünyaca kabul edilen standart bir yaklaşım yoktu. 1991’de nefropatologlar tarafından allogreft biyopsilerinde belirli bir standardizasyona gidilebilmesi için çalışmalar başlatılmıştır. Bu amaçla Kanada’nın Banff kentinde yapılan toplantılarla bir birlik sağlanabilmiş ve Banff sınıflaması olarak isimlendirilen bu şema allogreft biyopsilerinde rutin olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bizim çalışmamız 2013-2014 yılları arasındaki biyopsileri kapsadığından 2005 Banff sınıflamasına göre patolojik değerlendirme yapılmıştır. 2005 Banff sınıflaması aşağıda verilmiştir (24).

- 1) Normal
- 2) Antikor aracılı değişiklikler
 - a) Aktif rejeksiyona dair morfolojik bir kanıtın olmaması, C4d birikimi
 - b) Akut antikor aracılı rejeksiyon
 - c) Kronik aktif antikor aracılı rejeksiyon
- 3) Sınırdaki değişiklikler
- 4) T hücre aracılı rejeksiyon
 - a) Akut T hücre aracılı rejeksiyon
 - b) Kronik aktif T hücre aracılı rejeksiyon
- 5) İnterstisyel fibrozis ve tübüler atrofi
- 6) Diğer.

Bu çalışmamızda renal transplantasyon olup greft yetmezliği olan 15 hastaya renal allogreft biyopsi endikasyonları altında biyopsi yapılmış ve patolojileri 2005 Banff sınıflamasına göre yapılmıştır.

Hiperakut rejeksiyon

Transplantasyondan hemen sonra ya da 2-3 gün içinde oluşur. Sıklıkla polimorf çekirdekli lökositler içeren trombüslerin oluştuğu, arter, arteriol ve glomerülleri tutan, hızlı ve yaygın vasküler trombozisle seyrederek. Genellikle alıcının verici antijenlerine karşı önceden duyarlı olması (antikor varlığı) nedeniyle oluşur. Alıcı ve verici arasındaki ABO uyumsuzluğu da hiperakut rejeksiyona sebep olabilir. Operasyon sırasında greftin çıkarılması gerekir (25).

Böbrek çoğunlukla siyanotik ve ödemlidir. İdrar üretimi aniden durur ya da hiç başlamaz. Eğer böbrek hemen çıkarılmazsa yaygın hücresel nekroz ve bunu takip eden 24 saat içerisinde de sayısız kortikal ve medüller enfarktlar oluşur (26).

Akut rejeksiyon

Nakil sonrası herhangi bir dönemde grefte yönelik immünolojik hasar ile birlikte fonksiyonlarının akut olarak bozulmasıdır. Akut rejeksiyon nakilden sonraki 3-6 ay içinde gerçekleşirse erken akut rejeksiyon olarak adlandırılır. 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 (27).

Akut rejeksiyondan sorumlu olan iki immünopatolojik mekanizma vardır. Hücre aracılı immünite ve antikör aracılı (humoral) immünite. Bu iki rejeksiyon şekli arasındaki ayrım önemlidir (28). Akut rejeksiyonların yaklaşık %90'ı daha ziyade hücre aracılığında, %5-10'u ise humoral immün yanıtlar aracılığında gelişmektedir. Yapılan çalışmalar, CD4+ T hücrelerin akut rejeksiyonun başlamasında, CD8+ T hücrelerin ise rejeksiyonun daha sonraki evrelerinde önemli olduğuna işaret etmektedir (27).

Hücre aracılı akut rejeksiyon, erken rejeksiyonun en yaygın şeklidir ve tübülointerstisyel ve vasküler formları vardır. Işık mikroskopisi ve C4d immün boyamayı içeren immünfloresan mikroskopisi, bu lezyonların ve greft disfonksiyonu tanısının konulmasında temel yöntemlerdir. Tübülointerstisyel hücre aracılı akut rejeksiyonda birincil anomaliler interstisyumdadır. İnterstisyum yaygın olarak ödemli, az miktarda monosit ve plazma hücresi ile çoğu transforme olmuş lenfositler tarafından infiltrate olarak gözlenir. Peritübüler kapiller dilate olmuş ve lenfositlerle doludur. Tübülit denen karakteristik bir lezyon meydana gelir. Bu lezyonda lenfositler ve

monositler, tubül duvarları ve boşluğuna kadar yayılırlar. Tubüler duvarların hücreleri ve bazal membranları hasar görmüş ve sürekliliğini kaybetmiş olabilir. Hücre aracılı vasküler rejeksiyonda, lenfositler, monositler ve köpük hücreleri arteriyel endoteli zayıflatabilirler. Endotelyal hücreler, şişkin ve sıklıkla vakuollüdür ancak arter duvarı nekrozu bu tip rejeksiyonun karakteristik bir özelliği değildir. Bu tip vasküler rejeksiyon genelde tübülointerstisyel rejeksiyon ile birlikte meydana gelir.

Akut hücre aracılı rejeksiyon başarılı bir şekilde tedavi edildiğinde, interstisyel inflamatuvar infiltrat hızlıca azalırken ödem, tübüler inflamasyon ve hücre hasarı bir süre daha kalabilir (28). Subklinik rejeksiyon hiçbir klinik rejeksiyon belirti veya bulgusu olmaksızın ya da rejeksiyonun başarılı tedavisinden sonra hastaların %30'unda görülebilen akut hücre aracılı rejeksiyonun morfolojik bir halidir (28).

Antikor aracılı akut rejeksiyon rejeksiyonun seyrek görülen bir şeklidir. Klasik vasküler tip ve vasküler katılımın olmadığı tip olmak üzere iki tipi vardır. 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 (25). Antikor aracılı akut rejeksiyonun daha yaygın olan şekli, peritübüler kapillerde kompleman bileşeni C4d'nin yaygın olarak bulunduğu vasküler olmayan tiptir. C4d'nin böbrek allogreft rejeksiyonu ile ilişkili olduğu ilk olarak 1990'ların başında ortaya çıkmış, sonrasında ise vericiye özgü antikorların varlığı ve humoral rejeksiyonla ilişkili olduğu bulunmuştur. C4d boyamasının öneminin anlaşılması, rejeksiyon sürecinde antikorların rollerinin kavranmasında önemli bir adım olmuştur. C4d, humoral rejeksiyon varlığının ayak izi olarak tanımlanır. C4d, klasik kompleman kaskadına katılan C4'ün bir ürünüdür. C4d, peritübüler kapiller endoteline veya bazal membran kollajenine kovalent olarak bağlanır ve humoral rejeksiyonla ilişkili kompleman aktivasyonu için bir belirteçtir (26).

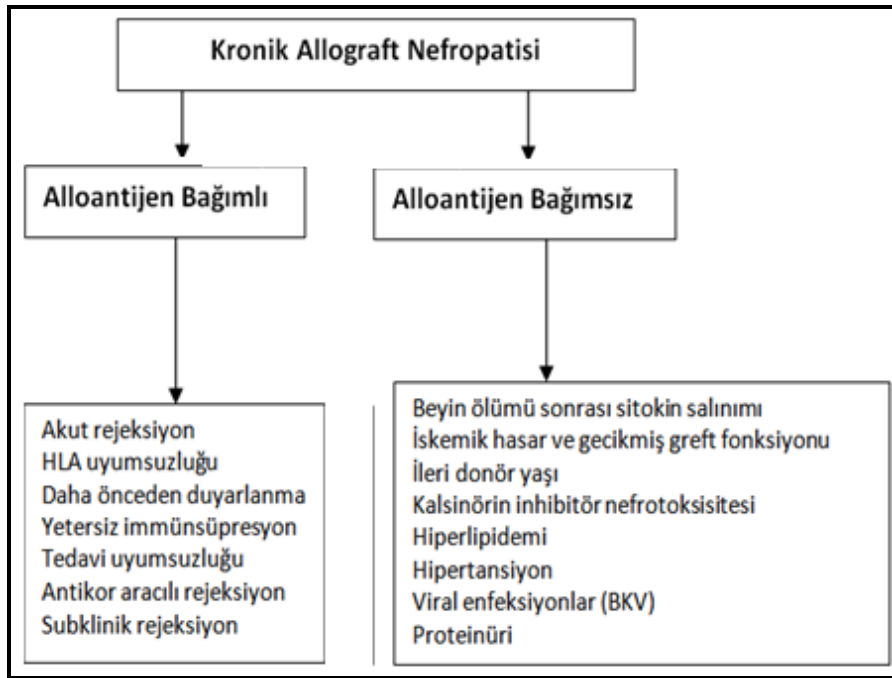
Kronik rejeksiyon

Kronik rejeksiyon akut olayların, enfeksiyonun, greftte primer hastalığın nüksü veya yeni ortaya çıkan hastalığın bulunmadığı, nakil böbrekte geç dönemde gelişen ve greft yetmezliğine neden olan en önemli sorundur. Hipertansiyon ve proteinüri ile birlikte nakil böbrek fonksiyonlarının ilerleyici şekilde kaybı ile karakterize bir klinik

tablodur (15). Transplant glomerülopatisi, kronik allograft nefropatisi, kronik allograft disfonksiyonu veya interstisyel fibrozis ve tubuler atrofi terimleri benzer klinikopatolojik süreci anlatmak için kullanılmış olmasına rağmen kronik allograft nefropatisi (KAN) terimi artık yaygın olarak kabul görmüştür (29).

Kronik allograft rejeksiyonu, rezidüel antigraft lenfositlerin ya da antikorların kontrol edilebilmesi için yeterli immünyüpresyonun sürdürülememesinden kaynaklanır. Özellikleri renal fonksiyonda progresif azalmayı, renal parankimin T hücreleri tarafından işgalini ve interstisyumun T hücreleri ve makrofajlar tarafından persistan infiltrasyonunu içerir. Zaman zaman, damarlarda hiperplaziyi ve düz kas proliferasyonu, internal elastik laminanın fokal yıkımı ve nihayetinde vasküler oklüzyon görülür (24). KAN etiolojisinde rol alabilen nedenler Şekil 2.1’de özetlenmiştir.

Günümüzde KAN etiolojisinde immün ve nonimmün faktörlerin ön planda olduğu iki etioloji kabul görmektedir.



Şekil 2.1. Kronik allograft nefropatisine neden olabilen faktörler (30).

İmmün faktörlerin ağırlıklı olduğu düşünülen greft yıpranmasını kronik red olarak isimlendirmek daha uygun olmaktadır. Nonimmün faktörler de sonuçta kronik organ disfonksiyonu olarak da bilinen greftin yıpranmasına, fonksiyonel ünitelerinin azalmasına ve yetersizliğine neden olmaktadır. Her iki durum da birbirini etkileyerek

greftte çalışan nefron sayısının azalmasına, kalan nefronların hiperfonksiyonuna ve hiperfiltrasyona, proteinüri ve sonuçta kalan nefronlarda gittikçe artan fibroza, greft fonksiyonunun azalmasına ve greft yetersizliğine neden olurlar (30).

KAN'nin patogenezi kesin olmadığı için randomize çalışmalarda, tedavisi ve hiçbir özel önleyici yöntem belirlenmiş değildir. KAN, patolojik olarak tubuler atrofi, intersitiyel fibrosis, arterlerde intimal fibroz kalınlaşma, çeşitli glomerular lezyonlardan oluşan nonspesifik patolojik bulgularla karakterizedir.

Greftte posttransplant teorik olarak, düzenli günlük immünespresif ilaç alımını takip eden saatlerde immün cevap farmakolojik olarak inhibe edilmekte, ilerleyen saatlerde ilacın yarılanma ömrüyle uyumlu zaman içinde kan düzeyinin azalması, immünespresif etkinin de azalmasına yani düşük düzeyde tekrar bir immün red cevap başlamasına neden olur. Tekrar ilaç alımı ile immün cevap tekrar durdurulmakta ya da yavaşlatılmaktadır. Bu döngü hasta düzenli olarak ilaca devam ettiği sürece devam eder. Perivasküler yavaş seyirli inflamasyon ile karakterize düşük düzeyde bir immün cevap nedeniyle, düşük derecede yavaş seyirli immün bir allogreft endotel hasarı da devamlı oluşmaktadır (20). Endotel hücreleri ve grefti infiltre eden hücreler bu hasara cevap olarak iyileşme, doku tamirinde rol alan inflamatuvar enzimler, sitokinler ve growth faktörleri ortamda salgılanmaktadır. Böylece uyarılan düz kas hücrelerinin proliferasyonu, miyositlerin medya tabakasından intimaya migrasyonu sonucu konsantrik arteriosklerotik vasküler lezyonlar oluşmaktadır. TGF-B (Transforming growth factor B) multifonksiyonel profibrojenik bir sitokindir. Ekstraselüler matriks yapımını artırır ve skar oluşumuna yardım eder. Aşırı skar dokusunun oluşumu da normal doku mimarisinin ve fonksiyonunun bozulmasıyla sonuçlanmaktadır (31).

Düşük düzeyde lenfosit aktivasyonlu perivasküler inflamasyon ve generalize arteriyoskleroz kronik redde uğramış allogreftlerde en sık rastlanan histopatolojik görüntüdür. Bu growth faktörler hipotezinin desteklenmesini düşündürmektedir. İmmün ve nonimmün faktörler sonuçta beraber grefti etkileyerek kronik organ hasarı yapmaktadır. Bunlardan biri daha çok ön planda olabilir.

Alloantijene bağlı faktörler HLA uyumsuzluğu, donör dokulara yönelik anti-HLA antikörlerinin varlığı, posttransplant denova anti-HLA antikörlerinin gelişmesi, yetersiz immünespresyon, tedavi uyumsuzluğu humoral nedenlerle devam eden rejeksiyon akut ve subklinik rejeksiyon sayılabilir (30).

HLA uyumu iyi olan nakillerde, özellikle canlı akrabalarından nakillerde greft yaşamı daha iyi olmaktadır. HLA uyumsuzluğu ile akut red ataklarının sıklığı modern immunsupresiflerden önceki dönemlerde doğru orantılı görünmekte, antijenik kronik stimülasyonun önemini ortaya koymaktadır. Klinik çalışmalarda erken akut redlerin uzun vadede kronik red için risk faktörü olduğu ileri sürülmektedir. Yeterli immunsupresyon indüksiyonu yapılmış olmasına rağmen tam durdurulamamış bir akut red olayının, sublinik inflamasyon olarak devam ettiği ve allogreft fonksiyonel ünitelerini zamanla azaltarak kronik redle sonuçlandığı düşünülmektedir. Erken dönemde humoral komponenti de olan vasküler akut red geçiren alıcılarda, reddin şiddetine paralel olarak antikora bağlı endotel hasarı da devreye girdiğinden, daha erken parankim hasarı olmakta ve kronik reddin gelişmesine daha sık rastlanmaktadır (31).

Alloantijene bağlı olmayan faktörler beyin ölümü sonrası sitokin salınımı, iskemik hasar ve gecikmiş greft fonksiyonu, ileri yaş donör, donör ve alıcı arasında vücut ağırlığı ve hacim uyumsuzluğu sonrası küçük gelen greft, ilaç nefrotoksitesisi, hiperlipidemi, hipertansiyon, DM, viral enfeksiyonlar, proteinüri, sigara alışkanlığı sayılabilir (30).

Allogreft böbreğin uzun süre soğuk iskemide kalması, posttransplant uzun dönemde kronik redde benzer morfolojik ve fonksiyonel değişikliklere yol açmaktadır. Gecikmiş greft fonksiyonlu böbrek greftlerinin istatistik olarak bir yıllık yaşam süresi daha düşüktür. Uzun soğuk iskemisi sonrası reperfüzyon hasarı ile grefte inflamasyon daha şiddetli olmakta ve erken dönem akut redlere daha sık rastlanmaktadır. Donör yaşı ilerledikçe nefron sayısı azalacağı göz önüne alındığında, donör yaşı böbrek naklinde prognozu etkileyen önemli bir faktördür. Hiperlipidemi endotel hasarına neden olarak damar duvarında lipid birikimine ve endotele trombosit adezyonuna ve inflamatuvar cevaba neden olur. Genel prensip olarak hiperlipidemiler allogreft için risk kabul edilip tedavi edilmelidir.

Bazı immunsupresif ajanlar greft yaşamını uzun dönemde etkiler. Kalsinörin blokeri ilaçlar, siklosporin A ve tacrolimus bunların içinde en bilinenidir. Uzun dönemde greftte profibrotik sitokinlerin oluşturduğu vasküler subintimal kalınlaşma ve interstiyel fibrotik değişiklikler uzun dönemde kronik redle benzerlikler gösterir ve ayırıcı tanısı zordur. Kanıta dayalı tedavi önerileri olmamasına rağmen bazı korunma ve tedavi stratejileri tanımlanmıştır. Yeterli immünsupresyon sağlayan ilaç dozları

kullanılmalı, ne aşırı toksik etkilere yol açmalı, ne de yetersiz dozlarda kullanılmasına izin verilmelidir (31).

Organ alımında ve saklanmasıdaki denenmiş kabul edilmiş prensiplere sıkı sıkıya uymak, sıcak ve soğuk iskemiyi azaltır. Greft daha az hasar görmesi nedeniyle antijenik uyarı daha az olacağından daha az inflamasyon ve akut redler oluşacaktır. Growth faktörlerin indüksiyonuyla meydana gelen immünolojik kaskadların oluşumu önlenmelidir. Bu da soğuk iske mi süresinin kısa tutulması, hastanın medikal ve immün durumuna uygun etkin immunsupresif tedavi ile olur.

Kalsinörin blokeri ilaçlarda uzun dönemde doz azaltmaları Mikofenolat mofetil (MMF) li protokollerde GFR nin artmasını sağlamaktadır ama bu karar iyi düşünülerek dikkatli şekilde yapılmalıdır yoksa akut red riski artabilir. Renal transplant hastalarında uzun dönem sonuçları iyileştirmek için daha az nefrotoksik olduğu düşünülen KNİ içermeyen immunsupresif tedavi protokollerinin kullanımının faydalı olduğunu gösteren araştırma sonuçları bulunmaktadır (32). Naklin ilk birkaç ay sonrasında KNİ'lerin kullanımlarının kısıtlanması, KAN ve KNİ toksisitesinin gelişmesini önlemede etkili olabilir (30).

Total kolesterol düşürücüleri, statinler aterosklerotik lezyonların gelişmesini engeller. Hiperlipidemi, hipertansiyon ve DM tedavisi greftin ömrünü uzatmaktadır. Azalmış glomeruler kitlesi olan ya da çeşitli nedenlerle yıpranmış greftlerde hiperfiltrasyon hasarı nedeniyle glomerulosklerozun önlenmesinde eğer kontrendikasyon yoksa ACE inhibitörleri kullanımı, proteüinirinin gerilemesini sağlayabilir. Hipertansiyonun ve DM'un medikal etkin kontrolü greftin beklenen ömrünü uzatır. CMV enfeksiyonlarından ve diğer viral enfeksiyonlardan korunma, donör + organ alan riskli hastalarda profilaktik antiviral kullanımı, enfekte hastalarda CMV antijenemisi + bulunduğu gansiklovir ile yeterli süre tedavi edilmelidir. Hasta donör organı eşleştirmesinde sadece immün faktörler değil, yaş ve vücut ağırlığı da dikkate alınmalıdır (33).

Kronik rejeksiyondan korunmak için akut rejeksiyonların erken tedavisi önem kazanmaktadır. Ancak KAN ortaya çıktıktan sonra bu yöntemler de faydalı olmamaktadır (34). Bu nedenle KAN'ın ilerlemesinde rolü olan, transplantasyon sonrası erken ve geç dönemde ortaya çıkan olayların erken tespiti ve bunların tedavisi, greft fonksiyonunun sürdürülmesinde oldukça önemlidir.

2.3. Alloimmün Yanıt

Bir türün bir üyesinden aynı türün identik olmayan başka bir üyesine organ nakli alloimmünite olarak tanımlanan donör spesifik immün yanıt ile sonuçlanır. Tedavi edilmediği takdirde alloimmün yanıtlar transplante organın (allogreft) rejeksiyonuna yol açar. Alloimmün yanıtın merkezinde T lenfositleri vardır. ASH'ler üzerinde sunulan donör antijenleriyle (alloantijenler) aktivasyonu takiben, allospesifik T lenfositleri çoğalır ve efektör hücrelere farklılaşır veya allogreft üzerindeki hasarı ortadan kaldırmaya çalışan diğer hücrelere yardım eder (35).

Yabancı bir antijene karşı oluşan herhangi bir immün yanıtta olduğu üzere alloimmün yanıt doğal ve edinsel immün yanıt olmak üzere iki evrede gerçekleşir. Doğal yanıtta, nakledilen organdaki inflamasyon ASH'leri aktive eder ve olgunlaşmış sekonder lenfoid organlara (dalak ve lenf nodları) göçünü tetikler. 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 allogreftte göçüne yol açtıklarında başlar. Efektör T hücrelerin büyük çoğunluğu nihayetinde apoptoza uğrar ve çok az bir kısmı, bir sonraki organ transplantının sağkalımını tehlikeye atacak olan uzun yaşam süreli hafıza hücrelerine dönüşürler (36).

İnsanda alloimmün yanıtın başlamasından sorumlu öz olmayan en önemli antijenler HLA olarak bilinen MHC proteinleridir. Yüksek oranda polimorfik olan MHC gen ailesi, 6. kromozomun kısa kolu üzerinde yerleşmiş olup 3500 kb'lik büyük bir bölgeyi kaplar. T hücreler, antijeni sadece ASH yüzeyindeki öz MHC genlerinin ürünleri tarafından sunulan peptidler şeklinde tanıyabilirler. MHC molekülleri her bir bireyde eş-baskın olarak eksprese edilir. MHC-sınıf I antijenleri çekirdekli hücrelerin büyük bir çoğunluğu üzerinde eksprese edilir ve CD8+ T hücreleri ile etkileşir. MHC sınıf II antijenleri esas olarak DH'ler, makrofajlar ve B lenfositler gibi ASH'lerin üzerinde eksprese edilir ve CD4+ T hücreleri ile etkileşime girer (37).

Transplantasyonda doğal immünite

Doğal bağışıklık sistemi, ister allogreft ister istilacı mikrobik 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 dek,

farklı mikrobik ürünler için bireysel spesifitesi olan 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-κB translokasyonu ile pro-inflamatuar sitokinlerin (TNF-α, IL-1, 6, 8 ve 12) ekspresyonu tetiklenir (38). Bu sitokinler, DH'lerin olgunlaşmasını, direne olan 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. TLR'lerin ısı şoku proteinleri, heparan sülfat, surfaktan ve nekrotik hücre içeriği gibi patojenden bağımsız endojen sinyallerle de aktive olabildiği bildirilmiştir. Bu bulgu TLR'lerin nakledilen organa karşı immün yanıtın başlatılmasında rol oynayabileceklerini düşündürmektedir (35).

Transplantasyonda edinsel immünite

Edinsel immün yanıt, 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.

Alloimmün yanıtın genişleme evresi

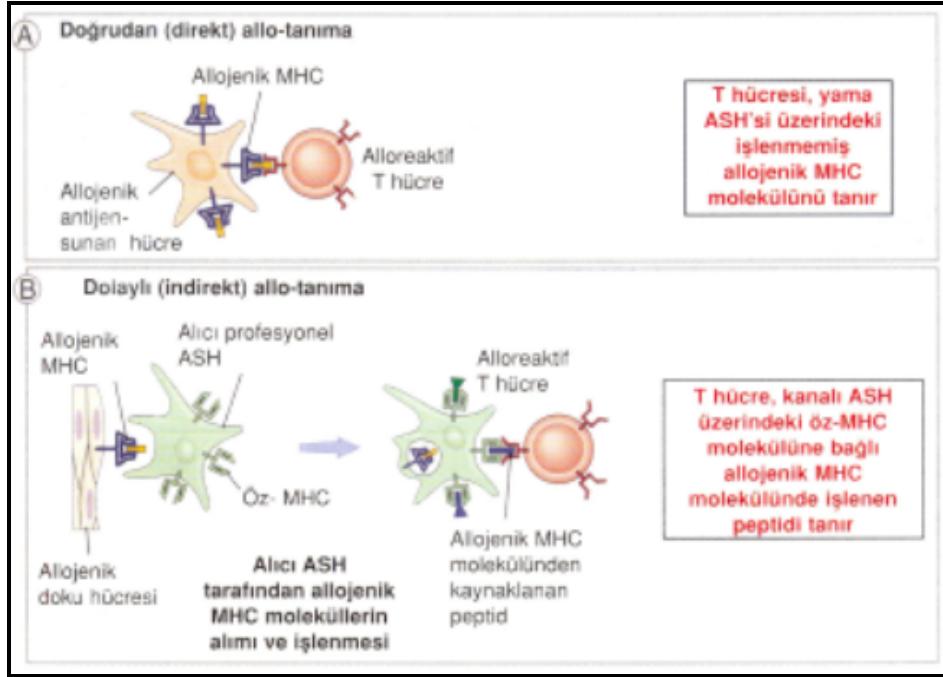
Allotanıma: Yabancı transplant antijenleri (alloantijenler) alıcının T hücreleri tarafından tanınır ve bu T hücreleri doğrudan ve dolaylı tanıma olarak adlandırılan iki yolakla aktive olabilir.

Doğrudan tanımda, alıcının T lenfositleri, donör ASH'si üzerinde eksprese olan alloantijenler tarafından tetiklenir. Bu ASH'lere genelde yolcu lökositler denir ve bunlar transplante edilen organlardan konağın sekonder lenf organlarına göç etmişlerdir. Bu alloantijenler, donör MHC'si ile kompleks oluşturmuş endojen peptidlerden oluşur.

Bu peptidler ise ya histokompatibilite antijenlerinden ya da aynı türlerin tüm üyelerinde yaygın olan korunmuş proteinlerden (öz peptidler) köken almışlardır. MHC ile sunulan peptid öz peptid ise alloreaktif T hücresi tarafından 'yabancı' olarak algılanıp T hücre aktivasyonuna yol açar (39).

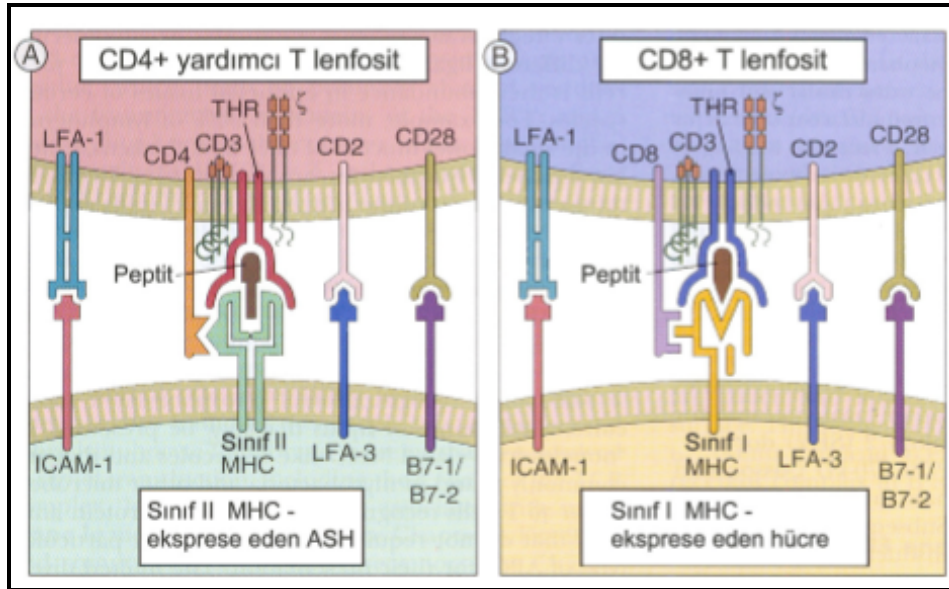
Dolaylı tanımda ise, donör hücreleri üzerindeki alloantijenler, alıcının ASH'leri tarafından yakalanır, işlenir ve öz MHC molekülünün yarığında alıcı T lenfositlerine

sunulur. Erken posttransplant dönemde hem doğrudan hem dolaylı tanıma mekanizması etkili iken, geç greft reddinde etkin olan dolaylı tanıma mekanizmasıdır (39).



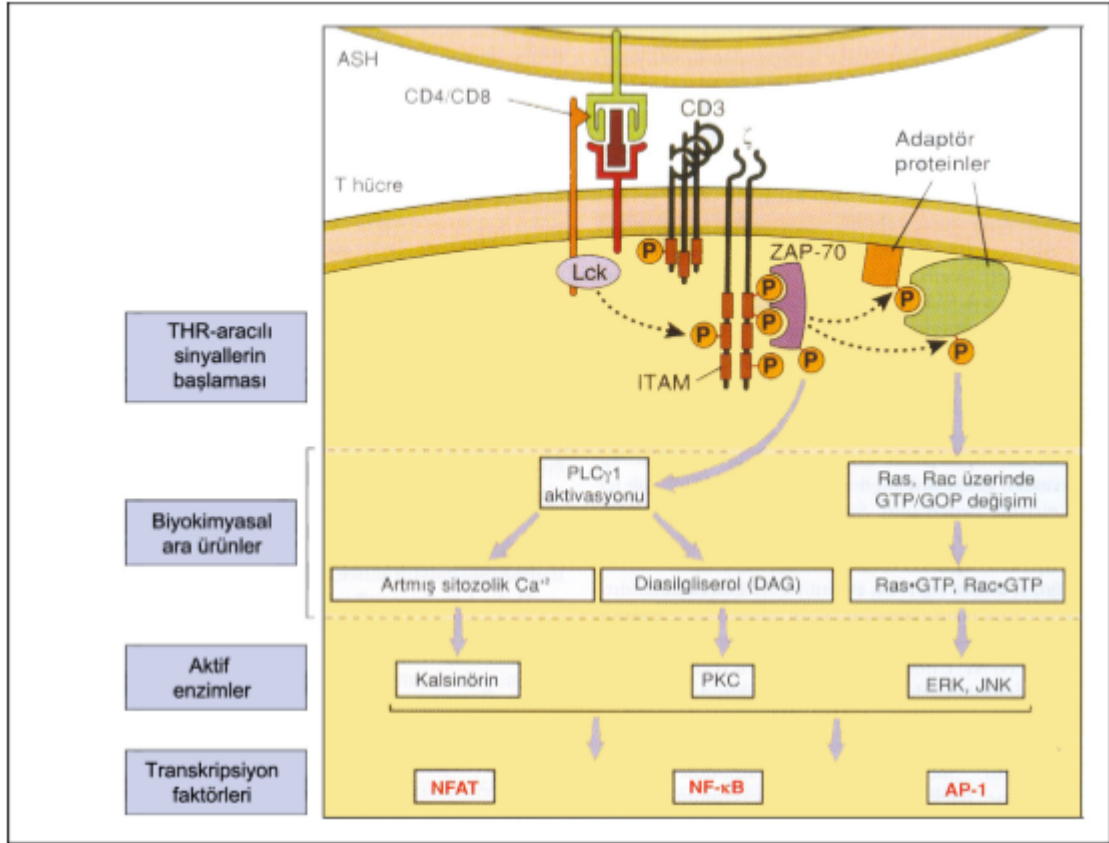
Şekil 2.2. Alloantijenin doğrudan ve dolaylı yolla tanınması (32).

T lenfosit aktivasyonu: T hücre aktivasyonuna yol açan ASH-T hücre etkileşimindeki ilk olay THR'nin ASH üzerindeki MHC-peptid kompleksine bağlanmasıdır (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. T Lenfositlerinin aktivasyonuna yol açan moleküller (32).

THR'nin hücre içi sinyalizasyonu tetikleme yeteneği, CD3 membran molekülü ve ζ zinciri ile kovalent olmayan etkileşimlere bağlıdır. Bu THR kompleksi tarafından başlatılan hücre içi sinyal olayları protein kinazları, fosfolipazları ve kalsiyuma bağlı bir protein fosfataz olan kalsinörünü içerir. Klinik olarak önemli immunsupresif ajanlar olan Siklosporin A ve takrolimus etkilerini kalsinörün etkisini inhibe ederek gösterir. Th hücre yüzeyinde eksprese olan CD4 molekülleri MHC sınıf II ve sitotoksik T hücre yüzeyinde eksprese olan CD8 molekülleri de MHC sınıf I moleküllerinin polimorfik olmayan bölgelerine bağlanırlar ve THR-CD3 kompleksi aracılığıyla sinyalizasyonu arttırırlar (Şekil 2.4) (40).

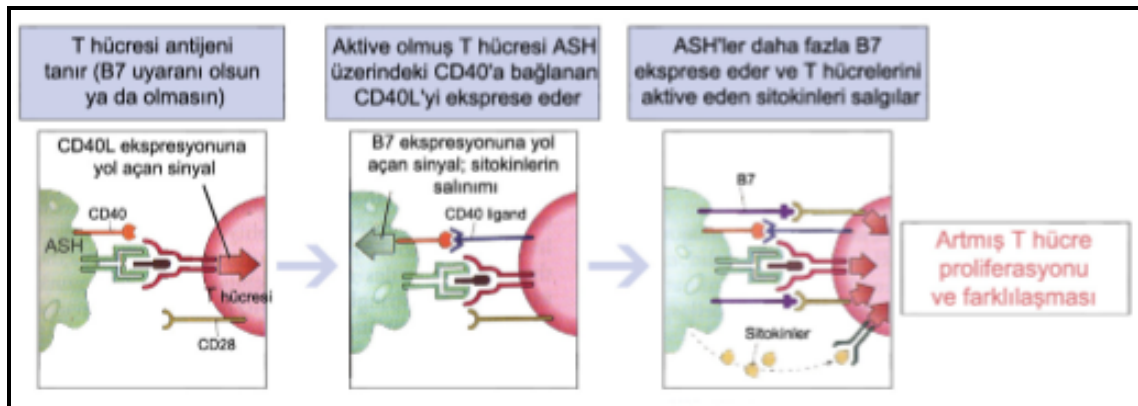


Şekil 2.4. T lenfositlerde sinyal iletim yolları (40).

Yabancı peptid-MHC kompleksi ile THR-CD3 etkileşimi, T hücre proliferasyonu ve yardımcı veya sitotoksik T hücrelerine farklılaşma için yeterli değildir. T lenfositler üzerinde eksprese olan eş-uyaran moleküller tarafından sağlanan ek yardıma ihtiyaç vardır. Bu eş-uyaran yollar, ASH ve T lenfositler arasında sıkı bir 'immünolojik sinaps' oluşmasına katkıda bulunur. Sinaps, MHC-peptid kompleksi tarafından

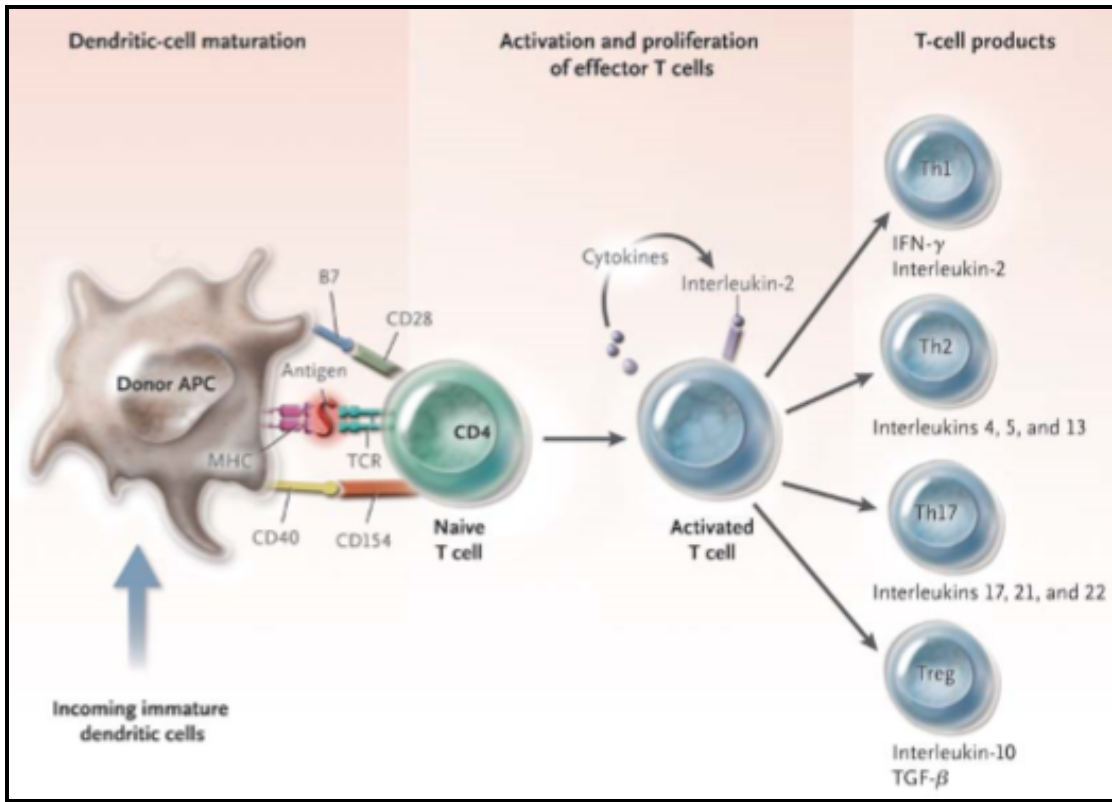
oluşturulan THR organizasyonunun T hücre proliferasyonunu tetiklemeye yetecek kadar uzun süre devam etmesini garantiler. Pek çok eş-uyaran molekül tanımlanmış olmasına rağmen, alloimmünitenin tetiklenmesi için kritik olanlar CD28 ve CD40 ligandır (CD40L veya CD154). ASH-T hücre etkileşimi sırasında ASH 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 iletisi başlar. Sonuçta, artmış ve sürekli THR-CD3 sinyalizasyonunu takiben IL-2 üretimi ve T hücre proliferasyonu artar. CD28'in aksine CD40L eş uyaran 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 sitotoksik T hücrelerine farklılaşmasını uyarır. İkinci olarak, B lenfositleri üzerindeki CD40'ın T hücreleri tarafından bağlanması, edinsel humoral immün yanıtın 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. CD28 ve CD40L, T lenfoistler üzerinde mevcut olan tek eş-uyaran moleküller değildir. ICOS, OX40L, 4-1BB ve CD70L gibi diğer membran proteinleri de T hücreleri için eş uyarı sağlarlar (Şekil 2.5) (40).



Şekil 2.5. T hücre aktivasyonunda CD40'ın rolü (40).

Sitokinler: ASH ve aktive olmuş alloreaktif T lenfositler tarafından üretilen sitokinler, ASH fonksiyonları, T hücre proliferasyonu ve efektör hücrelere farklılaşmayı artırmak için otokrin ya da parakrin bir şekilde etki ederler. Sitokin ekspresyonunun akut rejeksiyonla ilişkili bulunduğu in vivo ve in vitro deneylerle gösterilmiştir. Bu çalışmalardan çıkan sonuçlar; sitokin etkilerinin oldukça fazla olması, tek bir sitokinin birden çok etkisi olabilmesi ve bu sebeple alloimmün yanıtın aktivatör, efektör ve düzenleyici evrelerini etkileyebilmesidir. Örneğin IL-2, T hücre proliferasyonu için gerekli bir sitokin olmasının yanında bu hücreleri apoptoz için programlayan bir T hücre mitojenidir. In vivo IL-2 eksikliği immün yetmezliğe neden olmaz ancak aktive olmuş T lenfositlerin birikimi, otoimmünite ve uzun dönem allogreft kabulünde başarısızlık ile sonuçlanır (41). Antijenin ASH tarafından sunulmasından sonra T lenfositler aktif hale gelir, proliferer olur ve karakteristik sitokin profillerine sahip alt tiplerine diferansiye olur. Th1 hücreleri sellüler immün yanıtı tetikler ve Th2 hücreleri humoral immün yanıtı üretir. Treg hücreleri rejeksiyon yanıtını sınırlayabilir. Th17 hücreleri glukokortikoide dirençli rejeksiyona aracılık edebilir (43).



Şekil 2.6. T lenfositlerin aktivasyonu (43).

Alloimmün yanıtın efektör evresi

Allogreft rejeksiyona giden efektör yollarda olaya dahil olan birden çok hücre tipi ve mekanizma vardır.

Sitotoksik T hücreleri

CD8+ sitotoksik T hücreleri hedeflerini antijene spesifik ve MHC sınırlı bir şekilde tanırlar. Bir Sitotoksik T hücresi ve allogreft arasındaki etkileşimin en son noktası hedef hücrelerin apoptozudur. İki apoptoz yolağı tanımlanmıştır. İlkinde, aktive olmuş CD8+ T hücreleri hücre içi granüllerde saklanan perforin ve granzim enzimlerini sentez ederler. Bu transformasyona CD4+ T yardımcı hücreler tarafından sekrete edilen IFN- γ ve IL-2 yardım eder. MHC sınıf I molekülleri bağlamında sunulan alloantijenle temas sonucu granüller içeriklerini boşaltır ve perforin hedef hücre membranında delikler oluşturur. Bu delikler Sitotoksik T hücre granüllerinden salınan granzimlerin sitoplazmaya girerek mitokondriden sitokrom C salınımını ve hedef hücrenin apoptozunu tetiklemelerine de olanak sağlar. İkinci yolda ise Sitotoksik T hücreleri FasL-Fas yolağı vasıtasıyla hedef hücre lizisini tetikler. TNF ailesinin bir üyesi olan ölüm reseptörlerinden Fas, çoğu hücrede zorunlu olarak eksprese edilirken, FasL T hücrelerinde aktivasyondan sonra eksprese edilir. Sitotoksik T hücreleri üzerindeki FasL'nin hedef hücredeki Fas'a bağlanması kaspaz bağımlı yollar aracılığıyla apoptoza yol açar (43).

Monositler ve makrofajlar

Bir organ transplantına infiltre olan monositler, greft rejeksiyonuna katılan makrofajlara farklılaşırlar. Gecikmiş tip aşırı duyarlılık (delayed type hypersensitivity-DTH) yanıtına katılırlar. DTH yanıtını CD4+ T hücreler yönetir. Aktive olmuş CD4+ T hücreler hem CD40L-CD40 yolağı vasıtasıyla, hem de IFN- γ ve Lenfotoksin (LT) sekrete ederek makrofajları uyarırlar. Makrofajlar, sitokinleri (TNF, IL-1, 6, 10, 12 ve 15), fibrozise neden olan kemokinleri, reaktif oksijen türlerini, nitrik oksidi, proteolitik enzimleri ve ekstraselüler matriks elemanlarını içeren bir ortam oluşturur. Nitrik oksit, yeterince yüksek lokal konsantrasyonlarda tek başına da sitotoksik olabilir. TNF, endotelial hücreler üzerinde adezyon moleküllerinin ekspresyonunu uyarır, intravasküler trombozu artırır ve nötrofiller, eozinofiller ile makrofajları aktive eder. TNF gibi IL-1 de, lokal doku enflamasyonuna aracılık eder. IL-6, aktif B hücrelerinin plazma hücrelerine farklılaşmalarındaki geç bir evrede büyümelerini uyarır. IL-12, NK

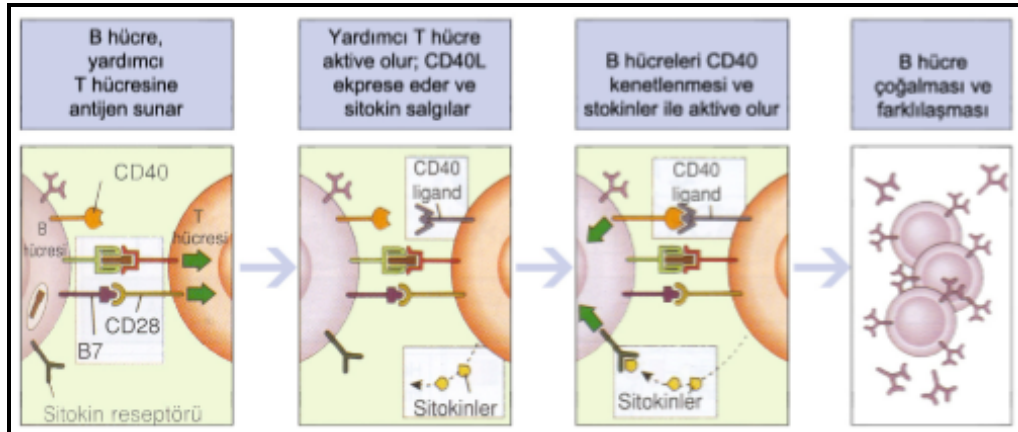
ve T hücreleri tarafından IFN- γ üretimini uyarır ve Sitotoksik T hücre oluşumunu artırır. IL-15, NK ve T hücreleri için özellikle de CD8+ hafıza T hücreleri için mitojen görevi görür (35).

Doğal öldürücü hücreler

NK hücreleri, T ve B lenfosit belirteçlerini eksprese etmeyen bir lenfosit alt grubudur. IL-2, IL-15 ve tip I IFN'lerle aktive olurlar. IL-12 ile uyarılınca IFN- γ salgırlar. IFN- γ daha sonrasında greftin özellikle endotelial hücreleri tarafından kemokin sekresyonunu tetikler ve aktivitesi artmış T hücrelerinin ilgili bölgeye çağrılmasına yol açar. Allo greft rejeksiyonda anlamlı bir rol oynadığı gösterilmiş olan inflamatuvar sitokinler içerir. NK hücreleri de CD8+T hücreleri gibi hedef hücreleri perforin ve granzim salgılayarak öldürürler (36).

B hücreleri ve alloantikorlar

Donörün HLA moleküllerine karşı yönelmiş antikorlar (alloantikorlar) nakledilen organ için en büyük tehdittir. Alloantikor oluşumu genelde kan transfüzyonları, hamilelik veya daha önceki organ nakilleri vasıtasıyla sensitize olunması diğer bir deyişle, yabancı HLA proteinlerine maruz kalınması durumunda meydana gelir (44). B lenfositler antijen reseptörleri (membrana bağlı immüoglobulinler-BHR) vasıtasıyla spesifik HLA moleküllerini tanır ve HLA-antikor kompleksini içine alır, allo_{peptid}lere parçalar ve CD4+ T hücrelerine MHC-sınıf II molekülleri bağlamında sunarlar. Aktive olmuş CD4+ T hücreleri tarafından IL-2, IL-4 ve IL-5 üretimi ve CD40-CD40L aracılığıyla T-B etkileşimleri B hücre olgunlaşması, proliferasyon, izotip değişimi ve zararlı alloantikorların üretimi ile sonuçlanır (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. B hücrelerin yardımcı T hücre aracılı aktivasyon mekanizmaları (44).

Antikor-aracılı allogreft hasarın en dramatik örneği, alıcıda daha önceden oluşmuş donör spesifik antikorlar tarafından nakil esnasında başlatılan hiperakut rejeksiyondur. Hiperakut rejeksiyona neden olan önceden oluşmuş antikorlar anti-AB0 ve anti-HLA IgG antikorlarını özellikle de sınıf I HLA'ya karşı oluşan antikorları içerir. Kompleman ve koagülasyon kaskadları yaygın endotelyal hasar, intravasküler tromboz ve greft nekrozuna yol açacak şekilde aktive olur. Alloantikorlar ya kompleman kaskadını aktive ederek ya da antikora bağımlı hücrel sitotoksositeye (antibody dependent cellular cytotoxicity-ADCC) aracılık ederek doku hasarına neden olur. Sensitize olmamış hastalarda, humoral rejeksiyon hem akut hem de kronik rejeksiyonun bir nedeni olarak tanımlanmıştır ancak göreceli önemleri bilinmemektedir. Örneğin, B hücresi hasarlı farelerde şiddetli akut allogreft rejeksiyon gözlenirken kronik transplant arterioskleroz gelişmemektedir. Bu bulgular, alloantikorların kronik rejeksiyonda önemli bir rol oynadıklarını düşündürmektedir. İnsanlarda, humoral renal allogreft rejeksiyon tanısı biyopsi örneklerinde komplemanın C4d bileşeninin boyanması ile konur (45).

Eozinofiller

Eozinofiller Th2 tipi CD4+ T hücrelerin salgıladıkları sitokinler tarafından allogreftte toplanırlar. Th2 tipi hücrel rejeksiyon CD8+ veya CD4+ Th1 hücrelerin olmadığı deneysel modellerde meydana gelebilir ve eozinofilik infiltrat ile karakterizedir. Bu bulgunun klinik anlamı bilinmemektedir ancak hipereozinofilinin akut rejeksiyonu ilerlettiği ve akut olarak rejekte olan greftlerde aktive eozinofiller ve IL-5 ekspresyonunun gözlemlendiği bildirilmiştir (35).

Alloimmün yanıtın düzenleyici evresi

Yabancı antijene karşı yanıtta antijene özgü lenfositlerin çoğalması ve efektörlere farklılaşmasını hızlı bir klonal daralma izler. Başlangıçta, lenfosit uyarımını tetikleyen antijenin ortadan kaldırılması primer immün yanıtların sonlandırılmasındaki nihai yoldur. Ancak, transplante bir organ gibi büyük ya da kalıcı antijen yükleri olan olgularda pek çok baskılayıcı mekanizma devreye girer. Bu mekanizmalar aktive olmuş T lenfositleri proliferasyonunu ve sağkalımını düzenleyen hücre yüzey molekülleri (CTLA4 veya CD152) ve sitokinleri içerir (TGF- β , IFN- γ). İmmün yanıtları baskılayabilen Treg'lerin varlığına dair de çalışmalar devam etmektedir (46).

Alloimmün yanıtın hafıza evresi

Edinsel immün yanıtın önemli bir özelliği hafıza lenfositlerinin oluşumudur. Efektör T hücrelerinin büyük çoğunluğu pırmir immün yanıt sonrasında apoptoza girse de birkaç lenfosit uzun yaşamlı hafıza T hücrelerine farklılaşmak üzere sağ kalır. Mikrobik antijenleri tanıyan hafıza T hücreleri, organizmanın potansiyel olarak ölümcül olan enfeksiyonlara karşı uzun süreli korumasını sağlar. Donör alloantijenlerini tanıyan hafıza T hücreleri ise aksine akut ve kronik rejeksiyona aracılık ederek hayat kurtarıcı nitelikteki organ naklini felce uğratar (15).

Allogreft kabulünün hücresele ve moleküler mekanizmalarını kavramadaki gelişmelere rağmen transplante edilen organın uzun dönem sağkalımı hala üstesinden gelinmeyi bekleyen bir klinik sorundur. Dahası, sürekli immünsüpresyon olmaksızın transplantasyon toleransının sağlanması ve allogreftin kabulünün gerçekleşmesi zor klinik hedeflerdir. Görünüşte başa çıkılmaz gibi duran bu mücadelenin nedeni alloimmün yanıtın özelliklerinden köken almaktadır. Bu özellikler bir bireyde çok sayıda alloreaktif T hücresinin olması, alloimmün yanıtı söndürmekten sorumlu immün düzenleyici mekanizmaların kısıtlamaları ve yabancı antijenlere karşı immün yanıtın evrimsel olarak immünolojik hafıza yaratmak üzere tasarlanmış olduğu gerçeğidir. Bu gerçek uzun dönem allogreft kabulü ve transplantasyon toleransının önündeki en büyük engeldir. Tüm bunlara rağmen transplantasyon immünolojisi ve test teknolojilerindeki ilerlemeler de nakil başarısının artırılmasına belirgin katkılarda bulunmaktadır (15).

2.4. Böbrek Naklinde İmmünolojik Testlerin Yeri ve Önemi

Böbrek naklinde immünolojik rejeksiyon riskini azaltmak için nakil öncesi pek çok klinik ve laboratuvar testleri yapılmaktadır. Bu nakil öncesi immünolojik testlerden ülkemizde de rutin uygulamaya girmiş olanlar başta ABO kan grubu tayini olmak üzere, doku tiplmesi olarak adlandırılan, alıcı ve verici hücreleri üzerinde eksprese edilen HLA allelerini belirleme testi, donör popülasyonunda anti-HLA antikor tarama ve tanımlama testleri ve belirli bir donöre karşı yönelmiş anti-HLA antikor olup olmadığını tespit etmek amacıyla yapılan cross-match (çapraz eşleştirme) testidir (47).

HLA doku grubu uyumu

HLA uyumu oldukça önemli olup, nakil sonrası rejeksiyon hızına etki ettiği için bu antijenlerin üzerinde durulmalıdır. HLA A, HLA B ve HLA DR fenotipleri tüm alıcılarda ve vericilerde kontrol edilmelidir. Kadavra vericilerine ait böbrekler, HLA lokusunda en az sayıda uyumsuzluğu olan alıcıya transplante edilmelidir. Aynı koşullar canlı verici transplantasyonu için de geçerlidir. Canlı verici transplantasyonunda, kadavra böbrek transplantasyonuna göre HLA uyumunun greft sonucuna etkisi daha azdır. Çünkü canlı verici transplantasyonunda, greft rejeksiyonuna ilişkin diğer risk faktörleri örneğin soğuk iskemi zamanı en aza indirilebilir.

HLA uyumsuzluğunun sayısıyla, nakil sonrası greft fonksiyonu arasında sıkı bir ilişki vardır. Nakil uyumsuzluğu, B hücre allo-antikör üretiminin aktivasyonuna ve alıcı CD4+ ve CD8+ T hücrelerinin proliferasyonu ve aktivasyonuna yol açar. Bu hücrel ve humoral greft rejeksiyonuna neden olur (48).

ABO kan grubu uyumu

ABO kan grubu antijenleri kuvvetli transplantasyon antijenleridir ve ABO bariyerine karşı yapılan nakiller çoğunlukla geri dönüşümsüz hiperakut rejeksiyon ile sonuçlanır. Prensipite, kan transfüzyonları için geçerli olan O kan grubunun evrensel verici ve AB kan grubunun evrensel alıcı olması durumu böbrek nakli için de geçerlidir. Kan grubu engelini üstesinden gelmek amacıyla yapılan çalışmalar, ABO uyumsuz bir canlı donör varlığında plazmaferez veya immünoabsorpsiyonla kan grubu izoaglutininlerinin temizlenmesini ve beraberinde sıklıkla splenektomiye içerir. ABO kan grubu uyumsuz böbrek nakilleri, kadaverik organ bağışının dini açıdan uygunsuz bulunduğu Japonya ve Kore olmak üzere pek çok merkezde başarıyla uygulanmaktadır. Alıcı ve verici arasındaki Rh faktör uyumsuzluğunun greft sağkalımı üzerine bir etkisi yoktur (49).

Anti- HLA antikörlerini tarama ve tanımlama

Doğal yollarla oluşan ABO antikörlerinin aksine anti-HLA antikörleri yalnızca, kan transfüzyonları, gebelik ve rejekte olmuş greftler vasıtasıyla yabancı HLA'ya maruz kalınması sonucu oluşur (50). Nakil öncesi anti-HLA antikörlerinin varlığının genelde kötü allogreft sonlanım için bir risk faktörü olduğu çok eskiden beri bilinmektedir (51). Nakil sonrası gelişen anti-HLA antikörleri ve rejeksiyonlar arasındaki ilişkinin

bildirilmesini takiben, de novo anti-HLA antikor üretiminin greft sonlanımı üzerine olan etkisine dair de pek çok kanıt bildirilmiştir (52). Pek çok çalışmada, anti-HLA antikorları ve akut rejeksiyon, rejeksiyon atak sayısı, kronik rejeksiyon ve greft sağkalımında azalma arasında anlamlı ilişkiler bulunmuştur (53). Nakilden sonra üretilen donör spesifik antikorların da immünolojik komplikasyon ve greft yetmezliği ile korele olduğu gösterilirken donör-spesifik olmayan antikorlar ve rejeksiyon arasındaki kuvvetli ilişkiye de dikkat çeken çalışmalar vardır. Anti-HLA antikor tarama/tanımlama testleri hasta serumunun farklı donör popülasyonlarını temsil eden hücrelerle/hücre havuzlarıyla testlenmesi prensibine dayanır. Mikrolenfositotoksisite, akım sitometrisi ve ELISA yöntemleri kullanılmaktadır (54).

Alıcı ve verici arasında yapılan cross-match testleri

Bir alıcı için potansiyel bir donör belirlendiği takdirde, hastanın donör hücreleri ile reaksiyona girecek antikorlara sahip olup olmadığını gösteren testtir. Planlanan nakilden hemen önce yapılan bu immünolojik test ile hastada donöre karşı yönelmiş, donöre özgül (donor specific antibody-DSA) IgG tipi anti-HLA antikorlarının olup olmadığı tespit edilir. DSA varlığı transplantasyon için bir kontraendikasyondur. Günümüzde artık hemen her HLA laboratuvarında nakil öncesi mutlaka bir kez akım sitometrisi kullanılarak cross-match testi yapılmaktadır. Bu yöntem dolaşımdaki çok düşük miktarlardaki antikorları bile tespit edebilecek hassasiyettedir. Akım sitometrik cross-match testi pozitif olan nakillerde erken akut rejeksiyon epizodu gelişme oranı daha yüksek ve 1 yıllık greft sağkalımı daha düşüktür (55). Cross-match testlerinin prensibi antikor tarama testlerinininkine benzerdir. Ancak, bu testte hasta serumunun belli bir donörün hücrelerine (özellikle lenfositler) karşı reaksiyon geliştirip geliştirmediği tespit edilir. Cross-match testleri için mikrolenfositotoksisite, akım sitometrisi ve son zamanlarda ELISA yöntemleri kullanılmaktadır (56).

2.5. D Vitamini

D vitamini, A, E ve K vitaminleri ile birlikte yağda eriyen vitaminler grubuna girmekte olup aynı zamanda bir dokuda sentezlenip, hedef dokuya etki etmesi için dolaşım sistemine salınan, miktarı feedback mekanizması ile düzenlendiği için vitamin özelliği yanında hormon olarak da görev yapan bir vitamindir. D vitamini anne karnındaki yaşamdan ölüme kadar, insanın iskelet sistemi, büyüme, gelişme ve korunma gibi birçok fonksiyonlar için gereklidir (57).

D vitamininin genel özellikleri

D vitamininin, insan vücudunda güneş ışınlarının etkisi ile üretildiği ve bitkiler aracılığı ile hazır alındığı gibi 750 milyon yıl öncesinden beri okyanuslarda yaşayan planktonlar tarafından da üretildiği belirtilmiştir. İlk kez 1919 - 1920'li yıllarda vitamin olarak adlandırılan D vitamininin, insanlarda eksikliğinin ilk olarak Endüstri Devriminin ortaya çıkması ile gündeme geldiği belirtilmiştir. D vitamininin öneminin anlaşılması ile raşitizm tedavisinde önemli sonuçlar elde edilmiştir. Birçok gıda maddesinin D vitamini yönünden zenginleştirilmesi ile 1930 - 1940'lı yıllarda raşitizmin önüne geçilmiştir (57).

1970'li yılların sonlarında, kandaki D vitamini seviyesinin sadece kalsiyum ve fosfor metabolizması üzerinde etkili olduğu sanılmaktaydı. Ancak ilerleyen yıllarda birçok dokuda (pankreas, meme, bağırsak, akciğer, gonadlar, T ve B lenfositler, mide, deri, beyin, kalp) VDR'nin varlığı saptanınca D vitamininin sadece kalsiyum ve fosfor metabolizması değil, immün fonksiyonların regülasyonu, hücrel proliferasyon ve diferansiyasyonun regülasyonu, hormon sekresyonun regülasyonunda etkili olduğu anlaşılmıştır (58).

D vitamininin oluşumuna etki eden faktörler

İnsanlarda güneş ışığı vitamini olarak bilinen vitamininin ortalama %90 - 95'i güneş ışığı yardımı ile oluştuğu gibi hazır olarak da alınabilir. Cilde ulaşan güneş miktarını ve 7-dehidroksikolesterolün oluşum miktarını etkileyen faktörler aynı zamanda ciltte D vitamininin yapımını da etkilemiş olur. Bu sentezi birçok faktör etkileyebilir. Bunlar arasında, yaşanan bölgenin enlemi, güneş koruyucu kremler, mevsimler, deri pigmenti, güneşlenme saati ve süresi, beden kitle indeksi olarak sıralanabilir (58).

Yaşanılan bölgenin enlemi

Ülkemiz 36 - 42 derece kuzey enlemleri ve bol güneş alan jeopolitik bir alanda bulunduğu için yılın sadece 4 ayı D vitamini üretimine yetersiz güneş ışığı almaktadır. Yılın geri kalan aylarında gelen güneş ışığı, D vitamini yapımı açısından yeterli düzeydedir (57). Yapılan çalışmalarda, serum D vitamini seviyesinin ilkbahar ve kış aylarında daha düşük olduğu saptanmıştır.

Yaşanılan bölgeye gelen güneş açısı (Zenith Açısı)

Zenith Açısı, D vitamini sentezi için gerekli güneş ışını açısıdır. Bu açının büyümesi, güneş ışığındaki fotonların daha uzun yol kat etmelerine neden olmaktadır. Bu da bize neden 35 derece enlemden daha büyük enlemlerde yaşayanların D vitamini sentezi açısından yetersiz olduğunu açıklamaktadır (57).

Güneşlenme saati ve süresi

Yapılan araştırmalara göre, eller ve yüzün haftada en az 2 saat veya günde en az 20 dk olmak üzere direk güneş ışığı alması gerektiğini belirtmişlerdir. D vitamini sentezi için derideki sınır değer cm^2 başına 18 - 20 mj (UVB) olarak belirlenmiştir. D vitamini sentezi için en uygun saatin saat 11.00 ile 15.00 arası olduğu belirtilmiştir (58).

D vitamini sentezi için pencere camı arkasından güneşlenmek yeterli değildir nedeni, pencere camından 320 nm düşük güneş ışınları geçirmediği için cam arkasından güneşlenmenin D vitamini sentezinde etkisinin olmadığı belirtilmiştir (58).

Deri pigmenti (Melanin)

Melanin, D vitamini sentezini etkileyen bir filtre olup 290 - 310 nm dalga boyunda UVB ışınlarını absorbe eder. Başka bir deyişle derideki ultraviyole ışınların emilimini azaltarak D vitamini oluşumunu %99 oranında azaltabileceği belirtilmiştir. Melanin, bir filtre görevi gördüğü ve koyu tenli kişilerdeki melanin oranı açık tenlilere oranla daha fazla olduğundan, koyu tenlilerin D vitamini sentezi için açık tenlilere göre güneş ışığında daha fazla kalması gerekmektedir. Çünkü melanin, D vitamini sentezi için pro-D₃ vitamini denilen 7-dehidroksikolesterol ve güneş ışığı ile yarışma halindedir. Açık tenli birinin kol ve bacaklarının ortalama 10 – 20 dk güneşte kalması ile yeterli D vitamini miktarının yarısını alabilir bu da oral yoldan alınan 3000 IU 'ye eşittir. Ancak koyu tenli bir kişinin yeterli D vitamini alması için açık tenli birine oranla 3 - 6 kat daha fazla güneşte kalması gerektiği belirtilmiştir (57,58).

Cilde sürülen güneş koruyucu kremlerin etkisi

Güneş koruyucu kremlerin, D vitamini sentezi ile aralarında ters bir kolerasyon vardır. Güneş koruyucu kremler, güneş ışınlarının etkisini belirgin derecede azaltır. Örneğin, koruyucu krem eğer 8 faktör değerinde ise D vitamini üretimini %92.5, 15 faktör değerinde ise %99 oranında azalttığı belirtilmiştir (57).

Beden kitle indeksi

Beden kitle indeksi ile 25(OH)D₃ arasında ters kolerasyon vardır. D vitamini yağda eriyen bir vitamin olduğu için kilolu kişilerde artan yağ dokusu ile orantılı olarak depolanan oranı da artar. Böylelikle dolaşımdaki miktarı azalır. Fazla miktarda sentezlenen D vitamininin toksik etkisi yoktur. Nedeni ise güneş ışığına maruz kalındığında UVB ışınları öncül molekül olan pre-D₃ vitaminini, D vitaminine dönüştürdüğü gibi vücuttaki D vitaminini inaktif metabolitlere çevirir. Bu durum neden fazla güneşlenmenin D vitamini toksisitesine yol açmadığını açıklanmıştır (58).

2.6. D Vitamini Oluşumu Mekanizması

D vitamini dört halka sistemi ve 8 ya da 9 karbonlu yan kolu bulunan bir sterol türevidir. B halkası, 5 ile 6. ve 7 ile 8. karbonları arasında ikişer çift bağlı, 9 ile 10. karbonlar arasından açılmış, diğer A, C, D halkaları ise doymuş olan bir halka sisteminden oluşmaktadır. Bunlardan en önemlileri diyet ile alınan bitkisel kökenli ergosterolden türeyen ergokalsiferol [D₂ vitamini] ve hayvansal kökenli deride kolesterolün oksitlenme ürünü olan 7-dehidrokolesterolden (pro-D₃) türeyen kolekalsiferoldür [D₃ vitamini]. İnsan vücudunda sadece D₃ vitamini sentezlenir. Genellikle balık yağı, somon, morino, sardalya, ringa, uskumru, alabalık, ton, hamsi gibi birçok balık türü, yumurta sarısı, balık karaciğerinde bulunmaktadır Bitkisel kökenli D₂ vitamini (ergokalsiferol) morötesi ışınlar aracılığı ile yapraklarda sentezlenir. D₂ vitamini genellikle yumurta sarısı, süt, brokoli, yeşil soğan, maydanoz, su teresi ve mantarlarda bulunmaktadır. Her ikisi de hem diyetle alınır hem de sentetik olarak üretilebilir (59).

Pro-D₃, D vitamini yapımında öncül maddedir, karaciğerde sentezlenerek sonra dolaşım sistemi aracılığı ile derideki malphigi tabakasına gelir. Pro-D₃ derinin malphigi

tabakasındaki, keratinositlerin plazma zarında bulunur.290-310 nm dalga boyundaki güneş ışınları, derinin malphigi tabakasına etki ederek pro-D₃ vitaminini nonenzimatik fotoliz sonucu pre-D₃ vitaminine çevirir. Derideki pro-D₃ vitamininden pre-D₃ vitamin sentezi organizmanın ihtiyacına göre ayarlanır. 15 dakika gibi kısa bir sürede sentez gerçekleşir. Pre-D₃ vitamininden D vitaminine dönüşüm ise oldukça yavaş, ısıya duyarlı olarak izomerizasyon ile gerçekleşir ve bu durum organizmanın ihtiyacına göre ayarlanır (60).

Pre-D₃ vitamini olarak adlandırılan kolekalsiferol, kolesterolün oksitlenme ürünü olan 7-dehidroksikolesterolden sentezlenmektedir (60).

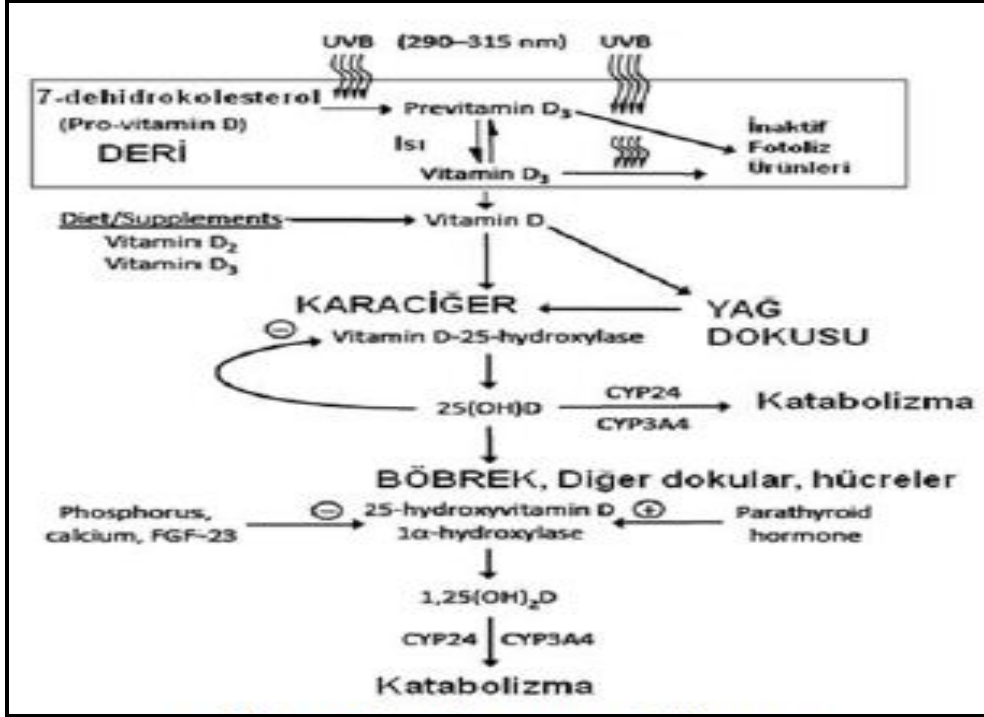
Kolekalsiferol ve ergokalsiferol etki mekanizması açısından aynı etkiyi gösterir. Ancak insan vücudunda yalnız kolekalsiferol sentezlenir, ergokalsiferol daima dışarıdan hazır alınmaktadır. İnsan vücudu, yeteri kadar 7-dehidroksikolesterol içermektedir. Yaşın ilerlemesine bağlı olarak epidermisteki 7-dehidroksikolesterol miktarı azalır bu nedenle 70 yaşındaki bir kişi ile 20 yaşındaki biri kişi karşılaştırıldığında aynı sürede güneş ışığına maruz kalma durumunda, 70 yaşındaki bir kişinin 20 yaşındakine oranla %25 daha az D vitamini sentezlediği bilinmektedir. Ancak yeteri miktarda güneş ışığına maruz kalındığında yaşlılarda bu açığın kapandığı bilinmektedir (61).

D vitamini, deride pre vitamin olarak sentezlendikten veya diyet ile dışarıdan alındıktan sonra D vitamini bağlayıcı protein (D-binding protein; DBP) olan α -1 globuline bağlanarak karaciğere taşınır. DBP, D vitamininin bütün şekillerini bağlar. Serbest formda bulunan miktarı %1 – 3 iken, DBP bağlı miktarı %97 - 99 oranındadır. Karaciğere gelen D vitamininde ilk hidrosillenme 25- hidroksilaz enzimi (CYP2, CYPA4, CYP2R1, CYP27A1) aracılığı ile mitokondri ve mikrozoamlarda 25. pozisyonda gerçekleşir, besinin dışarıdan hazır alınıp alınmamasına bağlı olarak, 25-hidroksiergokalsiferol 25(OH)D₂ veya 25(OH)D₃ oluşur (58).

Deride üretilen ve dışarıdan alınan D vitamini 25- hidroksilaz (CYPA27A1) enzimi aracılığı ile 25(OH)D'ye dönüşür. Bu madde 'kalsidiol' olarak adlandırılmaktadır (58).

Kalsidiol, DBP'ye bağlanarak dolaşım yolu ile böbreğe gelir. Böbrekte proksimal tübül hücrelerinin mitokondrileri, 1 α hidroksilaz enzimi içeriği bakımından zengindir. Kalsidiol, böbrekte 1 α hidroksilaz enzimi (CYP27B1) ile 1. pozisyonda tekrar hidrosillenerek 1,25 hidroksikolekalsiferol (1,25(OH)₂D₃) veya 1,25

hidroksiergokalsiferol'e (1,25(OH)₂D) dönüşür ve oluşan madde 1,25(OH)₂D "kalsitriol" olarak adlandırılır (60).



Şekil 2.8. D vitamini oluşumu ve etki mekanizması.

Birçok çalışmada 25(OH)D₃'den 1-alfa hidroksilaz enzimi vasıtası ile 1,25(OH)₂D₃'e dönüşümünün sadece böbreklere ait bir özellik olmadığı bildirilmiştir. 1-alfa hidroksilaz enzimine ait gen ve D vitamini reseptörü (VDR) geni renal hücreler dışında, deri, prostat, paratiroid, kemik doku, kolon, lenfosit, akciğer, meme dokusu, monosit ve makrofajlar gibi birçok hücre veya dokuda eksprese olabilmektedir. Belirtilen dokularda aktif D vitamininin, daha çok intakrin veya parakrin faktör olarak işlev gördüğü, dolaşımdaki aktif D vitamini düzeylerine gebelik, kronik böbrek yetmezliği, sarkoidoz, tüberküloz, granümatöz hastalıklar ve romatizmal hastalıklar gibi özel durumlar dışında katkı sağlamadığı bildirilmektedir. Örnek olarak; aktif makrofajlarda aktif D vitamininin üretilmesi sarkoidoz ve tüberküloz gibi granümatöz hastalıklarda hiperkalsemi ve hiperkalsiüri gelişmesine neden olmaktadır (62,63).



Şekil 2.9. 1-alfa hidroksilaz enzimini ve D vitamini reseptörü (VDR) dağılımı.

D vitamininin katabolize olma yolu hem karaciğer ve hem böbrekte bulunan 24 hidroksilasyondur. 24,25(OH)2D3 daha polardır ve hızla böbrekten atılır. 1,25(OH)2D3 24-hidroksilasyonla “kalsitroik aside” dönüşür ve safra yolu ile atılır. Ayrıca 1,25(OH)2D3 vitamini 24 hidroksilaz enziminin salınımını arttırmakta böylece 1,25(OH)2D3 vitamini inaktif formuna çevrilmekte ve safraya atılmasını sağlamaktadır (64).

2.7. D Vitamini Metabolizmasının Kontrolü

Derideki pro-D3, pre-D3 ve D3 vitamin dönüşümü güneş ışınlarının denetimi altındadır. UV ışığa ve solar radyasyona uzun bir süre maruz kalınması durumunda pre-D3 vitamini biyolojik etkisi olmayan lumisterol ve takisterol gibi bir takım fotoliz inaktif yan ürünlerine dönüşür. Deride sentezlenen D3 vitamin fazlası yine UV etkisi altında inaktif fotoliz yan ürünlerine dönüşmektedir. Bu durum gereksiz D vitamini sentezini önleyerek canlıyı D vitamini intoksikasyonundan koruyan fizyolojik bir kontrol mekanizmasıdır (62). Karaciğerde 25 hidroksilasyon hızı D vitamini alımı arttıkça

azalmaktadır. Fakat yüksek dozda D vitamini alındığında 25(OH)D₃ sentezindeki bu düzenleme D vitamini zehirlenmesini önleyememektedir.

Serum aktif D vitamini düzeyleri sağlıklı erişkinlerde dar limitler içerisinde değişmektedir. Hatta D vitamini zehirlenmesi durumlarında bile normal düzeylerde olabilmektedir. Böbrekte 1-alfa hidroksilasyon aktivitesini kontrol eden faktörler PTH, Ca ve fosfordur. Hipokalsemi, artan PTH sekresyonu ve hipofosfatemi renal 1-alfa hidroksilaz enzim aktivasyonu yolu ile aktif D vitamini yapımını artırırken, hiperkalsemi, osteoblastlardan salgılanan fibroblast growth faktör 23 (FGF 23) ve aktif D vitamininin kendisi ise 1-alfa hidroksilaz enzimi üzerinden aktif D vitamini sentezi üzerine inhibitör etki yapmaktadır. Aktif D vitamininin osteoblastlardan FGF 23 sentezini arttırmasına rağmen, 1-alfa hidroksilaz enzimini süprese ederken 24-hidroksilaz enzim aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir. Yine kalsitonin, prolaktin ve seks hormonlarının aktif D vitamini sentezini stimüle ettiği bildirilmiştir (65,66).

Serum Ca, P, PTH düzeylerinin normal sınırlarda olduğu durumlarda 25(OH)D₃ ve 1,25(OH)₂D₃, böbreklerden 24-alfa hidroksilaz enziminin aktivasyonu yolu ile biyolojik olarak inaktif şekillere metabolize olmaktadır (24,25 dihidroksi D vitamini ve 1, 24, 25 trihidroksi D vitamini). Bu enzim tercihen 1,25(OH)₂D₃'ye bağlanır ve böylece inaktivasyon yolu ile dokulardaki aktif D vitamininin etkisi sınırlanır. 24-hidroksilaz enzim aktivitesinin düşük olması, 1,25(OH)₂D₃ düzeyinin gereksiz yüksek olmasına ve bu durumda hiperkalsemi yanında intramembranöz kemik mineralizasyonunun da bozulmasına neden olabileceği ileri sürülmektedir. Diğer yandan 1,25(OH)₂D₃ sentezi azaldığında 1-alfa hidroksilaz enzim aktivitesi artarken, 24-hidroksilaz enzim aktivitesi azalmaktadır. Yine FGF 23'ün, 24-hidroksilaz enzim aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir (67,68).

Böbrek-dışı dokularda aktif D vitamini sentezinin kontrolü

1-alfa hidroksilaz enzimi aracılığı ile aktif D vitamini sentezinin sadece böbreklere ait bir özellik olmadığı birçok çalışmada bildirilmiştir. 1-alfa hidroksilaz enzimine ait gen ve VDR geni renal hücreler dışında, deri, plasenta, prostat, paratiroid, kemik doku, kolon, akciğer, meme dokusu, B ve T lenfositler, damar düz kas hücreleri, hipofiz, over, mide, pankreas β hücreleri, timus, monosit ve makrofajlar gibi birçok hücre veya dokuda eksprese olabilmektedir. Aktif D vitamininin buldukları dokularda daha çok intrakrin veya parakrin faktör olarak işlev gördüğü bildirilmektedir. Bu hücrelerde aktif

D vitamini yapımı birincil olarak substrat bağımlıdır. Bu dokularda PTH ve FGF 23'e ait reseptörler bulunmadığından aktif D vitamini yapımı ve denetiminde görev almazlar. Aktive makrofajlarda aktif D vitamininin 1-alfa hidroksilaz enzimi üzerinden negatif geri bildirim de yoktur. Yine bu hücrelerde 24-hidroksilaz enzimi eksprese olmakla birlikte fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir. Keratinositler ilgili reseptörler vasıtası ile uyarılır ve TNF-alfa ve interferon-gamma keratinositlerde aktif D vitamini üretimini arttırır. Makrofajların aksine keratinositler de tam fonksiyon gören 24-hidroksilaz enzim aktivitesi vardır ve aktif D vitamini tarafından indüklenir ve böylece aktif D vitamini epidermiste kendi sentezini alternatif katabolizma yoluyla sınırlamış olur (69,70).

D vitamini reseptörü (VDR)

Steroid hormonlar gibi D vitamini de gelişim, farklılaşma ve çeşitli uyaranlara karşı hızlı bir şekilde cevap vermekle görevlidir. Hücre içi reseptörleriyle etkileşerek gen ekspresyonunu düzenler. Kalsitriol (1-25(OH)₂D₃) Vit D'nin aktif metabolitidir (71). Kalsitriole bağımlı gen transkripsiyonu, nükleer hormon reseptör süper ailesinin bir üyesi olan, Vit D reseptörüne (VDR) ve hedef genin promotör bölgesindeki özel Vit D cevap elementine (VDRE) bağlıdır (72).

VDRE hormonunun DNA'ya bağlanma bölgesiyle ilişkiye girerek onun hetero veya homodimerizasyonunun oluşmasına yardımcı olur. Genellikle her gen için farklı bir VDRE görev alır. VDR, D vitamininin hormonal formu olan kalsitriolün bağlanmasıyla, kalsiyum dengesini sağlayacak olan proteinleri kodlayan genlerin ekspresyonunu sağlar (71,73). İnsan VDR geni, kromozom 12q13-14 bölgesinde bulunur (92,93). Yaklaşık 75 kb olup, 9 eksondan oluşur (71,72,74,75).

Bazı kaynaklarda VDR geninin 11 eksondan oluştuğu da bildirilmiştir (75). Bu durum 5' ucunda bulunan ve 1A, 1B, 1C olarak isimlendirilen 3 eksonun tek bir ekson olarak kabul edilmesinden kaynaklanır. Ekson 1A, 5' ucunda translasyonu yapılmayan bölgeyi, ekson 2 ve ekson 3 DNA bağlanma bölgesini (C veD bölgesi) ve ekson 4- 9 ligand bölgesini (E bölgesi) kodlar (75).

VDR aracılı 1,25(OH)₂D₃ verilen yanıtın derecesi hücresel VDR içeriği, genetik ve posttranslasyonel VDR modifikasyonları ve nükleer koregülatörlerin mevcudiyet ve aktivasyon durumlarıyla ilişkilidir (76). VDR, ligandına bağlanmış durumdayken nükleusda bulunur. VDR'nin ligandına bağlanmadığı durumda hücredeki dağılımı ise tartışma konusudur.

İmmunositokimyasal çalışmalar, liganda bağlanmamış VDR'nin az miktarda sitozolde bulunabileceğini ileri sürmektedir. Bunun yanında liganda bağlanmamış VDR'nin kromozomal DNA'ya gevşek olarak bağlanmış şekilde nukleusda ve sitozolde bir denge halinde bulunduğu da bildirilmiştir (92). Floresan işaretli kalsitriol kullanarak yapılan bir çalışmada ligandına bağlanmamış VDR'nin çoğunun sitoplazmada, genellikle golgi kompleksi, endoplazmik retikulum ve mikrotubullerde bulunduğu, fakat plazma membranında bulunmadığı saptanmıştır. Bu çalışmalarda kalsitriol verilmesini takip eden beş dakika içinde sitoplazmik ve nükleer VDR miktarının dengelendiği görülmüştür (71).

VDR ekspresyonunun düzenlenme mekanizması iyi bilinmemekle birlikte, bu mekanizma kalsitriol sentezi ve kalsitriol metabolizmasına bağlıdır. VDR ekspresyonunun düzenlenmesinin hücre tipine özel olduğu ve hem transkripsiyonal, hem de transkripsiyon sonrası mekanizmaları içerdiği farklı hücre soylarında yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (100,103). Serum kalsiyum ve fosfat seviyelerindeki değişiklikler hedef dokudaki VDR ekspresyonunda farklılıklara neden olur (71,74). Bunun yanında, PTH, VDR ekspresyonunun düzenlenmesinde rol alır. Östradiol'ün postmenapozal kadınlarda osteoporozu karşı koruyucu etkisini osteoblastik hücrelerde VDR ekspresyonunu artırarak sağladığı düşünülmektedir (77).

D vitamini reseptörü (VDR) geni renal hücreler dışında, deri, prostat, paratiroid, kemik doku, kolon, lenfosit, akciğer, meme dokusu, monosit ve makrofajlar gibi birçok hücre veya dokuda eksprese olabilmektedir (62,63).

Lenfositlerin farklı alt gruplarında ve diğer lökositlerde pek çok yüzey molekülü farklı olarak eksprese edilir ve CD nomenklatürüne göre adlandırılır (CD3,CD4 yardımcı T lenfositlerde, CD3, CD8 sitotoksik T lenfositlerde mevcuttur).

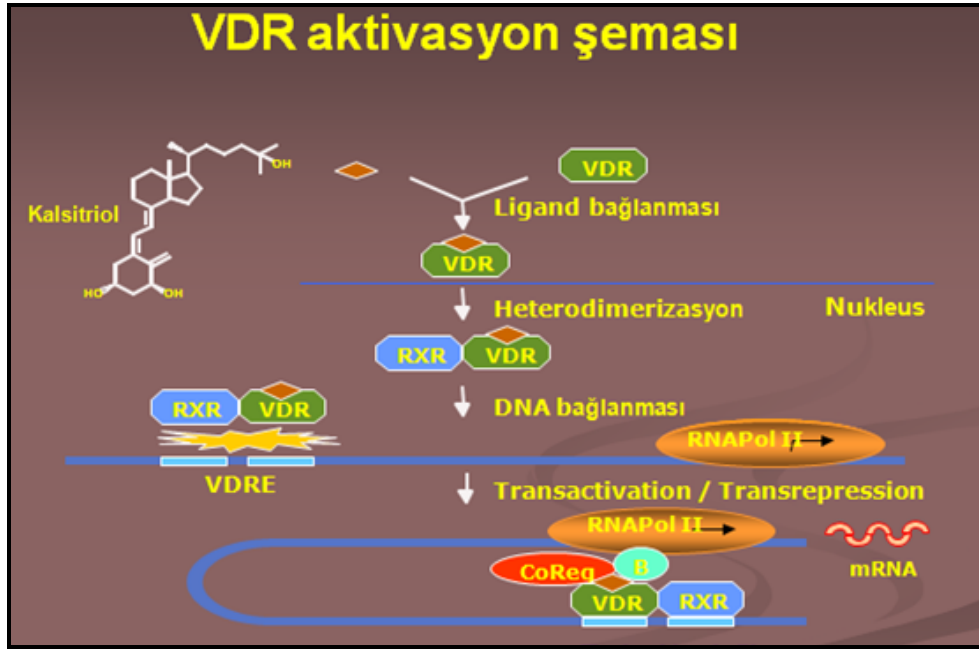
2.8. D Vitamininin Etki Mekanizması

D vitamininin reseptör düzeyindeki etkisi aktif D vitamini sayesinde gerçekleşir. Bu etki diğer steroid hormonlarda olduğu gibi ya doğrudan olarak (saatler veya günler içinde gerçekleşen) nükleer VDR üzerinden gen transkripsiyonunu regüle ederek (genomik etki) ya da daha kısa sürede (dakikalar) gerçekleşen hücre membranı üzerindeki VDR üzerinden genellikle geçici olan iyonların Ca, klorür (Cl) transmembran geçişini değiştirerek veya hücre içi sinyal yolak aktivitelerini aktive

ederek gerçekleştirmektedir (non-genomik etki). D vitaminine ait yapılan gen ekspresyon çalışmalarının hemen hepsi, aktif D vitamininin doğrudan veya dolaylı olarak total genomun %0.8-5'ini regüle ettiğini vurgulamaktadır. Bu durum aktif D vitamininin hücrel büyümenin düzenlenmesi, DNA onarımı, diferansiasyon, apoptozis, membran transportu, hücrel metabolizma, adezyon ve oksidatif stres gibi birçok olayda görev almasını açıklamaktadır (68).

VDR; steroidler, tiroid hormonları ve retinoik asit reseptörlerini içeren bir nükleer hormon reseptör süper ailesinin bir üyesidir. Aktif D vitamini hedef hücre membranını kat ettikten sonra her reseptörde aktif D vitamininin bağlandığı bir ligant bağlayıcı bölge ve reseptörün DNA'ya bağlanmasını sağlayan iki adet parmak gibi çıkıntı yapan bölge ve bunları kararlı halde tutan birer çinko atomu bulunmaktadır. VDR geninin hedef gende eksprese olabilmesi için hedef gendeki retinoik asit X reseptörü (RXR) ile bir heterodimer oluşturması gerekir. Böylece, aktif D vitamininin bağlı olduğu kompleks, DNA üzerinde bulunan D vitamini cevap elemanı (D vitamini responsive element, VDRE) olarak bilinen bölgeye bağlanır.

Sonuç olarak; 1,25(OH)₂D₃-VDR-RXR-VDRE etkileşimi sonucunda transkripsiyon gerçekleşmiş olur. Bu transkripsiyonel aktivite ko-aktivatör ve ko-represörlerle denetlenmektedir. Böylece, VDR gen ekspresyonu marifeti ile Ca bağlayıcı protein veya osteokalsin gibi gen ürünleri down veya up regüle edilerek aktif D vitamininin genomik etkisi gerçekleşir. VDR genindeki olası genetik değişiklikler protein sekansındaki değişikliklere neden olur ve böylece, Ca metabolizması yanında hücre proliferasyonu, immün fonksiyonların etkilendiği önemli defektler ortaya çıkabilir. Diğer yandan aktif D vitamini, plazma membran reseptörüne bağlanmak sureti ile MAP veya cAMP gibi ikinci habercileri aktive ederek Ca kanalları, pankreasın beta hücreleri, vasküler düz kaslar, bağırsaklar ve monositler üzerinde de etkili olabilmektedir (non-genomik etki). Aslında D vitamini nükleer reseptörü ligantına ait genomik ve non-genomik aktivitelerin birbirini tamamlayıcı nitelikte olduğu bildirilmiştir (68,69).



Şekil 2.10. VDR aktivasyon şeması (78).

2.9. D Vitamini Düzeyleri

D vitaminin serum değerini belirlemek için biyokimyasal olarak 1,25(OH)₂D₃ vitamini ve 25(OH)D₃ vitamini olmak üzere iki test kullanılmaktadır. Serum 25(OH)D₃ vitamini yarılanma ömrü yaklaşık olarak 20 gün olup vücudun D vitamini havuzu hakkında en iyi bilgi veren parametredir. Bu ölçüm ile diyetle alınan veya güneş ışınlarının etkisi ile oluşan D vitamin kısımları ayırt edilememektedir (51,52). D vitaminin biyolojik olarak aktif şekli 1,25(OH)₂D₃ vitamini olup, yarılanma ömrü yaklaşık olarak 3-6 saat olup, plazmada 16-65 pg/ml düzeyinde bulunur. Serum 25(OH)D₃ vitamin seviyesi mor ötesi ışınlar ile artarken endokrin sistem tarafından sıkıca kontrol edilen 1,25(OH)₂D₃ D vitamini değerleri etkilenmemektedir (59).

Biyolojik olarak aktif form olan 1,25(OH)₂D₃ vitamini ölçümü D vitamini düzeyi değerlendirilmesi için ideal değildir. Çünkü yarılanma ömrü 3-6 saat kadar kısa ve dolaşan kan düzeyi 25(OH)D₃ vitaminine göre 1000 kat daha düşüktür. Serum kalsiyum, fosfat ve PTH düzeylerinden etkilenir. Bununla birlikte kalsitriol, 25(OH)D₃ vitamini düzeyleri düşük olmasına rağmen normal sınırlarda olabilir veya sentezi hiperparatiroidi nedeniyle artmış olabilir (79,80,81).

D vitamini, PTH ve kalsiyum arasındaki ilişkiler nedeniyle D vitamini yeterliliği; PTH yüksekliğine neden olmayacak serum 25(OH)D₃ vitamini düzeyidir ki; buna eşik değer denir. PTH düzeyinde plato değerler oluşturan 25(OH)D₃ vitamini konsantrasyonları normal D vitamini düzeyleri olarak kabul edilmektedir. Erişkinlerde yapılan çalışmalarda serum 25(OH)D₃ vitamini düzeyi 15 ng/ml (37,5 nmol/L) altına indiğinde parathormon düzeyi arttığı gösterilmiştir. Böylece erişkinlerde eşik değer 15 ng/ml olarak kabul edilmektedir (82,83).

Kidney Disease Outcomes Quality İnitiatif (K-DOQI) rehberine göre dolaşımdaki 25(OH)D₃ düzeyini 5 ng/ml'den düşük ise ciddi D vitamini eksikliği, 5-15 ng/ml arasında ise hafif D vitamini eksikliği, 15-29 ng/ml arasında ise D vitamini yetersizliği, 30 ng/ml den yüksek ise normal D vitamini düzeyi, 150 ng/ml'den yüksek ise D vitamini intoksikasyonu olarak değerlendirilmektedir (84). KDIGO kılavuzu, renal transplantasyon hastalarında kalsidiol (25(OH)D₃) düzeylerinin ölçülmesini ve D vitamini eksikliğinin genel toplumdaki gibi tedavi edilmesini önermektedir (85).

Renal transplantasyon hastalarında D vitamini eksikliği sık karşılaşılan bir durumdur. Yetişkin renal transplantasyon alıcılarında D vitamini eksikliğinin sıklığı %85'in üzerinde bulunmuştur (86).

Renal transplantasyon alıcılarında D vitamini eksikliğinin başlıca nedenleri; diyaliz ve transplantasyon sonrasında yetersiz D vitamini desteği almaları, cilt kanserinden korunmak için transplantasyon sonrası güneşe maruziyetin kısıtlanması, immunsupresif ilaçlardan dolayı 25(OH)D₃ katabolizmasının artması (87) transplantasyon sonrası dönemde persistan FGF23 hipersekresyonu, renal tübüler asidoz ve renal fonksiyon kaybıdır (88).

2.10. D Vitamini ve İmmün Sistem

1980'li yıllardan itibaren yürütülen çalışmalar, D vitamininin, kalsiyum homeostazisi ve kemik metabolizması dışında hücre farklılaşması, proliferasyon inhibisyonu ve immün modülasyonu içine alan çok önemi biyolojik etkileri olduğunu ortaya koymuştur.

İlk kez 30 yıl önce aktif kalsitriol için reseptörlerin çeşitli neoplastik hücre çeşitlerinde buldukları fark edildi. Bunu takip eden çalışmalar kalsitriolün D vitamini reseptörüne bağlanmasıyla antiproliferatif etkinliğinin harekete geçtiğini ve kanser

hücrelerinde değişik yanıtlara sebep olduğunu gösterdi. Kalsitriolün VDR reseptörüne tutunması ile immün sistem hücrelerinde VDR'nin keşfi ve aktive dendritik hücrelerde (DH) D vitamini üretiminin gösterilmesi ile D vitamininin immünitede regülatuar rol oynadığı iddiasını gündeme getirmiştir (89).

D vitamini ve doğal immünite

İnvazif patojenlere karşılık veren ilk immün yanıtıdır. Polimorf nüveli lökositler, monosit ve makrofajlar kadar epidermis, akciğer, bağırsak ve mesane gibi organların hücrelerinde bulunan toll-like reseptör (TLR)'lerin aktivasyonu yolu ile fonksiyon görür. TLR'nin transmembran patojen mikroorganizma tanıma özelliği vardır ve patojen tarafından bu reseptörün uyarılması konakta doğal immüniteyi uyarır. Böylece antimikrobiyal peptidler (defensin, katelisidin) ve reaktif oksijen ürünleri uyarılır ki bunlar da mikroorganizmaların ölümüne neden olurlar. Bu antimikrobiyal peptidler içerisinde katelisidin çok önemlidir (90).

Monosit ve makrofaj

Sarkoidozlu hastalarda makrofaj kaynaklı 1-alfa hidroksilaz aktivitesinin saptanması immün cevabın düzenlenmesinde D vitamininin etkisinin gösterilmesini sağlamıştır. D vitamininin makrofajlar üzerindeki anahtar rolü öncül monositlerin daha olgun fagositik makrofajlara dönüşmesinde yardımcı olmaktadır görüşü yıllardır oldukça yaygındı. Bu görüş monosit makrofaj farklılaşmasında VDR ve 1-alfa hidroksilaz enzim ekspresyonunun saptanması ile desteklenmiştir (91).

1-alfa hidroksilaz etkinliği makrofajların interferon- γ ile uyarıldığında kalsitriol sentezleyebilmesi ile daha da vurgulanmıştır (92). D vitamininin otokrin ve intakrin etkilerinin gösterilmesi; 2006 yılında Liu ve arkadaşlarının mikobakterium tüberkulozisin monositlerde doğal immünite genlerinin spesifik olarak göstermeleriyle olmuştur. Bu çalışmada hem D vitamini, hem de 1-alfa hidroksilaz gen sentezi, mikobakterium tüberkulozis ve toll like reseptörlerinin (TLR) uyarılmasıyla artmıştır (93). D vitamini TLR nin koreseptörü olarak görev yapan CD14'ün sergilemesini indükler.

Özellikle TLR-25(OH)D₃ kombinasyonu antibakteriyel protein olan katelisidin sentezini uyarır. Bundan dolayı D vitamini monositleri mikobakterium tüberkulozisi öldürmek için uyarır. Son zamanlarda ki raporlar katelisidin D vitamininin hedefi olduğunun altını çizmektedir. Bununla birlikte bazı çalışmalar TLR in 1-alfa hidroksilaz

aktivitesini potent olarak indükleyen IL15 aktivasyonu ile indirekt olarak uyardığını göstermektedir (94). Benzer şekilde IL17A'nın kalsitriol aracılı katelisin sentezini artırdığı bilinmektedir (95). 1,25(OH)₂D₃ tarafından antibakteriyel proteinlerin düzenlenmesi keratinositler akciğer epitelial hücreleri myeloid hücre serisi plental trofoblastları da içeren hücreler olmak üzere makrofaj dışı hücrelerde de gösterilmiştir (96). Daha önceki gözlemler ve bu bulgular göstermektedir ki D vitamini patojenlerin eliminasyon mekanizmasında güçlü bir uyarıcıdır. Bununla beraber D vitamini immün aktivasyonu feedback kontrolüne sahiptir ve kalsitriol monosit TLR2 ve TLR4 ü baskılayarak normalde bu reseptörler tarafından aktive edilen immün cevabı baskılar (97). Böylece D vitamini otoimmünite gelişimini baskılayabilir.

Dendritik hücreler

En iyi bilinen profesyonel antijen sunucu hücreler DH(dendritik hücre)'dir. Dendritik hücrelerde D vitamini reseptör ekspresyonu ilk kez 1987 yılında gösterilmiştir. 2000 yılında Adorini ve Kumar grupları kalsitriol ve sentetik analoglarının monosit kökenli dendritik hücrelerinin maturasyonu dolayısıyla T lenfositlerine antijen sunumunu baskıladıklarını gösterdiler (98).

Bu gözlemler temel alınarak kalsitriol ve analogları ile tedavi edilen farelerde pankreatik islet naklinde daha az rejeksiyon olması ile bu bulgu desteklenmiştir. Kalsitriolün oluşturduğu bu etkinin dendritik hücrelerin oluşmasındaki azalmayla beraber süpresör regülatuar T lenfositlerde (Treg) artış nedeniyle olduğu düşünülmektedir (99). Olgun dendritik hücrelerde monosit ve immatür dendritik hücrelere oranla daha az D vitamini reseptörü vardır. 25(OH) D₃ tedavisinin dendritik hücrelerin olgunlaşmasını ve T lenfositlerinin proliferasyonunu baskıladığını göstermiştir. Monosit kökenli dendritik hücrelerinden elde edilen bilgiler 1-alfa hidroksilaz dendritik hücreleri daha olgun fenotipe dönüştürdüğünü göstermiştir (100). Bu ters 1-alfa hidroksilaz ve D vitamini reseptör organizasyonu kalsitriol duyarsız olan matür dendritik hücrelerde bir avantaj olabilir. Çünkü bu durum başlangıçtaki T lenfosit cevabına olanak sağlar. Bununla beraber bu hücreler tarafından sentezlenen yüksek miktarda kalsitriol immatür dendritik hücrelerde ki D vitamini reseptörüyle etkileşerek onların daha fazla gelişmesini engelleyebilir (101). Bu yolla; lokal olarak üretilen kalsitriolün parakrin etkisi başlangıçta T lenfositlere antijen sunumuna izin verirken DH'nin daha fazla maturasyonu ve T lenfositlerin daha fazla uyarılmasını engeller.

D vitamini ve edinsel immünite

T lenfosit fonksiyonları

İstirahat halinde ki T lenfositler saptanamayacak düzeyde VDR sentezlerler. Fakat antijenik uyarı sonrasında T lenfositler proliferere oldukça VDR sentezi artar. D vitamininin T lenfositler üzerindeki etkisini inceleyen ilk çalışmalar kalsitriolün T lenfosit proliferasyonunu baskılayabileceğine odaklanmıştır (102). Antijenle uyarılan CD4+ T hücreleri sitokin üretme durumuna göre iki farklı tip T hücreye ayrılır. Bunlar Th1 (enflamatuar T-hücreler), Th2 (anti-enflamatuar T-hücreler) (103). Th1 hücreleri; proenflamatuar sitokinler, IFN-gamma, IL-2 ve TNF alfa üretirler ve bu sayede kuvvetli hücrel immün cevaptan sorumludurlar (otoimmünite). Th2 hücreleri ise anti-enflamatuar sitokinler, IL4 ve IL5 üretir ve antikor merkezli immün cevaptan sorumludur. Bu iki hücre tipi arasındaki dengenin bozulması immün yanıtın hangi yönde çalışacağını gösterir. Yapılan çalışmalarla D vitamininin Th2 hücreleri uyararak anti-enflamatuar sitokinleri (TGF-beta- 1, IL-1, IL-4, 5) ürettiği; böylece in vivo ve in vitro olarak anti-enflamatuar etki gösterdiği saptanmıştır. Yine D vitamini pro-enflamatuar Th1 hücre üzerinden IFN-gamma, IL-2, IL-3 ve TNF-alfa salınımını inhibe ederek anti-enflamatuar etki gösterebilmektedir. D vitamini eksikliği veya yetersizliği durumunda aktive olan ve Th1 yanıtı için karakteristik olan pro-enflamatuar sitokinler aslında tip 1 DM, MS, RA ve enflamatuar bağırsak hastalıkları gibi otoimmün tabanlı kronik sistemik hastalıkların etiopatogenezinde de görev almaktadırlar (103). Daha sonraki çalışmalarda Lemire ve ark. kalsitriolün T helper 1 (Th1)'i inhibe edebileceğini bildirmişlerdir (104).

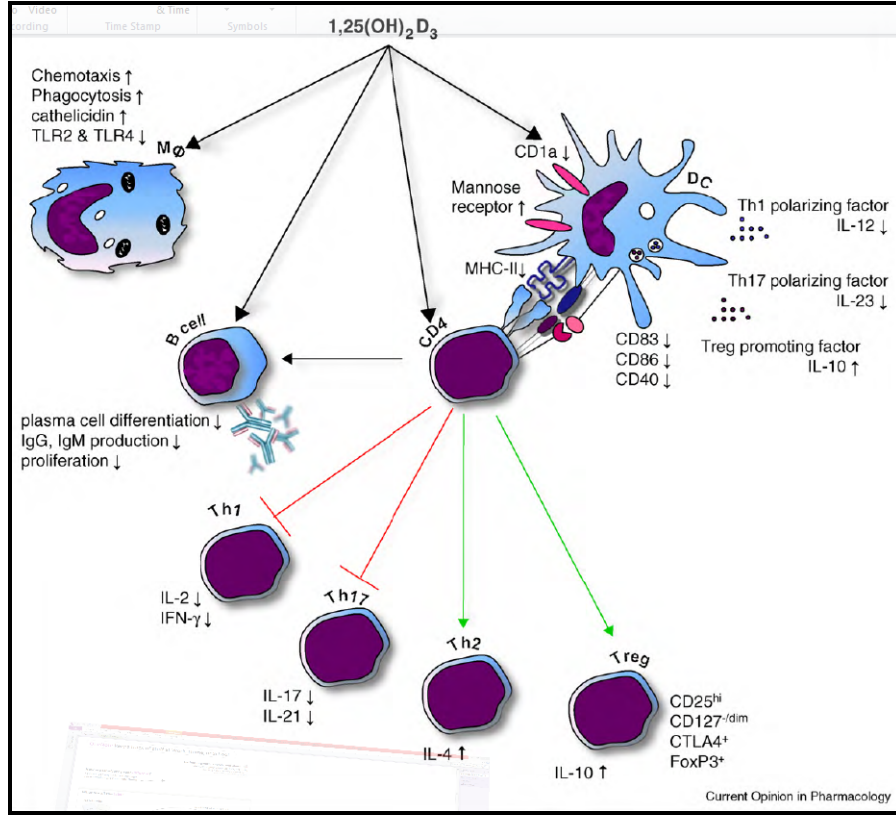
Kalsitriol ile tedavi edilen T hücrelerin sitokin profillerinin humoral immüniteyle ilişkili olan CD4+ T lenfositlerin alt grubu olan Th2 lenfositlerle tutarlı olduğunu gösterildi (105). Sonuç olarak D vitamininin T lenfositleri Th1 yolağındanTh2 ye doğru kaydırdığı gösterildi. Th1 ve Th2 hücrelerinden farklı bir T lenfosit grubu olan IL17 sentezleyebilme yeteneği bulunan Th17 hücreleri belirli patojenlerle mücadelede önemli görevler alır, inflamasyon ve doku hasarlanmasında önemlidir. Aktif D vitamini Th17 üzerine inhibitör etki yaparak otoimmün hastalıkların kısmen de olsa önlenmesinde görev aldığı yönünde son zamanlarda yayınlar bulunmaktadır (106). Gastrointestinal sistemin inflammatuar hastalıklarını inceleyen hayvan çalışmalarında kalsitriol tedavisi IL17 sentezini azaltır (107).

Tregs, baskılayıcı etkileri olan T lenfositlerdir. Barrat ve ark. 2002 yılında glukokortikoidlerle beraber kalsitriolün CD4+ ve CD25+ Tregs'lerden IL10 sentezini artırdıklarını göstermişlerdir (108). Sonraki çalışmalarda kalsitriolün tek başına Tregsleri uyardığı, greft rejeksiyonu ve otoimmün hastalıklarda kalsitriolün Tregslerde differansiyasyona yol açtığı görüldü. Dolayısıyla D vitamininin edinsel immünitede olumlu etkileri olduğu söylenebilir (109).

CD8+ hücrelerde VDR fazla miktarda bulunur. Bu durum CD8+ hücrelerin kalsitriol için potansiyel bir hedef olduğunu düşündürür. CD8+ hücreler CD4+ hücrelerin aksine kalsitriole karşı düşük antiproliferatif yanıt gösterirler (110). Sonraki çalışmalar kalsitriolün CD8+ hücrelerinde aktif olarak sitokin üretimini düzenlediğini göstermiştir. Aynı zamanda kalsitriolün CD8+ hücrelerinin proliferasyonunu düzenlediği anlaşılmıştır. Son çalışmalar D vitamininin lenfositlerin spesifik dokulara yönelmesinde güçlü etkileri olduğunu göstermiştir (111).

B hücre fonksiyonu

Aktif B hücreler VDR sentezlerler. İnaktif B hücrelerinde VDR sentezlenmez. Son çalışmalar kalsitriolün B hücre hemostazisi üzerinde direkt etkilerini göstermiştir, B hücre proliferasyonu ve immünglobulin üretimi üzerinde ki VDR aracılı direkt etkilerine ek olarak kalsitriolün plazma hücre farklılaşmasını inhibe ettiğini ve SLE gibi B hücre ilişkili hastalarda önemli olabileceğinin altını çizmiştir. B hücrelerde CYP27B1B sentezi saptanmıştır. Bu da B hücrelerinin D vitaminine otokrin ve parakrin cevap verebileceğini düşündürmektedir (112). Sonuç olarak aktif D vitaminin kazanılmış immüniteyi baskılaması dentritik hücrelerin olgunlaşmasının baskılanması ve böylece CD4+ hücrelerine antijen sunumunun azalması, CD4+ hücrelerinin Th1 ve Th17 hücrelerine diferansiyasyon ve proliferasyonunun inhibisyonu ve Th2 ve Treg hücrelerinin üretimini artırması yolu ile olmaktadır.



Şekil 2.11. D vitamininin immün sistem üzerine etkisi.

2.11. D Vitamininin Greft Fonksiyonları Üzerine Olan Etkisi

D vitamini ve metabolitlerinin immün fonksiyonlar üzerine etkileri uzun yıllardır bilinmektedir. Ancak bu immünomodülatör etkinin mekanizması yeni anlaşılmaya başlamıştır. Farklı tiplerde böbrek hastalıklarında renal inflamasyonun serum $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ seviyesi ile ters orantılı olduğu gösterilmiştir (113). $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 'nin allogreft ömrünü uzattığı ve düşük dozda siklosporin A ile birlikte renal greft fonksiyonunun korunmasında ek destek sağladığı hayvan çalışmalarında gözlenmiştir (114).

D vitamininin akut rejeksiyon ve kronik allogreft yetersizliğinden koruyucu özellikleri konusundaki veriler hızla artmaktadır. Retrospektif vaka kontrollü çalışmalarda, osteoporotik renal transplant alıcılarda akut rejeksiyonun ve pulse steroid dozlarının D vitamini tedavisi ile azaldığı gösterilmiştir (115). Diğer önemli bir nokta da karaciğer ve böbreklere ek olarak D vitamini immün sistem hücrelerinde de metabolize olur. D vitamininin T hücreleri üzerindeki net etkisi sitokin üretimini engellemesi özellikle Th1 tarafından yapılan $\text{IFN-}\gamma$ ve Th2 cevabının uyarılması ve artırılmasıdır (116).

D vitamini, immün yanıt düzenleyici olarak görev yapan ve antijen sunan hücreleri direkt olarak inhibe edebilmektedir. MHC class II ekspresyonunun ve CD40, CD80 ve CD86 ekspresyonunu azaltarak differansiyonu, maturasyonu ve dendritik hücrelerin immün stimülatör özelliklerini baskılamaktadır. Bu belirgin şekilde T hücre yanıtınlığına neden olmaktadır.

D vitamini ayrıca T lenfositlerin diferansiyonunda görev alan ve dendritik hücrelerden salınan IL-12'yi inhibe ederek, inflamatuvar sitokinler olan IL-1 α , IL-1 β ve TNF α 'nın inhibisyonuna neden olmaktadır (117). D vitamini doza bağılı olarak, Th1 transkripsiyonunu azaltarak IL 2, granülosit-makrofaj uyarıcı faktör (GM-CSF) ve IFN γ salınımını azaltırken, Th2 tarafından salınan IL-4, IL-5 ve IL-10 salınımını arttırmaktadır.

D vitamini potent olarak T hücreler üzerinde anti-proliferatif etkiye sahiptir. Supressör B hücre antikor yapımını in vitro olarak direkt ve indirekt yoldan baskılayabilmektedir (118). 1,25(OH) $_2$ D $_3$ ile IL-12 inhibisyonu, inflamatuvar sitokin üretimi için kilit rol oynayan NF- κ B ile ilişkilidir. NF- κ B'nin aktivasyonu ve IL-12'nin promotor p40 subünitesi ile bağlanması, 1,25(OH) $_2$ D $_3$ ile regüle edilmektedir (117). 1,25(OH) $_2$ D $_3$ T hücre diferansiyonundaki faydalı etkiler sağlayarak allojenik transplant modellerinde iyi sonuçlar sağlamaktadır (114).

D vitamini, antijen spesifik Treg hücreler tarafından sürdürülen periferik toleransın devamında da rol alır. Bu hücreler self toleransın idamesini sağlar ve anahtar görevi periferik T hücrelerinin otoreaktivasyonunu önlemektir. D vitamini eksikliği durumunda Treg sayı ve aktivitesi bozulur. Th1 üzerine blok etki ortadan kalkar.

Tüm bunlar bir arada düşünülürğünde D vitamini ve analoglarının transplant hastalarında tolerans indüksiyonunda kullanımı gündeme gelmektedir. Deneysel bir çalışmada ratlarda transplantasyon sonrası aktif D vitamini tedavisi ile greft fonksiyonlarının iyileştiğı gösterilmiştir (119).

Renal transplantasyon sonrası D vitamini desteğı ile greft fonksiyonlarının daha iyi olduğunu gösteren çok sayıda araştırma bulunmaktadır (10). Hayvan modellerinde kalsitriolün enfeksiyon riskini artırmaksızın greft fonksiyonlarını iyileştirdiğı gösterilmiştir (120).

Ratlarda yapılan bir çalışmada aktif D vitamini bileşiklerinin kronik allogreft nefropatisine karşı koruyucu olduğu bulunmuştur (121).

Fibrozis, kronik devam eden mikrotravma, oksidatif stres, otoimmünite, endojen ve eksojen hasar verici çok çeşitli uyaranlara karşı yanıt olarak bir çok organ sisteminde

ortaya çıkan aşırı bir yara iyileşmesi olarak tanımlanabilir. Başta kollojen olmak üzere ekstrasellüler matriks bileşenlerinin aşırı şekilde yapımı söz konusudur (118).

Daha önceki bilgilerin tersine günümüzde fibrozis, geri dönüşümlü ve tedavi edilebilir bir süreç olarak kabul edilmektedir (122).

Aktif D vitamini birçok mekanizma ile renal koruyucu etki gösterir (Şekil 2.12). Bu mekanizmalar:

Aktif D vitamini, renin anjiotensin aldosteron sisteminin (RAAS) negatif endokrin düzenleyicisidir (123). Kalsitriol renin biyosentezini baskılar. VDR olmayan homozigot mutant farelerde yüksek renin hipertansiyon, kardiyak hipertrofi ve artmış tombojenisite saptanmıştır.

D vitamininin kan basıncı düşürücü mekanizmalarından biri de PTH üzerindeki baskılayıcı etkisi ile açıklanmaktadır. Kalsiyum homeostazında önemli yere sahip olan PTH'nin, arteriyel hipertansiyon ve kardiyak problemler oluşturma özelliği bulunmaktadır. Sağlıklı bireylerde intravenöz PTH infüzyonu kan basıncı yükselmesine neden olmaktadır. PTH'nin kan basıncı yükseltme mekanizması net olmamakla birlikte vasküler düz kas hücrelerine etki etmesiyle ve böbrek hastalığı olanlarda ateroskleroz yapması ile izah edilmektedir (124).

D vitamini, VDR ve 1-alfa hidroksilaz ekspresyonu sayesinde damar duvarında bulunan endotelial hücrelere, vasküler düz kas hücrelerine ve makrofajlar üzerine etki ederek vasküloprotektif etkiler oluşturmaktadır. Hipertansif fare deneylerinde, D vitamini endotelial hücrelerde sitozolik serbest kalsiyum konsantrasyonunu azaltarak, aortun endotelial kaynaklı kasılmasını azaltmaktadır. Ayrıca D vitamini endotelial nitrik oksid sentezini arttırarak, endotelial adezyon moleküllerini azaltarak ve antiinflamatuvar sonuçlar oluşturarak vasküloprotektif etki sağlamaktadır (124).

Bunun yanında D vitamini böbrekte podosit kaybını azaltıp podositlerde hipertrofi ve mezengiyal hücre proliferasyonunu suprese ederek renal kaynaklı hipertansiyondan koruma sağlamaktadır (124). Sonuç olarak D vitamini renal vasküler proteksiyon sağlayarak, anti- inflamatuvar süreçte aktif rol alarak, sekonder hiperparatiroidizimden koruyarak ve RAAS blokajı yaparak hipertansiyondan ve hipertansiyonun oluşturacağı kötü sonuçlardan korumaktadır.

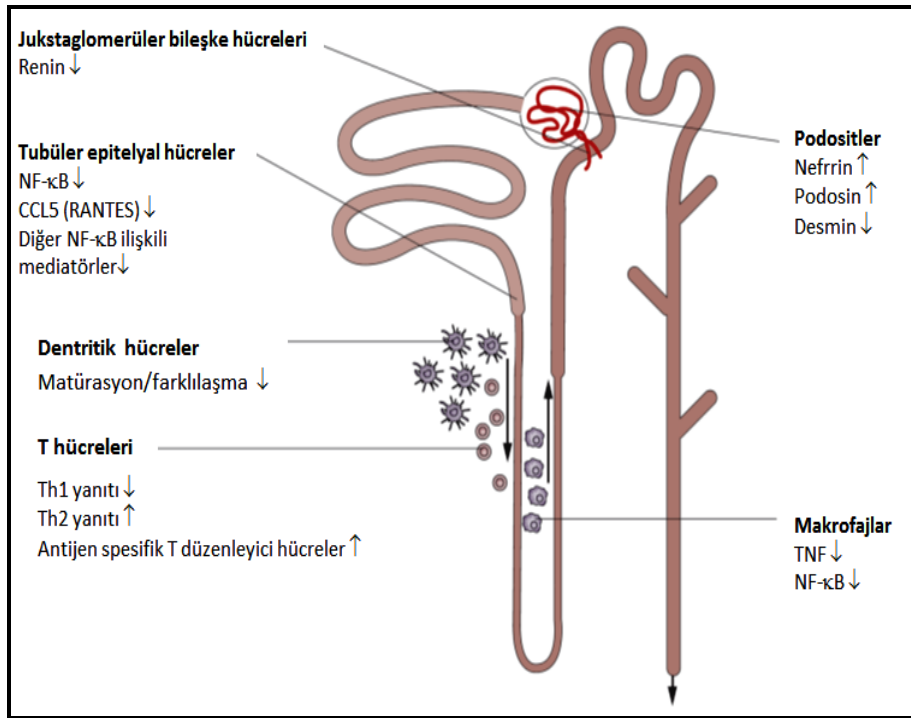
Böbrek nakli yapılmış hastalarda RAAS aktivasyonu artışının D vitamini ve analogları ile bloke edilmesi, glomerüler hipertansiyonu düşürmekte, proteinüriyi azaltmakta, glomeruler ve tubulointerstisyel hasardan korumaktadır (125).

D vitamini, mezengial hücre aktivasyonunu bloke ederek, fibrozisi önler (115). Fibrozisin en belirgin özelliği interstisyel alanda ekstrasellüler matriks artışı olmasıdır.

Böbrek dahil, nerdeyse vücuttaki tüm dokularda VDR ekspresyonu bulunmaktadır. Bu durum D vitamininin kalsiyum fosfor metabolizmasının düzenlenmesi dışında kalan nonkalsemik diğer geniş etkilerini sağlar. Çok sayıda araştırma ile D vitamini analoglarının proteinüri, renal inflamasyon ve fibrozisi azaltarak renal koruyucu etkileri olabileceğini göstermiştir (115,126).

D vitamininin anti-inflamatuar özelliği vardır. Özellikle nükleer transkripsiyon κ B (NF- κ B) yolağını stabilize ederek renal inflamasyonu inhibe eder (126,127). NF- κ B, nükleer transkripsiyon yolu immün cevabın düzenlenmesindeki temel yollardan biridir; inflamatuvar sitokinleri ve fibrojenik molekülleri düzenler. Lokal RAAS, inflamasyon ve renal hastalığın progresyonu ile bağlantılı olarak böbrek doku hasarının temel belirleyicisidir. VDR analogları lokal RAAS ve NF- κ B yolağını düzenleyerek böbreği korur. KBH hastalarında D vitamini desteğinin olumlu etkileri klinik olarak da gösterilmiştir (128,129).

DeneySEL çalışmalar bu etkinin profibrotik ve proinflamatuvar yolları zayıflatarak ortaya çıktığını düşündürmektedir (115,127).



Şekil 2.12. Aktif D vitamininin renal koruyucu etki mekanizmaları (8).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Olgular

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde son beş yılda renal transplantasyon yapılan ve sonrasında Organ nakli polikliniğinde düzenli olarak takipleri devam eden 18 yaşından büyük toplam 30 kişi renal transplantasyon grubu olarak alındı. Kronik rejeksiyon olan grup, rutin takipleri sırasında kronik rejeksiyon tanısı renal biyopsi ile tanı alan toplam 15 hasta olarak alındı. Kronik rejeksiyon gelişmeyen grupta ise rejeksiyon grubu ile benzer yaş ve cinsiyette 15 gönüllüden oluşuyordu. Kronik rejeksiyon gelişmeyen gruptaki bir hastanın alınan örneği kaybolmuş olup çalışma dışı bırakılmıştır.

Sağlıklı kontrol grubu olarak, İç Hastalıkları Polikliniğine başvuran, bilinen bir hastalığı olmayan, 18 yaşından büyük toplam 15 gönüllü alındı. Sağlıklı gruptan bir gönüllünün VDR değerleri uç değer olarak görüldüğü için çalışmadan çıkarıldı.

Çalışma Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alındıktan sonra Helsinki Deklarasyonu Kuralları'na uygun olarak yapıldı. Çalışmaya katılan tüm hastalar bilgilendirilerek onayları alındı.

Aktif enfeksiyonu, malignitesi, romatizmal veya sistemik immün hastalığa sahip olanlar, D vitamini ve analoglarını kullananlar araştırmaya dahil edilmedi.

Hastaların cinsiyet, yaş, son ziyaret tarihi, transplantasyon yaşı, transplantasyon tarihi, transplantasyon süresi, BMI, donör tipi, donör yaşı, transplantasyon öncesi diyaliz süresi ve diyaliz türü, primer renal hastalığı, idame immünyüpresif tedavi protokolü, akut rejeksiyon atak sayısı, mismatch durumu, biyopsi tarihi ve biyopsi sonucu gibi klinik özellikleri kaydedildi.

Hasta ve kontrol grubundan serum örnekleri alındı. Serum örneklerinden kan üre azotu (BUN), kreatinin, GFR, kalsiyum, fosfor, PTH, 25(OH)D₃ vitamini, 1,25(OH)₂D₃ vitamini düzeyleri ve VDR yüzdeleri ölçüldü. BMI vücut ağırlığının (kg), boy uzunluğunun metre cinsinden karesine bölünmesiyle hesaplandı.

GFR ölçümleri CKD-EPI formülüne göre hesaplandı. Kalsiyum değerleri düzeltilmiş kalsiyum hesaplanarak yazıldı.

Hastalar böbrek nakli olan ve olmayan olarak iki gruba ayrıldı. Böbrek nakli olan grup kronik rejeksiyon olan ve olmayan olarak tekrar iki gruba ayrıldı.

3.2. Laboratuvar Ölçümleri

Çalışmamızda olgulardan 10 cc venöz kan örneği, heparinli tüplere alındı. Bunun 4 cc'si İmmünoloji Bilim Dalı tarafından VDR bakılması için ayrıldı. Periferik kan monositlerinin ayrıştırılması ve VDR analizi, Akdeniz Üniversitesi Hastanesi İmmünoloji Araştırma Laboratuvarı'nda yapıldı.

Periferik kandan mononükleer hücre izolasyonu heparinli tüplerde toplanan kan örneklerinden Ficoll-Histopaque yöntemi ile mononükleer hücreler izole edildi. Kısaca, 4 ml'lik ficoll üzerine 2.5 ml + tam kan karışımı yavaşça eklenip 456xg'de 30 dakika (23°C) santrifüj edilmiştir. İki faz arasında kalan beyaz kısım PMNL olarak 10 ml'lik ayrı bir falcona alınır. Ayrılan hücreler, PBS ile 12 ml'ye tamamlanır ve 500xg'de 10 dakika santrifüj edilir. Hücre pelleti üzerine lenfosit saklama solüsyonu konulup resüspanse edilmiş ve cryotüplere alınmıştır. Elde edilen hücreler, -80°C'de izopropil alkol içeren kapaklı dondurma kabında 1 gece bekletilip, ertesi gün sıvı azota konulmuştur. Örnekler çalışma gününe kadar sıvı azotta saklanmıştır.

Hücre yüzey boyaması ile seçilen lenfosit alt gruplarında ve monositlerde D vitamini reseptör tayini aşağıdaki sırayla yapılmıştır:

1. Azot tankında bulunan örnekler deneyin yapıldığı gün, çıkarılıp 37°C'lik su banyosunda hızlıca çözüldü.
2. Birkaç dakika sonra, %10 FBS içeren PBS ile 400xg'de santrifüj edildi ve süpernatantlar atıldı. Hücre pelleti hücrenin miktarına göre 300-500 µl %10 FBS içeren PBS ile resüspanse edildi ve flow tüplerine (polistiren round-bottom tüp, BD Falcon, Belgium) bölündü.
3. İlgili antikora ait izotipik kontroller, anti-human CD4-PE (eBioscience Inc., San Diego, CA) ve anti-human CD8-PE-Cy5.5 (eBioscience Inc., San Diego, CA) ile oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilen hücreler, hücre yıkama solüsyonu ile yıkama işleminden sonra, D vitamini reseptör tayini için hücre içi boyama işlemine geçildi.
4. Hücre içi boyamada hücre membranını fikse etmek ve hücreyi stabilize etmek için ticari olarak temin edilmiş fiksasyon tamponu (eBioscience Inc., San Diego, CA), hücre membranını permeabilize etmek ve antikorun hücre içine girişini kolaylaştırmak amacıyla permeabilizasyon tamponu (eBioscience Inc., San Diego, CA) kullanılmıştır.

5. Fiksasyon ve permeabilizasyon işlemlerinin ardından, hücreler anti-D vitamini receptor antikoru (abcam, Cambridge, USA) ve izotipik kontrolü ile 30 dakika inkübe edilmiş, yıkama işleminin ardından sekonder antikor (goat pAn to Rat IgG (DyLight®488 Azot) (Abcam, Cambridge, USA) ile de 30 dakika inkübe edilmiştir.
6. Yıkama işleminin ardından hücrelerin akım sitometrik analizi FACSCantoII (BD Biosciences, CA, USA) ve FACSDiva yazılımı (BD Biosciences, CA, USA) kullanılarak yapılmıştır.

VDR ölçümlerinde birim % olarak kullanılmıştır. VDR eksprese eden CD8+, CD4+ lenfositler, monositlerin yüzdeleri ölçülmüştür. Sonrasında VDR taşıyan hücrelerdeki VDR konsantrasyonu ölçülmüş ve MFI (mean fluorescence intensity) olarak belirtilmiştir. Daha önce benzer çalışma yapılmış olup, çalışma sonuçları yayına hazırlanmaktadır.

Çalışmamızda olgulardan 5 cc venöz kan örneği, jel seperatörlü tüplere alındı. Kan örnekleri bekletilmeden 4000 devirde (rpm) beş dakika santrifüj edildi ve üstte kalan serum kısmı analizler için -80°C’de 12 ay saklandı. -80°C’de saklanan serum örnekleri, analiz günü eritilerek ölçümler yapıldı.

Serum BUN Analizi: Enzimatik, kolorimetrik yöntemle Cobas 8000 otoanalizöründe (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) ölçüldü. Sonuçlar mg/dL olarak verildi.

Serum Kreatinin Analizi: Rate-blanked, compensated Jaffe yöntemiyle Cobas 8000 otoanalizöründe (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) ölçüldü. Sonuçlar mg/dL olarak verildi.

Serum Kalsiyum Analizi: Kolorimetrik yöntemle Cobas 8000 otoanalizöründe (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) ölçüldü. Sonuçlar mg/dL olarak verildi.

Serum Fosfor Analizi: Kolorimetrik yöntemle Cobas 8000 otoanalizöründe (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) ölçüldü. Sonuçlar mg/dL olarak verildi.

Serum Albümin Analizi: Kolorimetrik yöntemle Cobas 8000 otoanalizöründe (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) ölçüldü. Sonuçlar g/dL olarak verildi.

Serum PTH Analizi: Elektrokemiluminesans immünassay (ECLIA) yöntemi kullanılarak Cobas 8000 otoanalizöründe (Roche® Diagnostics, Mannheim, Germany) analizöründe yapıldı. Sonuçlar pg/mL olarak verildi.

Serum 25(OH)D₃ Analizi: Elektrokemiluminesans immünassay (ECLIA) yöntemi kullanılarak Cobas 8000 otoanalizöründe (Roche® Diagnostics, Mannheim, Germany) analizöründe yapıldı. Sonuçlar ng/mL olarak verildi.

Serum 1,25(OH)₂D₃ Analizi: Cusabio markalı kit kullanılarak solid-faz sandviç ELİSA yöntemi ile yapıldı (Cusabio, Human-1,25- Dihydroxy D vitamini 3 (DHVD3), Cat. No: CSB-E05120H). Bu yöntemde monoklonal anti-human DHVD3 antikoruyla önceden kaplanmış 96 kuyucuk içeren mikropaklar kullanıldı. Kuyucuklara eklenen serum ve standartlarda bulunan DHVD3, iki saatlik bir inkübasyon ile kuyucuklardaki antikorlara bağlandı ve bağlanmayan kısım uzaklaştırıldı. Ortama Biotinle işaretlenmiş ikincil antikor eklendi ve bir saat inkübasyon yapıldı. Yıkama aşaması ile bağlanmayan kısım uzaklaştırıldı. Daha sonra Streptavidin - horse radish peroksidaz konjugatı ortama eklenerek 60 dakika inkübasyon yapıldı. Bağlanmayan enzim ortamdan yıkama ile uzaklaştırılarak kromojenik substrat eklendi, inkübasyon sonrası oluşan renk yoğunluğu 450 nm'de ölçüldü. Serum örneklerindeki DHVD3 miktarları, standartlar yardımı ile çizilen eğriden hesaplandı. Sonuçlar pg/mL olarak verildi.

3.3. İstatistiksel Analiz

Tanımlayıcı istatistikler frekans, yüzde, ortalama, standart sapma, medyan ve minimum-maksimum değerleri ile sunulmuştur. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkilerin analizinde Fisher kesin testi veya Pearson ki-kare testi kullanılmıştır. İki grubun ölçüm değerleri arasındaki farkın analizinde normallik varsayımı Shapiro-Wilk testi ile kontrol edilmiş, normal dağılıma uymadığı durumda Mann-Whitney U testi, uyduğu durumda Student t testi kullanılmıştır. Rejeksiyon gruplarının parametrik olmayan karşılaştırmasında Kruskal Wallis testi, anlamlı çıkan durumlar için post-hoc test olarak Bonferroni-Dunn testi kullanılmıştır. Normal dağılımı varsayımı sağlandığı durumda üç grubun karşılaştırılmasında ANOVA testi ve ikili karşılaştırmalar için Tukey testi kullanılmıştır. Sıralı (ordinal) veya normal dağılıma uymayan sürekli değişkenler arasındaki ilişkiler Spearman korelasyon testi ile analiz edilmiştir. 0,05'den küçük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Analizler SPSS 18.0 paket programı ile yapılmıştır.

4. BULGULAR

1- Rejeksiyon olan, olmayan ve sağlıklı grupları demografik değişkenlerden cinsiyet, yaş ve BMI değerlerine göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.1. Grupların demografik verilerinin karşılaştırılması.

	Rejeksiyon olan n=15	Rejeksiyon olmayan n=14	Normal sağlıklı n=14	<i>p</i>
Yaş ¹ ortalama (ss)	45,67 (11,67)	41,29 (12,89)	37,64 (9,43)	0,298
BMI ² ortalama (ss)	24,80 (4,66)	24,86 (4,02)	25 (3,23)	0,991

[#] Pearson ki-kare testi; ¹ Kruskal Wallis testi; ² Tek yönlü varyans analizi (ANOVA)

2- Gruplarının serum ve biyokimyasal değerleri karşılaştırıldığında BUN, kreatinin, GFR, kalsiyum, albumin, PTH, CD8 VDR (MFI), CD8 VDR (MFI) değerleri için en az iki grup arasında anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0,05$).

Tablo 4.2. Grupların serum ve biyokimyasal değerlerinin karşılaştırılması.

	Rejeksiyon olan n=15	Rejeksiyon olmayan n=14	Normal sağlıklı n=14	Test İstatistiği	<i>p</i>
BUN	33,20 (14,76)	13,79 (3,79)	13,79 (4,90)	21,911 ¹	<0,001*
Kreatinin	2,25 (0,78)	0,88 (0,18)	0,72 (0,19)	31,045 ¹	<0,001*
GFR	33,75 (12,88)	93,43 (16,0)	99,97 (13,17)	98,631 ⁺	<0,001*
Kalsiyum	9,09 (0,78)	10,0 (0,65)	9,44 (0,32)	11,158 ¹	0,004*
Fosfor	3,62 (1,0)	3,41 (0,92)	3,64 (0,58)	0,304 ⁺	0,740
Albumin	3,58 (0,62)	4,35 (0,44)	4,58 (0,25)	21,762 ¹	<0,001*
PTH	167,10 (164,24)	73,38 (46,67)	49,20 (20,55)	13,616 ¹	0,001*
25(OH)D3	18,98 (8,16)	23,04 (12,58)	22,77 (11,08)	1,045 ¹	0,593
1,25(OH)2D3	15,70 (9,44)	16,50 (11,82)	12,21 (6,73)	1,219 ¹	0,544
CD8+/VDR%	65,46 (20,0)	70,24 (9,52)	64,01 (13,52)	1,517 ¹	0,468
CD8VDR(MFI)	1013,53 (281,14)	770,64 (183,79)	595,43 (52,06)	22,869 ¹	<0,001*
CD4+/VDR%	66,83 (16,36)	72,29 (8,29)	63,84 (12,71)	2,990 ¹	0,224
CD4VDR (MFI)	1091,40 (331,82)	810,86 (203,88)	627,0 (72,0)	22,509 ¹	<0,001*
Monosit/VDR %	23,08 (19,08)	21,93 (19,68)	12,68 (23,51)	4,878 ¹	0,087
Mon VDR(MFI)	1042 (776,56)	844,71 (665,56)	353,57 (236,42)	8,123 ¹	0,017*

¹ Kruskal Wallis testi-Ki-kare değeri ile verilmiştir; ⁺ Tek yönlü varyans analizi (ANOVA)-F değeri ile verilmiştir; * $p<0,05$

- Mon / VDR %: VDR eksprese eden monosit yüzdesi
- CD8+ / VDR %: VDR eksprese eden CD8+lenfosit yüzdesi
- CD4+ / VDR %: VDR eksprese eden CD4+lenfosit yüzdesi
- Mon VDR (MFI): Monositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı
- CD8 VDR (MFI): CD8+ lenfositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı
- CD4 VDR (MFI): CD4+ lenfositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı

3- Farkın hangi gruplardan kaynaklandığını bulmak için ikili karşılaştırmalar yapılmıştır. Rejeksiyon olan hastaların olmayan hastalara göre BUN ve kreatinin değerleri yüksek olup GFR, albumin ve kalsiyum değerleri düşük bulunmuştur. Rejeksiyon olan hastaların ise normal sağlıklılarına göre BUN, kreatinin, PTH, CD8 VDR (MFI), CD4 VDR(MFI), ve Mon VDR (MFI) değerleri yüksek, GFR ve albümin değerleri düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Rejeksiyon olmayan hastaların ise, CD8 VDR (MFI) ve CD4 VDR (MFI) değerleri sağlıklı normallere göre yüksektir ($p<0,05$).

Tablo 4.3. İkili karşılaştırmalar.

	Rejeksiyon olan ve Rejeksiyon olmayan	Rejeksiyon olan ve Normal sağlıklı	Rejeksiyon olmayan ve Normal sağlıklı
BUN [†]	<0,001*	<0,001*	0,999
Kreatinin [†]	<0,001*	<0,001*	0,394
GFR [†]	<0,001*	<0,001*	0,443
Kalsiyum [†]	0,004*	0,058	0,999
Albumin [†]	0,004*	<0,001*	0,602
PTH [†]	0,128	0,001*	0,312
CD8 VDR (MFI) [†]	0,177	<0,001*	0,014*
CD4VDR (MFI) [†]	0,156	<0,001*	0,018*
Mon VDR(MFI) [†]	0,999	0,020*	0,098

[†] Bonferroni-Dun Testi; [†] Tukey post-hoc testi; * $p<0,05$

- Mon / VDR %: VDR eksprese eden monosit yüzdesi
- CD8+ / VDR %: VDR eksprese eden CD8+ lenfosit yüzdesi
- CD4+ / VDR %: VDR eksprese eden CD4+ lenfosit yüzdesi
- Mon VDR (MFI): Monositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı
- CD8 VDR (MFI): CD8+ lenfositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı
- CD4 VDR (MFI): CD4+ lenfositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı

4- Hastalarda greft fonksiyonunu etkileyebilecek özellikler değerlendirildiğinde rejeksiyon olan hastalarla, olmayan hastaların belirli değerleri Tablo 4.4’de karşılaştırılmış, iki grubun hiçbir değeri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Tablo 4.4. Rejeksiyon olan ve olmayan renal transplantasyon grubunun demografik ve klinik özellikleri.

		Rejeksiyon olan	Rejeksiyon olmayan	Test İstatistiği	p
Cinsiyet [#]	Kadın	7 (46,7)	7 (50,0)	0,032	0,858
	Erkek	8 (53,3)	7 (50,0)		
Akraba [#]	1. derece	8 (53,3)	7 (50,0)	0,032	0,858
	4. derece	7 (46,7)	7 (50,0)		
Diyaliz modalitesi ^S	Preemptif	5 (33,3)	5 (35,7)	-	0,999
	Hemodiyaliz-Periton diyaliz	10 (66,7)	9 (64,3)		
İlaç ^S	Takrolimus	11 (73,3)	10 (71,4)	-	0,999
	Siklosporin	4 (26,7)	4 (28,6)		
Tx tipi ^S	Canlı	12 (80)	12 (85,7)	-	0,999
	Kadavra	3 (20)	2 (14,3)		
İzlemde akut rejeksiyon atağı ^S	Yok	11 (73,3)	13 (92,9)	-	0,330
	Var	4 (26,7)	1 (7,1)		
Yaş [†]		45,67 (11,67)	41,29 (12,89)	-0,809	0,419
BMI [†]		24,80 (4,66)	24,86 (4,02)	-0,035	0,972
Verici yaşı [†]		46,47 (11,35)	42,36 (10,49)	1,010	0,321
Tx yaşı [†]		43,07 (11,86)	39,07 (12,74)	-0,70	0,484
Tx süresi [†]		32,67 (18,01)	28,21 (9,22)	-0,437	0,662
Diyaliz süresi [†]		20,90 (17,12)	25,78 (27,06)	-0,123	0,902
Mismatch sayısı [†]		3,83 (1,64)	3,82 (2,18)	-0,409	0,682

[#] Pearson ki-kare testi-ki-kare değeri verilmiştir; ^S Fisher’ın kesin testi (bu testin test istatistiği değeri yoktur); [†] Mann-Whitney U testi-z değeri verilmiştir; ⁺ Student t testi-t değeri verilmiştir.

5- Rejeksiyon olan hastaların primer böbrek hastalıklarına göre dağılımları incelenmiştir. Buna göre rejeksiyon olan hastaların sahip oldukları böbrek hastalığının %33,3'ü ürolojik nedenlere, %13,3'ü hipertansiyona bağlı olup %26,7'sinin etiyojisi bilinmemektedir. Rejeksiyon olmayan hastalarda ise sırasıyla hipertansiyon (%35,7), ürolojik nedenler (%21,4) ve %14,3'ünün etiyojisi bilinmemektedir. Grupların etiyojileri örneklem sayısı yetersizliği nedeniyle istatistiksel olarak karşılaştırılamamıştır.

Tablo 4.5. Primer böbrek hastalığının gruplar arası dağılımı.

		Rejeksiyon olan n (%)	Rejeksiyon olmayan n (%)
Etiyojisi	Diabetes mellitus	1 (6,7)	1 (7,1)
	Hipertansiyon	2 (13,3)	5 (35,7)
	Glomerülonefrit	1 (6,7)	1 (7,1)
	Kistik böbrek hastalıkları	1 (6,7)	1 (7,1)
	Ürolojik nedenler	5 (33,3)	3 (21,4)
	Diğer nedenler	1 (6,7)	1 (7,1)
	Etiyojisi belirsiz	4 (26,7)	2 (14,3)

6- 25(OH)D₃, 1,25(OH)₂D₃ ve VDR transplantasyon ve sağlıklı gruplar arasında karşılaştırılmıştır. Buna göre CD8 VDR (MFI), CD4VDR (MFI), Mon / VDR% ve Mon VDR (MFI) değerleri farklı bulunmuştur. Tüm bu değerler transplantasyon olan hastalarda yüksek bulunmuştur (p<0,05).

Tablo 4.6. 25(OH)D₃, 1,25(OH)₂D₃ ve VDR'nin sağlıklı ve transplante olan gruplarda karşılaştırılması.

	Tx	Sağlıklı	Test İstatistiği	p
25 (OH)D ₃ [†]	20,94 (10,54)	22,77 (11,08)	-0,855	0,392
1,25(OH) ₂ D ₃ [†]	16,08 (10,47)	12,21 (6,73)	-1,102	0,271
CD8+/VDR % [†]	67,77 (15,75)	64,01 (13,52)	-1,205	0,228
CD8 VDR(MFI) [†]	896,28 (265,44)	595,43 (52,06)	-4,393	<0,001*
CD4+/VDR% [†]	69,47 (13,17)	63,84 (12,71)	-1,607	0,108
CD4VDR (MFI) [†]	955,97 (307,74)	627,0 (72,01)	-4,329	<0,001*
Mon/VDR% [†]	22,52 (19,03)	12,68 (13,51)	-2,208	0,027*
Mon VDR(MFI) [†]	946,76 (719,21)	353,57 (236,42)	-2,799	0,005*

[†] Mann-Whitney U testi-z istatistiği ile verilmiştir; * p<0,05

- Mon / VDR % : VDR eksprese eden monosit yüzdesi
- CD8+ / VDR % : VDR eksprese eden CD8+lenfosit yüzdesi
- CD4+ / VDR % : VDR eksprese eden CD4+lenfosit yüzdesi
- Mon VDR (MFI) : Monositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı
- CD8 VDR (MFI): CD8+ lenfositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı
- CD4 VDR (MFI): CD4+ lenfositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı

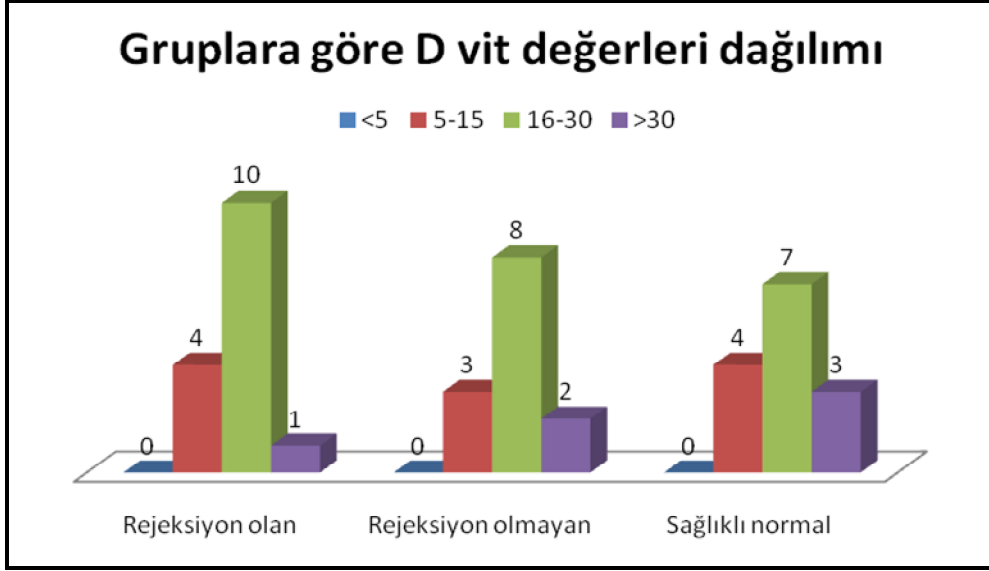
7- GFR ölçümünün 25(OH)D₃, 1,25(OH)₂D₃ ve VDR değerleriyle ilişkilerinin genel ve gruplara göre incelendiği tablo 7’de tüm hastalarda CD8 VDR(MFI), CD4VDR (MFI), Mon VDR(MFI) değerleri ile negatif yönlü anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir (p<0,05). Rejeksiyon olan hastalarda ise CD8 +/VDR% ve CD4+/VDR% değerleri ile GFR’nin pozitif yönlü iyi derecede ilişkisi bulunmuştur (p<0,05). Sağlıklı grupta genel hastalarla aynı korelasyon sonuçları elde edilmiştir. Rejeksiyon olmayan hastalarda ise GFR ile ilişkili herhangi bir 25(OH)D₃, 1,25(OH)₂D₃ ve VDR değeri saptanmamıştır (p>0,05).

Tablo 4.7. Tüm hastalarda ve gruplarda GFR’nin 25(OH)D₃, 1,25(OH)₂D₃ ve VDR değerleriyle ilişkisi.

Tüm gruplar n=43								
	25 (OH) D3	1,25 (OH) 2D3	CD8+/V DR %	CD8 VDR (MFI)	CD4+/V DR %	CD4VDR (MFI)	Mon/V DR%	Mon VDR (MFI)
<i>r</i>	,075	-,034	,039	-,587**	,079	-,604**	-,234	-,312*
<i>p</i>	,631	,828	,805	,000	,615	,000	,130	,042
Rejeksiyon olan n=15								
<i>r</i>	,222	-,265	,754**	,064	,737**	,059	,314	,326
<i>p</i>	,427	,340	,001	,820	,002	,834	,254	,236
Rejeksiyon olmayan n=14								
<i>r</i>	,192	,285	-,029	,108	,117	,166	-,126	-,130
<i>p</i>	,511	,324	,922	,713	,690	,572	,668	,657
Sağlıklı n=14								
<i>r</i>	-,440	,279	,000	-,612*	,057	-,667**	-,229	-,130
<i>p</i>	,115	,333	1,000	,020	,846	,009	,431	,658

- Tüm analizler Spearman Korelasyon Testi ile yapılmıştır. ** p<0,01; *p<0,05
- **Mon / VDR %** :VDR ekspres eden monosit yüzdesi
- **CD8+ /VDR %** :VDR ekspres eden CD8+lenfosit yüzdesi
- **CD4+ / VDR %** :VDR ekspres eden CD4+lenfosit yüzdesi
- **Mon VDR (MFI)**: Monositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı
- **CD8 VDR (MFI)**: CD8+ lenfositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı
- **CD4 VDR (MFI)**: CD4+ lenfositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı

Rejeksiyon olan grubun 25(OH)D₃ düzeyine göre %26,6'sı hafif eksiklik, %66,6'sı yetersiz, %6,6'sı yeterli düzeyde gelmiştir. Rejeksiyon olmayan grupta %21,42'si hafif eksiklik, %64,2'si yetersiz, %14,2'si yeterli düzeyde gelmiştir. Normal sağlıklı grupta ise %28,6 hafif eksiklik, %50'si yetersiz, %21,4'ü yeterli düzeyde gelmiştir.



Şekil 4.1. 25(OH)D₃ değerlerinin gruplara göre dağılımı.

8- VDR eksprese eden CD8+, CD4+ lenfosit ve monositler yüzde değerleri ile belirli sayısal değişkenler arasındaki ilişkiler incelenmiştir. CD8+/VDR% değeri, BMI ile negatif yönde, verici yaşı ile pozitif yönde ilişkili bulunmuştur (p<0,05). CD4+/VDR% değeri de BMI değeri ile negatif yönlü anlamlı bir ilişkiye sahiptir (p<0,05). Mon/VDR% değeri ise transplantasyon süresi ile pozitif yönlü anlamlı bir ilişkiye sahiptir (p<0,05).

Tablo 4.8. VDR yüzdeleri ile belirli ölçümler arasındaki ilişkiler.

	CD8+/VDR%	CD4+/VDR%	Mon/VDR%	Yaş	BMI	Tx Yaşı	Tx Süresi	Diyaliz süre	Missmatch sayısı	Verici yaşı
CD8+/VDR%:		,956**	,332*	-,128	-,330*	-,142	,202	-,179	-,169	,447*
<i>r</i>										
<i>p</i>		,000	,030	,412	,030	,462	,294	,464	,441	,015
<i>n</i>		43	43	43	43	29	29	19	23	29
CD4+/VDR%:			,383*	-,167	-,397**	-,198	,180	-,141	-,081	,352
<i>r</i>										
<i>p</i>			,011	,286	,008	,303	,350	,565	,712	,061
<i>n</i>			43	43	43	29	29	19	23	29
Mon/VDR%:				,055	-,106	-,098	,384*	-,068	,114	,091
<i>r</i>										
<i>p</i>				,728	,498	,612	,040	,783	,605	,639
<i>n</i>				43	43	29	29	19	23	29

- **Mon / VDR % :** VDR eksprese eden monosit yüzdesi
- **CD8+ / VDR % :** VDR eksprese eden CD8+lenfosit yüzdesi
- **CD4+ / VDR % :** VDR eksprese eden CD4+lenfosit yüzdesi
- **Mon VDR (MFI):** Monositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı
- **CD8 VDR (MFI):** CD8+ lenfositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı
- **CD4VDR (MFI):** CD4+ lenfositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı

9- VDR eksprese eden CD8+, CD4+ lenfosit ve monosit yüzde değerleri ile lab değerleri arasındaki ilişkilere bakıldığında hiçbir anlamlı ilişki bulunmamıştır (p>0,05).

Tablo 4.9. VDR eksprese eden CD8+, CD4+ lenfosit ve monosit yüzdeleri ile laboratuvar ölçümleri arasındaki ilişkiler.

	CD8+VDR%	CD4+VDR%	MonVDR%	Lökosit	Lenfosit	Monosit	Bun	Kreatinin	GFR	Kalsiyum	Fosfor	Albumin	PTH
CD8+/VD R%:		,956**	,332*	-,125	,177	,090	-,065	,019	,039	,018	-,070	-,091	,081
<i>r</i>													
<i>p</i>		,000	,030	,426	,257	,567	,679	,905	,805	,910	,658	,564	,606
<i>n</i>		43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43
CD4+/VD R%:			,383*	-,167	,156	,072	-,091	,029	,079	,073	-,087	-,086	,061
<i>r</i>													
<i>p</i>			,011	,284	,316	,647	,561	,853	,615	,640	,579	,585	,695
<i>n</i>			43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43
Mon/VD R%:				-,106	,056	-,005	,168	,201	-,234	,229	-,069	-,174	,033
<i>r</i>													
<i>p</i>				,500	,719	,976	,282	,197	,130	,140	,659	,264	,834
<i>n</i>				43	43	43	43	43	43	43	43	43	43

- **Mon / VDR %** : VDR eksprese eden monosit yüzdesi
- **CD8+ / VDR %** : VDR eksprese eden CD8+lenfosit yüzdesi
- **CD4+ / VDR %** : VDR eksprese eden CD4+lenfosit yüzdesi
- **Mon VDR (MFI)**: Monositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı
- **CD8 VDR (MFI)**: Belirlenen D vitamini reseptör miktarı
- **CD4 VDR (MFI)**: CD4+ lenfositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı

10- CD8+ lenfositler, CD4+ lenfositler, monositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı (MFI) değerleri ile belirli ölçümler arasındaki ilişkiler incelenmiş ve yalnızca Mon VDR (MFI) değeri ile tx süresi arasında pozitif yönlü anlamlı bir ilişki bulunmuştur (p<0,05).

Tablo 4.10. CD8+ lenfositler, CD4+ lenfositler, monositlerde belirlenen D vitamini reseptör değerleri ile belirli ölçümler arasındaki ilişkiler.

	CD8 VDR(MFI)	CD4VDR (MFI)	Mon VDR(MFI)	Yaş	BMI	Tx Yaşı	Tx Süresi	Diyaliz süre	Doku Uyumu	Verici Yaşı
CD8 VDR (MFI)										
<i>r</i>		,973**	,759**	,290	-,066	,183	,307	-,252	,138	,111
<i>p</i>		,000	,000	,059	,673	,343	,106	,298	,531	,568
<i>n</i>		43	43	43	43	29	29	19	23	29
CD4VDR (MFI)										
<i>r</i>			,720**	,289	-,050	,151	,317	-,122	,054	,087
<i>p</i>			,000	,061	,749	,434	,093	,620	,808	,654
<i>n</i>			43	43	43	29	29	19	23	29
Mon VDR (MFI)										
<i>r</i>				,113	-,053	-,029	,373*	-,204	,124	,128
<i>p</i>				,470	,735	,883	,046	,401	,573	,509
<i>n</i>				43	43	29	29	19	23	29

- **Mon/VDR%:**VDR eksprese eden monosit yüzdesi
- **CD8+/VDR%:**VDR eksprese eden CD8+lenfosit yüzdesi
- **CD4+/VDR%:**VDR eksprese eden CD4+lenfosit yüzdesi
- **Mon VDR(MFI)** Monositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı
- **CD8 VDR(MFI)**CD8+lenfositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı
- **CD4VDR(MFI)**CD4+lenfositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı

11- CD8 VDR (MFI) değerleri BUN, kreatinin ve PTH ile pozitif yönlü, GFR ve albumin ile negatif yönlü anlamlı ilişkiye sahiptir ($p < 0,05$). CD4 VDR (MFI) değeri de tamamen aynı değişkenlerle benzer düzeyde ve yönde anlamlı ilişkilere sahiptir ($p < 0,05$).

Tablo 4.11. CD8+ lenfositler, CD4+ lenfositler, Monositlerde belirlenen D vitamini reseptör değerleri ile laboratuvar ölçümleri arasındaki ilişkiler.

	CD8 VDR(MFI)	CD4VDR (MFI)	Mon VDR (MFI)	Lökosit	Lenfosit	Monosit	Bun	Kreatinin	GFR	Kalsiyum	Fosfor	Albumin	PTH
CD8 VDR (MFI) <i>r</i>		,973**	,759**	-,068	-,260	,051	,559**	,600**	-,587**	-,040	-,103	-,593**	,416**
<i>p</i>		,000	,000	,665	,092	,747	,000	,000	,000	,798	,512	,000	,006
<i>n</i>		43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43
CD4V DR (MFI) <i>R</i>			,720**	-,127	-,277	,065	,566**	,608**	-,604**	-,074	-,098	-,590**	,419**
<i>p</i>			,000	,417	,072	,679	,000	,000	,000	,638	,533	,000	,005
<i>n</i>			43	43	43	43	43	43	43	43	43	43	43
Mon VDR (MFI) <i>r</i>				-,103	,024	-,007	,188	,290	-,312*	,176	-,206	-,326*	,146
<i>p</i>				,511	,877	,964	,227	,059	,042	,260	,186	,033	,349
<i>n</i>				43	43	43	43	43	43	43	43	43	43

- **Mon/VDR%:** VDR eksprese eden monosit yüzdesi
- **CD8+/VDR%:** VDR eksprese eden CD8+lenfosit yüzdesi
- **CD4+/VDR%:** VDR eksprese eden CD4+lenfosit yüzdesi
- **Mon VDR (MFI)** Monositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı
- **CD8 VDR (MFI)** CD8+lenfositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı
- **CD4VDR (MFI)** CD4+lenfositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı

12- D vitamini reseptörlerinin belirli gruplar arasındaki farkları incelenmiştir. Cinsiyet, akrabalık derecesi, diyaliz tipi ve tx tipi grupları arasında reseptör değerlerine göre fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Siklosporin A ilacı kullanan hastaların CD4+/VDR% değeri takrolimus ilacı kullananlardan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). İzlem sırasında akut rejeksiyon görülen hastalarda ise CD8 VDR (MFI) ve CD4 VDR (MFI) değerleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,05$).

Tablo 4.12. VDR değerlerinin belirli gruplar arasındaki farkları.

		CD8+/VDR%		CD8 VDR(MFI)		CD4+/VDR%		CD4VDR (MFI)		Mon/VDR%		Mon VDR(MFI)	
		\bar{X}	SS	\bar{X}	SS	\bar{X}	SS	\bar{X}	SS	\bar{X}	SS	\bar{X}	SS
Cinsiyet	Kadın	67,61	11,66	809,68	292,08	68,40	10,85	870,91	346,67	23,55	21,56	840,36	644,18
	Erkek	65,42	18,10	786,43	230,79	66,84	15,42	825,76	244,46	14,89	19,58	662,76	688,44
	p	0,990		0,716		0,903		0,706		0,103		0,159	
Akraba	1. Derece	72,48	8,30	944,07	317,85	72,91	7,29	1021,87	367,83	26,08	19,87	1065,40	759,55
	4. Derece	62,72	20,18	845,07	193,64	65,79	16,97	885,36	218,84	18,71	18,02	819,64	677,62
	p	0,221		0,318		0,165		0,485		0,306		0,367	
Diyaliz	Preemptif	71,45	8,49	860,80	219,85	71,10	8,32	923,60	254,96	21,97	22,40	993,60	734,21
	Diyaliz	65,83	18,40	914,95	290,46	68,61	15,26	973,00	337,53	22,82	17,67	922,11	730,23
	p	0,566		0,680		0,963		0,963		0,912		0,804	
İlaç	Takrolimus	64,48	17,21	882,19	286,81	66,46	14,05	942,29	334,67	18,04	18,34	821,19	714,91
	Siklosporin	76,41	5,37	933,25	211,31	77,36	5,58	991,87	238,28	34,29	16,40	1276,38	661,29
	p	0,028		0,306		0,026*		0,435		0,036*		0,079	
Tx tipi	Canlı	68,10	15,72	899,13	274,95	69,80	10,74	951,25	322,53	22,46	18,38	951,87	665,98
	Kadavra	66,18	17,68	882,60	241,37	67,88	23,39	978,60	252,97	22,82	24,34	922,20	1034,23
	p	0,999		0,954		0,507		0,644		0,954		0,603	
Akut rej	Yok	67,10	16,52	849,71	249,81	68,80	13,64	901,67	292,14	20,50	19,44	864,88	718,41
	Var	71,00	12,35	1119,80	242,74	72,66	11,39	1216,60	263,79	32,22	14,83	1339,80	647,93
	p	0,583		0,028*		0,525		0,021*		0,149		0,119	

- **Mon/VDR%:** VDR eksprese eden monosit yüzdesi
- **CD8+/VDR%:** VDR eksprese eden CD8+lenfosit yüzdesi
- **CD4+/VDR%:** VDR eksprese eden CD4+lenfosit yüzdesi
- **Mon VDR (MFI)** Monositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı
- **CD8 VDR (MFI)** CD8+lenfositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı
- **CD4VDR (MFI)** CD4+lenfositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı

13- 25(OH)D₃ düzeyi ve 1,25(OH)₂D₃ düzeyi ile VDR değerleri arasındaki ilişkiler korelasyon testi ile analiz edilmiştir. Sonuçlara göre tüm gruplarda yalnızca 1,25(OH)₂D₃ vitamini düzeyi ile Mon VDR (MFI) değeri arasında negatif yönlü anlamlı bir ilişki bulunmuştur (p<0,05). Rejeke olan hastalarda 25(OH)D₃ vitamini düzeyi ile VDR değerleri arasındaki anlamlı bir ilişki görülmezken, 1,25(OH)₂D₃ vitamini düzeyi ile CD8 VDR (MFI), CD4 VDR (MFI) ve Mon/VDR%, Mon VDR (MFI) değerleri arasında negatif yönlü kuvvetli ilişkiler saptanmıştır (p<0,05). Rejeksiyon olan ve sağlıklı hastalarda 25(OH)D₃ düzeyi ve 1,25(OH)₂D₃ düzeyi ile VDR değerleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p>0,05).

Tablo 4.13. 25(OH)D₃ düzeyi ve 1,25(OH)₂D₃ düzeyi ile VDR değerleri arasındaki ilişkiler.

Tüm gruplar n=43								
		1,25(OH) 2D3	CD8+/VD R%	CD8 VDR (MFI)	CD4+/VD R%	CD4VDR (MFI)	Mon/V DR%	Mon VDR (MFI)
25 (OH) D3	<i>r</i>	-,030	-,226	-,152	-,238	-,131	-,029	-,200
	<i>p</i>	,846	,145	,332	,125	,404	,853	,199
1,25 (OH) 2D3	<i>r</i>		,011	-,104	-,035	-,075	-,281	-,340*
	<i>p</i>		,942	,509	,823	,635	,068	,026
Rejeksiyon olan n=15								
25 (OH) D3	<i>r</i>	,146	-,079	-,293	-,211	-,282	-,071	-,057
	<i>p</i>	,603	,780	,289	,451	,308	,800	,840
1,25 (OH) 2D3	<i>r</i>		-,133	-,700**	-,261	-,671**	-,851**	-,786**
	<i>p</i>		,638	,004	,348	,006	,000	,001
Rejeksiyon olmayan n=14								
25 (OH) D3	<i>r</i>	,037	-,512	-,125	-,407	-,125	-,253	-,389
	<i>p</i>	,899	,061	,670	,149	,670	,383	,169
1,25 (OH) 2D3	<i>r</i>		,266	,169	,125	,226	,077	-,042
	<i>p</i>		,358	,563	,670	,436	,794	,887
Sağlıklı n=14								
25 (OH) D3	<i>r</i>	-,284	-,011	,231	-,099	,349	,098	-,130
	<i>p</i>	,326	,970	,427	,737	,221	,739	,659
1,25 (OH) 2D3	<i>r</i>		-,130	-,385	-,051	-,380	-,160	-,464
	<i>p</i>		,659	,175	,864	,180	,585	,095

- **Mon / VDR %** : VDR ekspres eden monosit yüzdesi
- **CD8+ / VDR %** : VDR ekspres eden CD8+ lenfosit yüzdesi
- **CD4+ / VDR %** : VDR ekspres eden CD4+ lenfosit yüzdesi
- **Mon VDR (MFI)**: Monositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı
- **CD8 VDR (MFI)**: CD8+ lenfositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı
- **CD4VDR (MFI)**: CD4+ lenfositlerde belirlenen D vitamini reseptör miktarı

Rejeksiyon olan hastaların renal biyopsileri incelendiğinde 1 hasta transplant glomerulopatisi, 2 hasta kronik aktif T hücre aracılı rejeksiyon, 3 hasta kronik aktif antikor aracılı rejeksiyon, 9 hasta interstiyel fibrosiz ve tübüler atrofi ile uyumlu gelmiştir.

5. TARTIŞMA

Bu araştırmada renal transplant alıcısı hastalarda, yüksek oranda 25(OH)D₃ yetmezliği/eksikliği bulundu. 25(OH)D₃ düzeyleri, araştırma grubunu oluşturan renal transplant alıcısı hastaların yalnızca 3'ünde (%10.3) yeterli düzeyde idi. %24,2 hastada hafif düzeyde eksiklik, %65,5 hastada ise yetmezlik bulundu. Bu araştırmanın sonuçları, yetişkin transplantasyon alıcılarında %85'lere ulaşan yüksek oranlarda D vitamini eksikliği olduğunu gösteren daha önceden yapılmış olan araştırma sonuçları ile uyumludur (86).

Renal transplantasyon alıcılarında D vitamini eksikliğinin başlıca nedenleri; diyaliz ve transplantasyon sonrasında yetersiz D vitamini desteği almaları, cilt kanserinden korunmak için transplantasyon sonrası güneşe maruziyetin kısıtlanması, immunsupresif ilaçlardan dolayı 25(OH)D₃ katabolizmasının artması (87) transplantasyon sonrası dönemde devam eden persistan FGF23 hipersekresyonu, renal tubüler asidoz ve renal fonksiyon kaybıdır (88).

KBH'da VDR'yi regüle eden genlerin transkripsiyonunda ve dokuların VDR ekspresyonunda bozulma olduğu için D vitamini direnci grlmektedir. Üremik plazma 1-alfa hidroksilaz enziminin baskılar ve VDR'leri bloke eder. Bunların sonucu olarak VDR'nin D vitaminine duyarlılığı azalır (130).

Ayrıca KBH'nın erken dönemlerinde yükselen FGF23 etkisi ile 1-alfa hidroksilaz enziminin baskılanması da aktif D vitamini sentezini bloke etmektedir (131). Bir çok renal transplantasyon hastasında GFH ve proksimal tubül fonksiyonları değişmiştir. 25(OH)D₃'n 1,25(OH)₂D₃'e dönüşümü proksimal tublde olduğu için D vitamini ihtiyaı artmıştır.

Tüm bu nedenlere bağlı olarak transplantasyon sonrası D vitamini ihtiyaı yüksektir. Ancak bu hastalarda malignite oranı normal topluma göre çok yüksek olduğu için, bu ihtiyaç ciltten güneşlenme yolu ile karşılanamamakta ve dışarıdan desteklenmesi gerekmektedir.

Güncel KDIGO rehberi renal transplant alıcılarının, kemik ve mineral metabolizma bozuklukları açısından transplantasyon yapılmayan KBH hastaları gibi değerlendirilmesini ve tedavi edilmesini önermektedir (132). Bu bilgilere rağmen transplantasyon yapılan hastalar bazı endişeler nedeni ile genelde D vitamini desteği almamaktadır. nceki yıllarda bu hastalarda D vitamini tedavisinin hiperkalsiüri veya

hiperfosfatemiyeye neden olabileceği düşünülmekteydi. Ayrıca bu hastalarda yüksek 25(OH)D₃ düzeylerinin serum PTH seviyelerini azalttığını gösteren kanıtlar da son yıllara gelinceye kadar da yoktu. Courbebaisse ve arkadaşları tarafından yetişkinlerde yapılan ve 2009 yılında yayınlanan bir araştırma bu iki soruya yanıt vermiştir. Courbebaisse ve arkadaşları transplantasyon yapılan yetişkin hastalarda, kolekalsiferol tedavisinin 25(OH)D₃, PTH ve kalsiyum-fosfor dengesine etkilerini değerlendirmek amacı ile D vitamini eksikliği olan hastaları transplantasyondan 3 ay sonra iki gruba ayırmışlar. Grup I'de bulunan 47 hastaya D vitamini tedavisi başlanmış ve 4. 6. ve 12. aylarda 25(OH)D₃, PTH, kalsiyum, fosfor ve idrar kalsiyum/kreatinin oranları değerlendirilmiş. D vitamini tedavi dozu olarak ilk 2 ay 2 hafta ara ile 100.000 IU kolekalsiferol (\approx 6600 IU/gün) (yoğun faz), daha sonra her ay 100.000 IU kolekalsiferol (idame fazı) uygulanmış. Bu doz ile hastaların büyük çoğunluğunda 6. ve 12. aylarda 25(OH)D₃ >30 ng/ml bulunmuş. PTH seviyeleri düşmüş ve kalsiyum, fosfor konsantrasyonu üzerinde herhangi bir olumsuz etki gözlenmemiştir. Fakat bu çalışmada araştırmanın ikinci kısmında idame D vitamini tedavisi verildiği dönemde, kontrol grubuna göre yüksek olmasına rağmen hastaların 25(OH)D₃ düzeyleri tekrar azaldığı görülmüştür. Bu araştırmacılar transplantasyon yapılan hastalara aylık 100.000 IU D vitamini tedavisi önermektedirler (131).

Wals ve arkadaşları renal transplantasyon alıcılarına 800 IU düşük doz D vitamini vermişler, ancak bunun 25(OH)D₃ seviyelerini hemen hemen hiç yükseltmediğini görmüşlerdir (133).

Wissing ve arkadaşları ise renal transplantasyon alıcılarına 25.000 U/ay D vitamini tedavisi vermişler, ancak benzer şekilde D vitamini düzeylerinin düzeltilemediğini saptamışlardır (134). Bu veriler renal transplantasyon alıcılarında D vitamini ihtiyacının rehberler tarafından önerilen miktardan daha fazla olabileceğini düşündürmektedir.

Bu araştırmada rejeksiyon olan ve olmayan grup 25(OH)D₃ düzeyi, 1,25(OH)₂D₃ düzeyi ile immün hücrelerdeki (lenfosit ve monositlerdeki) VDR değerleri açısından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Tüm hastaların dahil edildiği grupta GFR ölçümünün CD8 VDR (MFI) (Hücrede belirlenen D vitamini reseptör miktarı), CD4 VDR (MFI), Mon VDR (MFI) negatif yönlü anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir. Rejeksiyon olan hastalarda ise CD8+/VDR% ve CD4+/ VDR% değerleri ile GFR'nin pozitif yönlü iyi derecede ilişkisi bulunmuştur.

Allogreft rejeksiyona giden efektör yollarda olaya dahil olan birden çok hücre tipi ve mekanizma vardır. CD8+ T hücresi ve allogreft arasındaki etkileşimin en son noktası hedef hücrelerin apoptozudur. Antijenin ASH tarafından sunulmasından sonra T lenfositler aktif hale gelir, proliferer olur ve karakteristik sitokin profillerine sahip alt tiplerine diferansiye olur. Th1 hücreleri sellüler immün yanıtı tetikler ve Th2 hücreleri humoral immün yanıtı üretir. Treg hücreleri rejeksiyon yanıtını sınırlayabilir. Th17 hücreleri glukokortikoide dirençli rejeksiyona aracılık edebilir (43). Aktif D vitaminin dentritik hücrelerin olgunlaşmasının baskılanması ve böylece CD4+ hücrelerine antijen sunumunun azalması, CD4+ hücrelerinin Th1 ve Th17 hücrelerine diferansiyon ve proliferasyonunun inhibisyonu ve Th2 ve Treg hücrelerinin üretimini artırması yolu ile olmaktadır. CD8+ hücrelerde VDR fazla miktarda bulunur. Bu durum CD8+ hücrelerin kalsitriol için potansiyel bir hedef olduğunu düşündürür. CD8+ hücreler CD4+ hücrelerin aksine kalsitriole karşı düşük antiproliferatif yanıt gösterirler (110). Sonraki çalışmalar kalsitriolün CD8+ hücrelerinde aktif olarak sitokin üretimini düzenlediğini göstermiştir. Aynı zamanda kalsitriolün CD8+ hücrelerinin proliferasyonunu düzenlediği anlaşılmıştır (111).

Renal transplantasyon alıcısı hastalarda D vitamini düzeyi ile greft fonksiyonları arasındaki ilişkiyi irdeleyen sonuçları birbirinden farklı olan araştırmalar bulunmaktadır. Bugüne kadar yapılmış olan bazı araştırmalarda D vitamini alan hastalarda GFH'nın daha iyi olduğunu gösteren sonuçlar elde edilmiştir (120).

Akut ve kronik allogreft rejeksiyonlarında D vitamininin rolü bir çok araştırma ile gösterilmiştir. Tanacı ve arkadaşları osteoporotik renal transplant alıcılarında kalsitriol tedavisi sonrası daha az rejeksiyon görüldüğünü saptamışlardır (135). O'Herrin ve arkadaşları kalsitriol tedavisinin greft fonksiyonlarını olumlu etkilediğini bulmuşlardır (126). Sezer ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada transplantasyon öncesi dönemde D vitamini düşük olan hastaların birinci yıl sonunda kreatinin ve proteinüri seviyelerinin daha yüksek olduğu bulunmuştur (136). Uyar ve arkadaşları tarafından transplantasyon sonrası dönemde osteoporoz tanısı ile kalsitriol tedavisi alan 59 hasta ile tedavi almayan 52 hastanın 3 yıllık verileri retrospektif olarak değerlendirilmiş ve kalsitriol tedavisi alan hastalar ile almayan hastaların birinci yılda PTH ve kreatinin düzeyleri arasında fark yokken, üçüncü yılda kalsitriol tedavisi alanlarda kreatinin ve PTH anlamlı olarak düşük olduğu görülmüştür (137).

Bunlardan farklı olarak Wesseling-Perry ve arkadaşları tarafından stabil greft fonksiyonu olan 68 çocuk hastada yapılan araştırmada 25(OH)D₃ düzeyi ile 2 yıllık greft fonksiyonu arasında bir ilişki saptanmamıştır (138).

Bu araştırmada renal transplante olan grupta immün hücrelerdeki VDR miktarları ve VDR eksprese eden monosit yüzdesi sağlıklı gruptan daha yüksek bulunmuştur. Rejeksiyon olan grup sağlıklı grup ile karşılaştırıldığında CD8 VDR (MFI), CD4 VDR (MFI) Mon VDR (MFI) daha yüksek iken, rejeksiyon olmayan grupta ise CD8 VDR (MFI), CD4 VDR (MFI) daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuç immün sistemden ayrı bir Şekilde D vitamini eksikliğini kompanse etme Şeklinde de ortaya çıkmış olabilir. Yani ortamda bulunan D vitamini maksimum etki ile kullanabilmek için reseptör sayısı artmış olabilir. VDR sayısı rejeke olan grupta olmayan gruba göre daha fazlaydı ama bu istatistiksel olarak anlamlı değildi. KBH'da VDR'yi regüle eden genlerin transkripsiyonunda ve dokuların VDR ekspresyonunda bozulma olduğu için D vitamini direnci görölmektedir. Üremik plazma 1-alfa hidroksilaz enziminin baskılar ve VDR'leri bloke eder. Bunların sonucu olarak VDR'nin D vitaminine duyarlılığı azalır (130). Ayrıca KBH'nın erken dönemlerinde yükselen FGF23 etkisi ile 1 alfa hidroksilaz enziminin baskılanması da aktif D vitamini sentezini bloke etmektedir (131). Rejeke olan grupta VDR'nin D vitaminine duyarlılığı azaldığı için reseptör sayısı artmış olabilir. Ama rejeke olmayan grupta da normal sağlıklı gruba göre VDR sayısı daha fazlaydı. O zaman Őöyle bir Őey akıllara geliyor bu sonuç immunsupresif ilaçların bir etkisi olarak da ortaya çıkmış olabilir. İmmün sistemin baskılayıcı etkilerine tepki olarak immün aktivasyonu devam ettirmek amacıyla VDR'lerin sayısı artırılarak D vitamini daha etkin kullanılmaya çalışılıyor da olabilir. Acaba VDR belli bir değerini aştığında immün aktivasyon başlıyor ve greft reddi mi başlıyor sorusu da akıllara geliyor. İmmün hücrelerdeki VDR transplantasyonda istenmeyen bir durum mu? Belki de VDR'lerin baskılanması gerekiyor.

Bu çalışmadan farklı olarak Lee.C ve arkadaşlarının böbrek nakli olmuş hayvanlar üzerinde yaptığı çalışmanın sonucunda kalsinörin inhibitörleri kullananlarda VDR'lerin suprese olduğu görölmüştür (139). Grenet ve arkadaşlarının böbrek nakli olmuş ratlarda siklosporin A ve D vitamini aktivasyon yolu arasındaki ilişki araştırılmış. Sonucunda siklosporin A kullanan ratlarda kalsiyum bağlayıcı protein olan kalbindin ve VDR'nin azaldığı görölmüştür (140).

Bu çalışmada siklosporin A kullanan hastaların CD4+/VDR% (VDR eksprese eden CD4+ lenfosit yüzdesi) değeri takrolimus ilacı kullananlardan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ama VDR miktarları arasında bir fark yoktur.

Kalsinörin inhibitörleri (CNI), siklosporin A ve takrolimus, çoğu böbrek nakli için immüsupresyon tedavisinin temelini oluşturur. Ana etki olarak T helper üzerine etki eder. IL-2 sitokin yapımını kontrol eden genler üzerinden, sitokin yapımını suprese eder. Siklosporin A, siklofilin denilen spesifik T hücre yüzey reseptörlerine bağlanır ve hücre içine girerek aktive olur. Hücre içi kalsiyum kullanımını bloke ederek, nükleer faktörlerce IL-2 yapım ve sekresyonunu inhibe eder. Böylece diğer T hücrelerinin olgunlaşmasını, aktivasyonunu ve hücre yüzeylerinde IL-2 reseptör ekspresyonunu durdurur. Bu inhibisyon, antijene cevap olarak oluşan kalsiyum kullanımını gerektiren T hücre aktivasyonu ve kaskatın oluşumunu sınırlı bir düzeyde bırakır. Yine CD4+ hücrelerinden sitokin salınımını engeller ve böylece sitotoksik T hücre öncüllerinin oluşumu ve proliferasyonu baskılanır. Takrolimus, temel olarak kalsinörin inhibisyonu yoluyla immüsupresif etki gösteren bir makroliddir. Kalsinörin fosfataz inhibitörü olan takrolimus, T lenfosit aktivasyonu ve lenfokin gen transkripsiyon blokeri, IL-2 sentez inhibitörüdür. Temel olarak, hücrel immünite sistemini bloke eder (141). Neden siklosporin A kullananlarda böyle bir sonuç çıktığı net olarak anlaşılamamıştır. Bu konuda daha ileri düzey çalışmalara ihtiyaç vardır.

Transplantasyon sonrası idame immüsupresif tedavi protokolleri steroid içermektedir. Steroid tedavisinin 25(OH)D₃'ün plazma yarılanma ömrünü azalttığı ve aktif D vitamini metabolitlerinin düzeyini düşürdüğü de uzun yıllardır bilinmektedir (142).

Bu araştırmada tüm hastaların dahil edildiği grupta CD8 VDR (MFI), CD4 VDR (MFI) ile BUN, kreatinin, PTH ile pozitif yönlü, GFR ve albumin ile negatif yönlü ilişkisi bulunmuştur. Mon VDR (MFI) ile 1,25(OH)₂D₃ negatif bir ilişki, tx süresi arasında pozitif bir ilişki kurulmuştur.

Mon VDR (MFI) ile CD8 VDR (MFI), CD4 VDR (MFI) farklı değişkenlerden etkilenmektedir. İmmün hücrelerdeki VDR miktarı ile 25(OH)D₃ düzeyi, 1,25(OH)₂D₃ düzeyi ile arasında ilişki bulunamadı. Sadece rejeke olan grupta hem CD8 VDR (MFI), CD4 VDR (MFI), hem de Mon VDR (MFI) ile 1,25(OH)₂D₃ düzeyi negatif yönlü kuvvetli bir ilişki bulunmuştur.

VDR ekspresyonunun düzenlenme mekanizması iyi bilinmemekle birlikte, bu mekanizma kalsitriol sentezi ve kalsitriol metabolizmasına bağlıdır. VDR ekspresyonunun düzenlenmesinin hücre tipine özel olduğu ve hem transkripsiyonal, hem de transkripsiyon sonrası mekanizmaları içerdiği farklı hücre türlerinde yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (100,103). Serum kalsiyum ve fosfat seviyelerindeki değişiklikler hedef dokudaki VDR ekspresyonunda farklılıklara neden olur (71,74). Bunun yanında, PTH, VDR ekspresyonunun düzenlenmesinde rol alır (77).

Tüm hastaların dahil edildiği grupta CD8 +/VDR% ve CD4 +/VDR%'le BMI ile negatif yönde ilişki bulunmuştur. CD8+/VDR% ile transplante olunan yaş ile arasında pozitif ilişki bulunmuştur. Rejeksiyon olan hastalarda ise CD8+/VDR% ve CD4+/VDR% değerleri ile GFR'nin pozitif yönlü iyi derecede ilişkisi bulunmuştur. Mon/VDR% ile tx süresi arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur. D vitamini yağda eriyen bir vitamin olduğu için yağ dokuda sekestre olmaktadır. Wortsman ve arkadaşlarının (142) yaptığı bir çalışmada BMI ile 25 (OH)D₃ düzeyleri arasında ters yönlü bir ilişki olduğu saptanmakla birlikte, bizim çalışmamızda ise CD8+/VDR% ve CD4+/VDR%'le BMI ile negatif yönde ilişki bulunmuştur.

Mevcut bulgular D vitamini eksikliğinin ciddiye alınması gereken sonuçlar ortaya çıkarabilecek önemli bir sorun olduğunu düşündürmektedir. Bu nedenle renal transplantasyon alıcılarında randomize kontrollü çalışmalarla D vitamini desteğinin immün fonksiyonlar, kemik metabolizması ve uzun dönem greft fonksiyonları üzerine olan etkisi değerlendirilmelidir.

6. SONUÇLAR

- 1- 25(OH)D₃ düzeyleri, araştırma grubunu oluşturan renal transplant alıcısı hastaların yalnızca 3'ünde (%10.3) yeterli düzeyde idi. %24,2 hastada hafif düzeyde eksiklik, %65,5 hastada ise yetmezlik bulundu.
- 2- Transplantasyon olan ve sağlıklı grup 25(OH)D₃ düzeyi, 1,25(OH)₂D₃ düzeyi ile VDR değerleri açısından karşılaştırıldığında immün hücrelerdeki VDR miktarları [CD8 VDR(MFI), CD4VDR (MFI), Mon VDR (MFI)] ve Mon/VDR% değerleri transplantasyon olan hastalarda daha yüksek bulunmuştur.
- 3- Siklosporin A ilacı kullanan hastaların CD4+/VDR% değeri takrolimus ilacı kullananlardan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.
- 4- Tüm hastaların dahil edildiği grupta Mon VDR (MFI) ile CD8 VDR (MFI), CD4 VDR (MFI) farklı değişkenlerden etkilenmektedir.

7. ÖZET

Böbrek Nakli Alıcılarında Kronik Rejeksiyon Gelişiminde D Vitamini ve D Vitamini Reseptör Düzeyinin Rolü

Renal fonksiyon ve yapının korunmasında D vitamininin de rolü olabileceğini düşündüren deneysel çalışmalar bulunmaktadır. Bu araştırmanın amacı renal transplant alıcılarında kronik rejeksiyon gelişiminde D vitamini ve D vitamini reseptör düzeyleri ile greft fonksiyonu arasındaki ilişkiyi değerlendirmektir.

Kliniğimizde 2013-2014 tarihleri arasında organ nakli polikliniğine kontrole gelen transplantasyon sonrasında geçen süre 6 aydan uzun olan, greft fonksiyonları stabil olan 14 hasta, greft fonksiyonları stabil olmayan ve renal biyopsi yapıp sonucu kronik rejeksiyon ile uyumlu gelen 15 hasta, ek hastalığı olmayan ve D vitamini ve analoglarını kullanmayan sağlıklı 14 hastanın BUN, serum kreatinin, albumin, kalsiyum, fosfor, PTH, 25 Hidroksikolekalsiferol ($25(OH)D_3$), 1,25 Dihidroksikolekalsiferol ($1,25(OH)_2D_3$) düzeyleri ile monosit, CD8+ ve CD4+ T lenfositlerdeki VDR düzeyleri açısından değerlendirildi.

Çalışmaya alınan 43 hasta normal sağlıklı grup, böbrek nakli olup, kronik rejeksiyon gelişmeyen greft fonksiyonları stabil olan grup ve böbrek nakli olup greft fonksiyonları kötü gidince renal biyopsi olan ve biyopsi sonucu kronik rejeksiyon ile uyumlu gelen grup olarak üçe ayrıldı. Gruplar arasında demografik değişkenlerden cinsiyet, yaş ve BMI değerlerine göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Rejeksiyon olan ve olmayan grup $25(OH)D_3$ düzeyi, $1,25(OH)_2D_3$ düzeyi ile immün hücrelerdeki (lenfosit ve monositler)VDR değerleri açısından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Transplantasyon olan grup ile sağlıklı grup $25(OH)D_3$ düzeyi, $1,25(OH)_2D_3$ düzeyi ve VDR değerleri açısından karşılaştırıldığında immün hücrelerdeki VDR miktarları [CD8 VDR (MFI), CD4 VDR (MFI), Mon VDR (MFI)] ve Mon/VDR% değerleri transplantasyon olan hastalarda daha yüksek bulunmuştur.

Araştırma sonuçları renal transplant alıcılarında daha yüksek VDR düzeyleri olduğunu göstermiştir. Bunun nedeni immunsupresif ilaçların immun sistemi baskılayıcı etkilerine tepki olarak immun aktivasyonu devam ettirmek amacıyla VDR'lerin sayısı artırılıp D vitamininin daha etkin kullanılmaya çalışıldığını düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Kronik rejeksiyon, vitamin D, vitamin D reseptörü, böbrek nakli.

8. ABSTRACT

The Role of Vitamin D and the Vitamin D Receptor Levels in Development of Chronic Rejection in Kidney Transplant Recipients

Some experimental studies showed that vitamin D may have a role in the maintenance of normal kidney structure and function. The aim of this study is to assess whether serum vitamin D and vitamin D receptors concentrations are related with graft function in chronic allograft rejection or not.

The patients with renal transplant recipients who had an outpatient visit between 2013 and 2014 were evaluated. Renal transplant patients divided two groups according to their renal graft function. First group was 14 patients with stable graft function, second group was 15 patients with unstable graft function and diagnosed as chronic allograft rejection by renal biopsy. We also evaluated 14 healthy people as control group who don't use vitamin D analogues. The serum BUN, creatinine, albumin, calcium, phosphorus, PTH, 25 hydroxyvitamin D (25(OH)D₃), 1,25-dihydroxyvitamin D (1,25(OH)₂D₃) and levels of VDR in monocytes, CD8+ and CD4+ T lymphocyte were analyzed.

There were not any statistically significant differences between three groups with regard to demographic variables gender, age, and BMI values.

We didn't find statistically significant differences between groups with stable graft function and the group with chronic allograft rejection when we evaluated 25(OH)D₃ levels, 1,25(OH)₂D₃ levels and immune cells (lymphocytes and monocytes) in terms of VDR value.

Transplantation group and healthy group were compared in terms of 25(OH)D₃ levels, 1,25(OH)₂D₃ levels and VDR values. Transplantation group patients had higher VDR (CD8 VDR (MFI), CD4 VDR (MFI), Mon VDR (MFI)]and Mon/VDR% levels in immune cells.

Research findings suggest that renal transplant recipients have higher VDR levels. These findings may be cause of a increased immune activation in response to immunosuppressive drugs to use vitamin D more effective.

Key words: Renal transplant, vitamin D, vitamin D receptors, chronic allograft rejection.

9. KAYNAKLAR

- 1- Morris PJ. Transplantation a medical miracle of the 20th century. *N Engl J Med* 2004; 351: 2678-80.
- 2- Sayegh MH, Carpenter CB. Transplantation 50 years later progress, challenges, and promises. *N Engl J Med* 2004; 351: 2761-6.
- 3- Fletcher JT, Nankivell BJ, Alexander SI. Chronic allograft nephropathy. *Pediatr Nephrol* 2009; 24: 1465-71.
- 4- Doorenbos CR, van den Born J, Navis G, de Borst MH. Possible renoprotection by D vitamini in chronic renal disease: beyond mineral metabolism. *Nat Rev Nephrol* 2009; 5: 691-700.
- 5- Holick MF. D vitamin deficiency. *N Engl J Med* 2007; 357: 266-81.
- 6- Doorenbos CR, van den Born J, Navis G, de Borst MH. Possible renoprotection by D vitamini in chronic renal disease: beyond mineral metabolism. *Nat Rev Nephrol* 2009; 5: 691-700.
- 7- Tan X, Li Y, Liu Y. Therapeutic role and potential mechanisms of active D vitamin in renal interstitial fibrosis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007; 103: 491-96.
- 8- Hullett DA, Laeseke PF, Malin G, Nessel R, Sollinger HW, Becker BN. Prevention of chronic allograft nephropathy with D vitamini. *Transpl Int* 2005; 18: 1175-86.
- 9- Aschenbrenner JK, Sollinger HW, Becker BN, Hullett DA. 25-(OH(2))D(3) alters the transforming growth factor beta signaling pathway in renal tissue. *J Surg Res* 2001; 100: 171-5.
- 10- O'Herrin JK, Hullett DA, Heisey DM, Sollinger HW, Becker BN. A retrospective evaluation of 1,25-dihydroxyD vitamini(3) and its potential effects on renal allograft function. *Am J Nephrol* 2002; 22: 515-20.
- 11- Falkiewicz K, Boratynska M, Speichert-Bidzińska B, Magott-Procelewska M, Biecek P, Patrzalek D, Klinger M. 1,25-dihydroxyD vitamini deficiency predicts poorer outcome after renal transplantation. *Transplant Proc* 2009; 41: 3002-5.
- 12- United States Renal Data System (USRDS) The 2005 Annual Data Report. Bethesda, MD: National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases 2005.
- 13- Smith M, Nemeth TL, McDonald RA. In: Avner ED, Harmon WE, Niaudet TP, Yoshikawa N, editors. *Pediatric Nephrology*, 6th edition. Heidelberg, Springer 2009; 1903-19.

- 14- Ishitani M, Isaacs R, Norwood V, Nock S, Lobo P. Predictors of graft survival in pediatric living-related kidney transplant recipients. *Transplantation* 2000; 70: 288-92.
- 15- Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CL, O'Connell PJ, Allen RD, Chapman JR. The natural history of chronic allograft nephropathy. *N Engl J Med* 2003; 349: 2326-33.
- 16- Briscoe DM, Alexander SI, Lichtman AH. Interactions between T lymphocytes and endothelial cells in allograft rejection. *Curr Opin Immunol* 1998; 10: 525-31.
- 17- Kim IK, Bedi DS, Denecke C, Ge X, Tullius SG. Impact of innate and adaptive immunity on rejection and tolerance. *Transplantation* 2008; 86: 889-94.
- 18- Halloran PF. Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *N Engl J Med* 2004; 351: 2715-29.
- 19- Sis B, Mengel M, Haas M. Banff '09 Meeting Report: antibody mediated graft deterioration and implementation of Banff working groups. *Am J Transplant* 2010; 10: 464-71.
- 20- Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CL, O'Connell PJ, Allen RD, Chapman JR. The natural history of chronic allograft nephropathy. *N Engl J Med* 2003; 349: 2326- 33.
- 21- Tisher CC. Clinical indications for kidney biopsy. In renal pathology: with clinical and functional correlations. Section edition. Edited by Tisher CC and Brenner BM. JB Lippincott Company, Philadelphia 1994; 75.
- 22- Türkmen A. Allograft biyopsisi yapılmış 108 renal transplantasyon hastasının klinikopatolojik açıdan değerlendirilmesi. Yan Dal Uzmanlık Tezi, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Nefroloji Bilim Dalı, İstanbul 1997.
- 23- Rush DN, Jeffery JR, Gough J. Sequential protocol biopsies in renal transplant patients. *Transplantation* 1995; 59: 511.
- 24- Solez K, Colvin RB, Racusen LC. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant* 2008; 8: 753-60.
- 25- Colvin RB. Antibody-mediated renal allograft rejection: diagnosis and pathogenesis. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 1046-56.
- 26- Terasaki PI. Humoral theory of transplantation. *Am J Transplant* 2003; 3: 665-73.
- 27- Danovitch GM. Böbrek Nakli El Kitabı. Üçüncü baskı. Tuncer Karpuzoğlu Çeviri Editörü. Güneş Kitabevi Ltd., Ankara 2003; Bölüm 2: 17-37.
- 28- Danovitch GM. Böbrek Nakli El Kitabı. Tuncay Tuncer Karpuzoğlu, çeviri editörü. Üçüncü baskı. Ankara: Güneş Kitabevi 2003; 290-312.

- 29- Solez K, Colvin RB, Racusen LC, Sis B, Halloran PF. Banff '05 Meeting Report: differential diagnosis of chronic allograft injury and elimination of chronic allograft nephropathy ('CAN'). *Am J Transplant* 2007; 7: 518-26.
- 30- Chapman JR, O'Connell PJ, Nankivell BJ. Chronic renal allograft dysfunction. *J Am Soc Nephrol* 2009; 16: 3015-26.
- 31- Renal transplantasyona pratik yaklaşım. Editör: Doc.Dr. M.İzzet Titiz; 95-9.
- 32- Flechner SM, Kobashigawa J, Klintmalm G. Calcineurin inhibitor-sparing regimens in solid organ transplantation: focus on improving renal function and nephrotoxicity. *Clin Transplant* 2008; 22: 1-15.
- 33- Tejani A, Ho PL, Emmett L, Stablein DM, North American Pediatric Renal Transplant Cooperative S. Reduction in acute rejections decreases chronic rejection graft failure in children: a report of the North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study (NAPRTCS). *Am J Transplant* 2002; 2: 142-7.
- 34- Harmon W, Meyers K, Ingelfinger J, McDonald R, McIntosh M, Ho M, et al. Safety and efficacy of a calcineurin inhibitor avoidance regimen in pediatric renal transplantation. *J Am Soc Nephrol: JASN* 2006; 17: 1735-45.
- 35- Runge MS, Patterson C. Principles of Molecular Medicine. 2nd ed. İçinde Goldstein DR, Bose A, Lakkis FG. Mechanisms of Renal Allograft Rejection. Philadelphia: Humana Press 2006; 656-62.
- 36- Lakkis F. Where is the alloimmune response initiated? *Am J Transplant* 2003; 3: 241-2.
- 37- Abbas AK, Lichtman AH. Temel İmmünoloji. İmmün Sistem İşlev ve Bozuklukları. Camcıoğlu Y, Deniz G, eds. 1.baskı. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık 2007; 41-61.
- 38- Goldstein D, Tesar B, Akira S, Lakkis F. Critical role of the Toll-like receptor signal adaptor protein Myd88 in acute allograft rejection. *J Clin Invest* 2003; 111: 1571- 8.
- 39- Abbas AK, Lichtman AH. Temel İmmünoloji. İmmün Sistem İşlev ve Bozuklukları. Camcıoğlu Y, Deniz G, eds. 1.baskı. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık 2007; 177-92.
- 40- Sayegh MH, Turka LA. The role of T cell costimulatory activation pathways in transplant rejection. *N Engl J Med* 1998; 338: 1813-21.
- 41- Lakkis FG. Role of the cytokines in transplantation tolerance: lessons learned from gene-knockout mice. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 2361-7.
- 42- Nankivell BJ, Alexander SI. Rejection of the Kidney Allograft. *N Engl J Med* 2010; 1455-6.
- 43- Kaech SM, Wherry EJ, Ahmed R. Effector and memory T cell differentiation: Implication for vaccine development. *Nat Rev Immunol* 2002; 2: 251-62.

- 44- Susal C, Opelz G. Kidney greft failure and presensitization against HLA class I and class II antigens. *Transplantation* 2002; 73: 1269-73.
- 45- Singh N, Pirsch J, Samaniego M. Antibody-mediated rejection: treatment alternatives and outcomes. *Transplant Rev* 2009; 23: 34-6.
- 46- Dijke E, Weimar W, Baan CC. Regulatory T cells after organ transplantation: Where does their action take place? *Hum Immunol* 2008; 69: 389-98.
- 47- Susal C, Opelz G. Options for immunologic support of renal transplantation through the HLA and immunology laboratories. *Am J of Transplant* 2007; 7: 1450-6.
- 48- Krensky AM, Clayberger C. Transplantation immunology. *Pediatr Clin North Am* 1994; 41: 819-39.
- 49- Ishida H, Tanabe K, Toma H, Akiba T. Therapeutic apheresis therapy for ABO incompatible renal transplantation. *Ther Apher Dial* 2003; 7: 520-8.
- 50- 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: 236-46.
- 51- Jeannet M, Pinn VW, Flax MH, Russell PS. Humoral antibodies in renal allotransplantation in man. *N Engl J Med* 1970; 282: 111-7.
- 52- McKenna RM, Takemoto SK, Terasaki PI. Anti-HLA antibodies after solid organ transplantation. *Transplantation* 2000; 69: 319-26.
- 53- 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: 1677-8.
- 54- 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: 1336-9.
- 55- Takeda A, Uchida K, Haba T, Tominaga Y, Katayama A, Koayashi T, et all. *Clinical Transplantation* 2000; 14: 15-20.
- 56- Delgado JC, Eckels DD. Positive B-cell only flow cytometric crossmatch: implications for renal transplantation. *Exp Mol Pathol* 2008; 85: 59-63.
- 57- Holick MF. D vitamini: a millennium perspective. *J Cell Biochem* 2003; 88: 296-307.
- 58- Adams JS, Hewison M. Update in D vitamini. *JCEM* 2010; 95: 471-8.

- 59- DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of D vitamini. *JJ Clin Nutr* 2004; 80: 1689-6.
- 60- Holick MF. McCollum award lecture, D vitamini: new horizons for the 21st century. *Am J Clin Nutr* 1994; 60: 619-30.
- 61- Lavie CJ, Lee JH, Milani RV. D vitamini and Cardiovascular Disease Will It Live Up to its Hype? *Journal of the American College of Cardiology* 2011; 58: 1547-56.
- 62- Hochberg Z. Rickets-past and present. In: Hochberg Z (ed). *D vitamini and Rickets Switzerland: SKarger AG* 2003; 6: 1-13.
- 63- Lips P. D vitamini physiology. *Progr Biophy Mol Biol* 2006; 92: 4-8.
- 64- Prosser DE, Jones G. Enzymes involved in the activation and inactivation of D vitamini. *Trends Biochem Sci* 2004; 29(12): 664-73.
- 65- Shinki T, Ueno Y, DeLuca HF, Suda T. Calcitonin is a major regulator for the expression of renal 25-hydroxyD vitamini3-1alphahydroxylase gene in normocalcemic rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 8253-8.
- 66- Liu S, Tang W, Zhou J. Fibroblast growth factor 23 is a counter-regulatory phosphaturic hormone for D vitamini. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 1305-15.
- 67- Cantorna MT. D vitamini and its role in immunology: multipleclerosis, and inflammatory bowel disease. *Prog Biophys Mol Biol* 2006; 92: 60-4.
- 68- Holick MF. D vitamini: extraskeletal health. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2010; 39: 381-400.
- 69- Holick MF, Chen TC. D vitamini deficiency: a worldwide problem with health consequences. *Am J Clin Nutr* 2008; 87: 1080-6.
- 70- Cannell JJ, Hollis BW. Use of D vitamini in clinical practice. *Altern Med Rev* 2008; 13: 6-20.
- 71- Issa LL, Leong GM, Eisman JA. Molecular mechanism of Vit D receptor action. *Inflamm Res* 1997; 47: 451-75.
- 72- Kitagawa I, Kitagawa Y, Kawase Y, Nagaya T, Tokudome S. Advanced onset of menarche and higher bone mineral density depending on Vit D receptor gene polymorphism. *Eur J Endocrinol* 1998; 139: 522-7.
- 73- Elaroussi MA, Prah JM, DeLuca HF. The avian Vit D receptors: primary structures and their origins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 11596-600.

- 74- Ferrari S, Bonjour JP, Rizzoli R. The D vitamini₃ receptor gene and calcium metabolism. *Trends Endocrinol Metab* 1998; 9/7: 259-63.
- 75- Miyamoto K, Kesterson RA, Yamamoto H, Taketani Y, Nishiwaki E, Tatsumi S, et al. Structural organization of the human D vitamini receptor chromosomal gene and its promoter. *Mol Endocrinol* 1997; 11(8): 1165-79.
- 76- Uitterlinden AG, Fang Y, van Meurs JB, van Leeuwen H, Pols HA. D vitamini receptor gene polymorphisms in relation to D vitamini related disease states. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2004; 89-90: 187-93.
- 77- Bouillon R, Carmeliet G, Daci E, Segaert S, Verstuyf A. Vit D metabolism and action. *Osteoporos Int* 1998; 8: 13-9.
- 78- Dusso AS. *Semin Nephrol* 2004; 24: 10-6.
- 79- Holick MF. Resurrection of D vitamini deficiency and rickets. *J Clin Invest* 2006; 116(8): 2062-72.
- 80- Adams JS, Hollis BW. D vitamini: Synthesis, metabolism and clinical measurement. In: Coe FL, Favus MJ, (eds); *Disorders of bone and mineral metabolism*, 2th edition, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins 2002; 157-74.
- 81- Holick MF. High prevalence of D vitamini inadequacy and implications for health. *Mayo Clin Proc* 2006; 81(3): 353-73.
- 82- Lips P, Wiersinga A, van Ginkel FC. The effect of D vitamini supplementation on D vitamini status and parathyroid function in elderly subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67(4): 644-50.
- 83- Thomas MK, Lloyd-Jones DM, Thadhani RI. Hypovitaminosis D in medical inpatients. *N Engl J Med* 1998; 338(12): 777-83.
- 84- Block GA, Port FK: Re-evaluation of risks associated with hyperphosphatemia and hyperparathyroidism in dialysis patients: Recommendations for a change in management. *Am J Kidney Dis* 2000; 35: 1226-37.
- 85- Moe SM, Drüeke TB, Block GA, Cannata-Andía JB, Elder GJ, Fukagawa M, et al. KDIGO clinical practice guideline fort he diagnosis, evaluation, prevention and treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney Int Suppl* 2009; 113: 1-130.
- 86- Stavroulopoulos A, Cassidy MJ, Porter CJ, Hosking DJ, Roe SD. D vitamini status in renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2007; 7: 2546-52.

- 87- Pascussi JM, Robert A, Nguyen M, Walrant-Debray O, Garabedian M, Martin P, et al. Possible involvement of pregnane X receptor-enhanced CYP24 expression in drug-induced osteomalacia. *J Clin Invest* 2005; 115: 177-86.
- 88- Saito H, Kusano K, Kinoshita M, Ito H, Hirata M, Segawa H, et al. Human fibroblast growth factor-23 mutants suppress Na-dependent phosphate co-transport activity and 1 α ,25-dihydroxyD vitamini₃ production. *J Biol Chem* 2003; 278: 2206-11.
- 89- Hewison M. In. D vitamini and the Immune System: New Perspectives on an Old Theme *Rheum Dis Clin N Am* 2012; 38: 125–39.
- 90- Adorini L, Penna G, Girratana N. Dendritic cells as key targets for immunomodulation by D vitamini receptor ligands. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2004; 89-90: 437-41.
- 91- Kreutz M, Andreesen R, Krause SW. 1,25-DihydroxyD vitamini₃ production and D vitamini₃ receptor expression are developmentally regulated during differentiation of human monocytes into macrophages. *Blood* 1993; 82: 1300.
- 92- Koeffler HP, Reichel H, Bishop JE. Gamma-interferon stimulates production of 1,25-dihydroxyD vitamini₃ by normal human macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 1985; 127: 596.
- 93- Liu PT, Stenger S, Li H. Toll-like receptor triggering of a D vitamini-mediated human antimicrobial response. *Science* 2006; 311: 1770.
- 94- Krutzik SR, Hewison M, Liu PT. IL-15 links TLR2/1-induced macrophage differentiation to the D vitamini-dependent antimicrobial pathway. *J Immunol* 2008; 181: 7115.
- 95- Peric M, Koglin S, Kim SM. IL-17A enhances D vitamini₃-induced expression of cathelicidin antimicrobial peptide in human keratinocytes. *J Immunol* 2008; 181: 8504.
- 96- Gombart AF, Borregaard N, Koeffler HP. Human cathelicidin antimicrobial peptide (CAMP) gene is a direct target of the D vitamini receptor and is strongly up-regulated in myeloid cells by 1,25-dihydroxyD vitamini₃. *FASEB J* 2005; 19: 1067.
- 97- Sadeghi K, Wessner B, Laggner U. D vitamini₃ down-regulates monocyte TLR expression and triggers hyporesponsiveness to pathogen-associated molecular patterns. *Eur J Immunol* 2006; 36: 361.
- 98- Penna G, Adorini L. 1 α ,25-dihydroxyD vitamini₃ inhibits differentiation, maturation, activation, and survival of dendritic cells leading to impaired alloreactive T cell activation. *J Immunol* 2000; 164: 2405.
- 99- Gregori S, Casorati M, Amuchastegui S. Regulatory T cells induced by 1 α ,25-dihydroxyD vitamini₃ and mycophenolate mofetil treatment mediate transplantation tolerance. *J Immunol* 1945; 167: 2001.

- 100- Hewison M, Freeman L, Hughes SV. Differential regulation of D vitamin receptor and its ligand in human monocyte-derived dendritic cells. *J Immunol* 2003; 170: 5382.
- 101- Hewison M, Zehnder D, Chakraverty R. D vitamin and barrier function: a novel role for extra-renal 1 alpha-hydroxylase. *Mol Cell Endocrinol* 2004; 215: 31.
- 102- Provvedini DM, Manolagas SC. 1 alpha,25-dihydroxyD vitamin₃ receptor distribution and effects in subpopulations of normal human T lymphocytes. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 68: 774.
- 103- Ozkan B. Nutritional rickets. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2010; 4: 137-43.
- 104- Lemire JM, Archer DC, Beck L. Immunosuppressive actions of 1,25-dihydroxyD vitamin₃: preferential inhibition of Th1 functions. *J Nutr* 1995; 125: 1704.
- 105- Overbergh L, Decallonne B, Waer M. 1alpha,25-dihydroxyD vitamin₃ induces an autoantigen-specific T-helper 1/T-helper 2 immune shift in NOD mice immunized with GAD65 (p524-543). *Diabetes* 2000; 49: 1301.
- 106- Korn T, Oukka M, Kuchroo V. Th17 cells: effector T cells with inflammatory properties. *Semin Immunol* 2007; 19: 362.
- 107- Daniel C, Sartory NA, Zahn N. Immune modulatory treatment of TNBS colitis with calcitriol is associated with a change of a Th1/Th17 to a Th2 and regulatory T cell profile. *J Pharmacol Exp Ther* 2007; 323: 23–33.
- 108- Barrat FJ, Cua DJ, Boonstra A. In vitro generation of interleukin 10-producing regulatory CD4(1) T cells is induced by immunosuppressive drugs and inhibited by helper type 1 (Th1)- and Th2-inducing cytokines. *J Exp Med* 2002; 195: 603.
- 109- Gorman S, Kuritzky LA, Judge MA. Topically applied 1,25-dihydroxyD vitamin₃ enhances the suppressive activity of CD41CD251 cells in the draining lymph nodes. *J Immunol* 2007; 179: 6273.
- 110- Vanham G, Ceuppens JL, Bouillon R. T lymphocytes and their CD4 subset are direct targets for the inhibitory effect of calcitriol. *Cell Immunol* 1989; 124: 320.
- 111- Topilski I, Flaishon L, Naveh Y. The anti-inflammatory effects of 1,25-dihydroxyD vitamin₃ on Th2 cells in vivo are due in part to the control of integrin-mediated T lymphocyte homing. *Eur J Immunol* 2004; 34: 1068.
- 112- Chen S, Sims GP, Chen XX. Modulatory effects of 1,25-dihydroxyD vitamin₃ on human B cell differentiation. *J Immunol* 2007; 179: 1634.

- 113- Adams JS, Hewison M. Unexpected actions of D vitamini: new perspectives on the regulation of innate and adaptive immunity. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2008; 4: 80-90.
- 114- Claudio A, Wagner M. 1,25-DihydroxyD vitamini₃ shows strong and additive immunomodulatory effects with cyclosporine A in rat renal allotransplants. *Kidney International* 2002; 288–96.
- 115- Sezer S, Uyar M, Arat Z. Potential effects of 1,25-dihydroxyD vitamini₃ in renal transplant recipients. *Transplant Proc* 2005; 37: 3109.
- 116- Mora JR, Iwata M, von Andrian UH. Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 685-98.
- 117- D'Ambrosio DCM, Cocciolo MG, Mazzeo D. Inhibition of IL-12 production by 1,25-dihydroxyD vitamini₃. Involvement of NF- κ B downregulation in transcriptional repression of the p40 gene. *J Clin Invest* 1998; 101: 252–62.
- 118- Adams JS, Chen H, Chun R. Substrate and enzyme trafficking as a means of regulating 1,25-dihydroxyD vitamini synthesis and action: the human innate immune response. *J Bone Miner Res* 2007; 22 (2): 20–4.
- 119- Redaelli CA, Wagner M, Günter-Duwe D, Tian YH, Stahel PF, Mazzucchelli L, et al. 1 α , 25-dihydroxyD vitamini₃ shows strong and additive immunomodulatory effects with cyclosporine A in rat renal allotransplants. *Kidney Int* 2002; 61: 288-96.
- 120- Hullett DA, Laeseke PF, Malin G, Nessel R, Sollinger HW, Becker BN. Prevention of chronic allograft nephropathy with D vitamini. *Transpl Int* 2005; 18: 1175-86.
- 121- Aschenbrenner JK, Sollinger HW, Becker BN, Hullett DA. 25-(OH(2))D(3) alters the transforming growth factor beta signaling pathway in renal tissue. *J Surg Res* 2001; 100: 171-5.
- 122- Fallowfield JA, Kendall TJ, Iredale JP. Reversal of fibrosis: no longer a pipe dream? *Clin Liver Dis* 2006; 10: 481-97.
- 123- Li YC. D vitamini regulation of the renin-angiotensin system. *J Cell Biochem* 2003; 88: 327-31.
- 124- Courbebaisse M, Souberbielle J, Thervet E. Potential Nonclassical Effects of D Vitamini in Transplant Recipients. *Transplantation* 2010; 89: 131-7.
- 125- Brewster UC, Perazella MA. The renin-angiotensin-aldosterone system and the kidney: Effects on kidney disease. *Am J Med* 2004; 116: 263.

- 126- Makibayashi K, Tatematsu M, Hirata M, Fukushima N, Kusano K, Ohashi S, et al. A D vitamini analog ameliorates glomerular injury on rat glomerulonephritis. *Am J Pathol* 2001; 158: 1733-41.
- 127- Tan X, He W, Liu Y. Combination therapy with paricalcitol and trandolapril reduces renal fibrosis in obstructive nephropathy. *Kidney Int* 2009; 76: 1248-57.
- 128- Kovesdy CP, Ahmadzadeh S, Anderson JE, Kalantar-Zadeh K. Association of activated D vitamini treatment and mortality in chronic kidney disease. *Arch Intern Med* 2008; 168: 397-403.
- 129- Wolf M, Betancourt J, Chang Y, Shah A, Teng M, Tamez H, et al. Impact of activated D vitamini and race on survival among hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19: 1379-88.
- 130- Chen H. Uremic plasma contains factors inhibiting 1 α hydroxylase activity. *JASN* 1992.
- 131- Wesseling-Perry K, Salusky IB. Chronic Kidney Disease Mineral and Bone Disorder. In: Avner ED, Harmon WE, Niaudet TP, Yoshikawa N, editors. *Pediatric Nephrology*, 6th edition. Heidelberg, Springer 2009; 1755-85.
- 132- Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Transplant Work Group. KDIGO clinical practice guidelines for the care of kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2009; 9: 19-20.
- 133- Walsh SB. effect of pamidronate on bone loss after kidney transplantation: a randomized trial. *Am J Kidney Dis* 2009; 53: 856-65.
- 134- Wissing KM, Broeders N, Moreno-Reyes R. A controlled study of D vitamini3 to prevent bone loss in renal-transplant patients receiving low doses of steroids. *Transplantation* 2005; 79: 108-15.
- 135- Tanaci N, Karakose H, Guvener N. Influence of 1,25-dihydroxyD vitamini(3) as an immunomodulator in renal transplant recipients: A retrospective cohort study. *Transplant Proc* 2003; 35: 2885-7.
- 136- Sezer S, Yavuz D, Canoz MB, Ozdemir FN, Haberal M. D vitamini Status, Bone Mineral Density, and Inflammation in Kidney Transplantation Patients *Transplantation Proceedings* 2009; 41: 2823-25.
- 137- Uyar M, Sezer S, Arat Z, Elsuner R, Ozdemir FN, Haberal M. 1,25-dihydroxyD vitamini(3) therapy is protective for renal function and prevents hyperparathyroidism in renal allograft recipients. *Transplant Proc* 2006; 38: 2069-73.

- 138- Wesseling-Perry K, Tsai EW, Ettenger RB, Jüppner H, Salusky IB. Mineral abnormalities and long-term greft function in pediatric renal transplant recipients: a role for FGF-23? *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26: 3779-84.
- 139- Lee CT, Ng HY, Lien YH, Lai LW, Wu MS. Effects of cyclosporine, tacrolimus and rapamycin on renal calcium transport and vitamin D metabolism. *Am J Nephrol* 2011; 34(1): 87-94.
- 140- Grenet O, Bobadilla M, Chibout SD, Steiner S. Evidence for the impairment of the vitamin D activation pathway by cyclosporine A. *Biochem Pharmacol* 2000; 59(3): 267-72.
- 141- Bestard O, Cruzado JM, Grinyo JM. Calcineurin-inhibitor-sparing immunosuppressive protocols. *Transplant Proc* 2005; 37(9): 3729-32.
- 142- Avioli LV, Birge SJ, Lee SW. Effects of prednisone on D vitamini metabolism in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1968; 28: 1341-6.
- 143- Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of D vitamini in obesity. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 690-3.