

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TAKROLİMUS KULLANAN BÖBREK NAKİL
HASTALARINDA FARMAKOGENETİĞİN ÖNEMİNİN
ARAŞTIRILMASI

Merve DEMİRBÜĞEN ÖZ

FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. H. Sinan SÜZEN

ANKARA
2019

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğun “**Takrolimus Kullanan Böbrek Nakil Hastalarında Farmakogenetiğin Öneminin Araştırılması**” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır.

Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Merve DEMİRBÜGEN ÖZ

Tarih:

İmza:

KABUL ve ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalında
Merve DEMİRBÜĞEN ÖZ tarafından hazırlanan
“Takrolimus Kullanan Böbrek Nakil Hastalarında Farmakogenetiğin Öneminin
Araştırılması” adlı tez çalışması
aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile
kabul/ret edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 03.12.2019

Prof. Dr. Yalçın DUYDU
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı

Prof. Dr. H.Sinan SÜZEN
Ankara Üniversitesi
Raportör

Prof. Dr. Kenan KEVEN
Ankara Üniversitesi
Üye

Prof. Dr. Ş. Remzi ERDEM
Başkent Üniversitesi
Üye

Prof. Dr. H. Oğuz SÖYLEMEZOĞLU
Gazi Üniversitesi
Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet AKAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
Önsöz	xi
Simgeler ve Kısaltmalar	xiii
Şekiller	xiv
Çizelgeler	xiv

1.GİRİŞ	1
1.1. Kronik Böbrek Yetmezliği ve Böbrek Nakli	1
1.3. Böbrek Nakli Sonrasında Kullanılan İmmunosüpresif Tedavi Seçenekleri	2
1.3.1. Kalsinörin İnhibitörleri	2
1.4. Takrolimus	3
1.4.1. Etki Mekanizması	4
1.4.2. Terapötik Endikasyonları ve Uygulama Şekli	5
1.4.3. Farmakokinetik Özellikleri	6
1.4.3.1. Emilim	6
1.4.3.2. Dağılımı	6
1.4.3.3. Metabolizması	7
1.4.3.4. Eliminasyonu	8
1.4.4. Farmakodinamik Özellikleri	9
1.4.5. İstenmeyen Etkiler	9
1.4.5.1. Enfeksiyon ve Neoplazmalar	9
1.4.5.2. Nefrotoksisite	10
1.4.5.3. Nörotoksisite	10
1.4.5.4. Metabolik Etkiler ve Diabetes Mellitus	10
1.4.5.5. Hipertansiyon	11
1.4.5.6. Gastrointestinal Rahatsızlıklar	11
1.4.5.7. Diğer Yan Etkiler	11
1.4.6. İlaç Etkileşimleri	12
1.4.6.1. Metabolizma İnhibisyonu	12

1.4.6.2. Metabolizma İndüksiyonu	13
1.4.6.3. TKR'un Diğer Tıbbi Ürünlerin Metabolizması Üzerine Etkisi	14
1.4.7. Kan TKR Düzeyinin Önemi	15
1.4.8. Kan TKR Düzeyini Etkileyen Faktörler	17
1.4.8.1. TKR İlaç Düzeyini Etkileyen Genetik Olmayan Faktörler	17
1.4.8.2. TKR İlaç Düzeyini Etkileyen Genetik Faktörler	20
1.4.9. Farmakogenetik	21
1.5. TKR Metabolizmasında Yer Alan Genler	22
1.5.1. <i>CYP3A5</i> Geni, <i>CYP3A5</i> *3 Polimorfizmi	22
1.5.2. <i>CYP3A4</i> geni, <i>CYP3A4</i> *22 Polimorfizmi	28
1.5.3. SitokromP450 Oksidoredüktaz (<i>POR</i>) Geni, <i>POR</i> *28 Polimorfizmi	32
2. GEREÇ VE YÖNTEM	35
2.1. Gereç	35
2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	35
2.1.2. Kullanılan Cihazlar	36
2.1.3. Çalışma Planı ve Kan Numunelerinin Toplanması	36
2.1.4. Çalışma Grubu için Gerekli Kriterler	37
2.2. Yöntemler	38
2.2.1. Tam Kandan Genomik DNA İzolasyonu	38
2.2.2. DNA Saflık ve Miktar Tayini	39
2.2.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ve Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RPUP) Optimizasyon Çalışmaları	40
2.2.3.1. PZR Reaksiyon Şartları ve Optimizasyonu	41
2.2.3.1.1. Magnezyum İyon (Mg^{+2}) Konsantrasyonu	42
2.2.3.1.2. dNTP konsantrasyonu	42
2.2.3.1.3. Primer Konsantrasyonları	42
2.2.3.1.4. DNA Konsantrasyonu	43
2.2.3.1.5. <i>Taq</i> DNA Polimeraz Konsantrasyonu	43
2.2.3.2. PZR Programı ve Optimizasyonu	43
2.2.3.2.1. Başlangıç Denatürasyon Sıcaklığı	44
2.2.3.2.2. Bağlanma Sıcaklığı (Annealing)	44

2.2.3.2.3. Uzama ve Son Uzama Sıcaklıkları	44
2.2.3.2.4. Sıcaklık Süresi	44
2.2.3.2.5. Döngü Sayısı	45
2.2.4. PZR Ürünlerinin Jel Elektroforez ile Görüntülenmesine Yönelik Optimizasyon Çalışmaları	45
2.2.4.1. Uygun Poliakrilamid Jel Konsantrasyonunun Belirlenmesi	46
2.2.4.2. Uygun PZR Ürün Miktarının Belirlenmesi	46
2.2.4.3. PZR Ürünlerinin Yürütülmesi İçin Uygun Volt, Amper ve Sürenin Belirlenmesi	46
2.2.5. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RPUP) Optimizasyon Çalışmaları	47
2.2.5.1. PZR Ürün Miktarı	47
2.2.5.2. Restriksiyon Enzim Miktarı	48
2.2.5.3. İnkübasyon Süresi	48
2.2.6. RPUP Ürünlerinin Jel Elektroforezi ile Görüntülenmesine Yönelik Optimizasyon Çalışmaları	48
2.2.6.1. Uygun Poliakrilamid Jel Konsantrasyonunun Belirlenmesi	49
2.2.6.2. Uygun RPUP Ürün Miktarının Belirlenmesi	49
2.2.6.3. RPUP Ürünlerinin Belirlenmesinde Uygulanacak Volt, Amper ve Yürütme Süresinin Belirlenmesi	49
2.2.7. Yapılan PZR-RPUP Analizleri, Optimizasyon Çalışmalarının Özeti	50
2.2.7.1. CYP3A5*3, rs776746, 6986 A>G	50
2.2.7.2. CYP3A4*22, rs35599367, C>T	51
2.2.7.3. POR*28 Polimorfizmi rs1057868; C>T	52
2.2.8. İstatistiksel Analiz	53
3. BULGULAR	55
3.1. Çalışmaya Katılan Hastalara Ait Demografik ve Klinik Veriler	55
3.2. CYP3A5 Geni, rs776746, CYP3A5*3 Polimorfizmine Ait Bulgular	57
3.2.1. PZR ve RPUP Ürünlerinin Tespit Edilmesine İlişkin Bulgular	57
3.2.1.1. CYP3A5 Geni, rs776746, PZR Ürünlerinin Tespit Edilmesi	57
3.2.1.2. CYP3A5 Geni, rs776746, RPUP Ürünlerinin Tespit Edilmesi	57

3.2.2. <i>CYP3A5</i> Geni, Genotip-Alel Frekansları ve Hardy-Weinberg Dengesi Sonuçları	58
3.2.3. <i>CYP3A5</i> Geni rs776746, Genotip Sonuçları ve Hastaların Kullandıkları TKR Dozlarının İlişkisi	59
3.2.4. <i>CYP3A5</i> Geni rs776746, Genotip Sonuçları ve Hastaların Kullandıkları Kilo-Ayarlı TKR Dozlarının İlişkisi	62
3.2.5. <i>CYP3A5</i> Geni rs776746, Genotip Sonuçları ve Kan TKR Düzeylerinin İlişkisi	65
3.2.6. <i>CYP3A5</i> Geni rs776746, Genotip Sonuçları, Kilo- ve Doz- Ayarlı Kan TKR Düzeylerinin İlişkisi	68
3.3. <i>CYP3A4</i> Geni, rs35599367, <i>CYP3A4</i> *22 Polimorfizmine Ait Bulgular	71
3.3.1. <i>CYP3A4</i> Geni, rs35599367, PZR ve RPUP Ürünlerinin Tespit Edilmesi	71
3.3.1.1. <i>CYP3A4</i> Geni, PZR Ürünlerinin Tespit Edilmesi	71
3.3.1.2. <i>CYP3A4</i> Geni, RPUP Ürünlerinin Tespit Edilmesi	72
3.3.2. <i>CYP3A4</i> Geni, Genotip-Alel Frekansları ve Hardy-Weinberg Dengesi Sonuçları	72
3.3.3. <i>CYP3A4</i> Geni rs35599367, Genotip Sonuçları ve Hastaların Kullandıkları Günlük TKR Dozlarının İlişkisi	73
3.3.4. <i>CYP3A4</i> Geni rs35599367, Genotip Sonuçları ve Kilo-Ayarlı TKR Dozlarının İlişkisi	76
3.3.5. <i>CYP3A4</i> Geni rs35599367, Genotip Sonuçları ve Kan TKR Düzeylerinin İlişkisi	79
3.3.6. <i>CYP3A4</i> Geni rs35599367, Genotip Sonuçları, Kilo- ve Doz-Ayarlı Kan TKR Düzeylerinin İlişkisi	82
3.4. Sitokrom P450 Oksidoredüktaz (POR) Geni, rs1057868, <i>POR</i> *28 Polimorfizmine Ait Bulgular	85
3.4.1. <i>POR</i> Geni, rs1057868, PZR ve RPUP Ürünlerinin Tespit Edilmesi	85
3.3.1.1. <i>POR</i> Geni, rs1057868, PZR Ürünlerinin Tespit Edilmesi	85
3.3.1.2. <i>POR</i> Geni, rs1057868, RPUP Ürünlerinin Tespit Edilmesi	86
3.4.2. <i>POR</i> Geni, rs1057868, Genotip-Alel Frekansları ve Hardy-Weinberg Dengesi Sonuçları	87

3.4.3. <i>POR</i> Geni, rs1057868, Genotip Sonuçları ve Hastaların Kullandıkları Günlük TKR Dozlarının İlişkisi	88
3.4.4. <i>POR</i> Geni rs1057868, Genotip Sonuçları ve Kilo-Ayarlı TKR Dozlarının İlişkisi	91
3.4.5. <i>POR</i> Geni rs1057868, Genotip Sonuçları ve Kan TKR Düzeylerinin İlişkisi	94
3.4.6. <i>POR</i> Geni rs1057868, Genotip Sonuçları, Kilo- ve doz-ayarlı Kan TKR Düzeylerinin İlişkisi	97
3.5. <i>CYP3A5</i> Geni, rs776746, <i>CYP3A4</i> Geni rs35599367 ve <i>POR</i> Geni, rs1057868 Genotip Dağılımı Kombinasyon Analizlerine Ait Bulgular	100
3.5.1. <i>CYP3A5</i> Geni, rs776746, <i>CYP3A4</i> Geni rs35599367 ve <i>POR</i> Geni, rs1057868 Kombinasyon Genotip Sonuçları ve Hastaların Kullandıkları Günlük TKR Dozlarının İlişkisi	101
3.5.2. <i>CYP3A5</i> Geni, rs776746, <i>CYP3A4</i> Geni rs35599367 ve <i>POR</i> Geni, rs1057868 Kombinasyon Genotip Sonuçları ve Hastaların Kan TKR Düzeylerinin İlişkisi	102
3.5.3. <i>CYP3A5</i> Geni, rs776746, <i>CYP3A4</i> Geni rs35599367 ve <i>POR</i> Geni, rs1057868 Kombinasyon Genotip Sonuçları ve Hastaların Kilo- ve Doz-Ayarlı TKR Düzeylerinin İlişkisi	104
3.5.4. <i>CYP3A5</i> Geni, rs776746, <i>CYP3A4</i> Geni rs35599367 ve <i>POR</i> Geni, rs1057868 Kombinasyon Genotip Sonuçları ve Kan TKR Düzeyi Terapötik Aralıkta Kalan/Kalmayan Hastaların Oranlarının İlişkisi	105
3.5.5. <i>CYP3A5</i> Geni, rs776746, <i>CYP3A4</i> Geni rs35599367 ve <i>POR</i> Geni, rs1057868 Kombinasyon Genotip Sonuçları ve Subterapötik Kan TKR Düzeyi ile Akut Rejeksiyon Arasındaki İlişki	109
3.5.6. <i>CYP3A5</i> Geni, rs776746, <i>CYP3A4</i> Geni rs35599367 ve <i>POR</i> Geni, rs1057868 Kombinasyon Genotip Sonuçları ve Supraterapötik Kan TKR Düzeyi ile Gecikmiş Greft Fonksiyonu Arasındaki İlişki	111
4.TARTIŞMA	113
4.1. <i>CYP3A5</i> *3 Polimorfizmine Ait Bulguların Değerlendirilmesi	113
4.1.1 <i>CYP3A5</i> Geni rs776746, Genotip Sonuçları ve Hastaların Kullandıkları TKR Dozlarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi	114

4.1.2. <i>CYP3A5</i> Geni rs776746, Genotip Sonuçları ve Kilo-ayarlı TKR dozlarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi	115
4.1.3. <i>CYP3A5</i> Geni rs776746, Genotip Sonuçları ve Ölçülen Kan TKR Düzeylerine Ait Bulguların Değerlendirilmesi	116
4.1.4. <i>CYP3A5</i> Geni rs776746, Genotip Sonuçları, Kilo- ve Doz-ayarlı Kan TKR Düzeylerine Ait Bulguların Değerlendirilmesi	116
4.2. <i>CYP3A4</i> Geni, rs35599367, <i>CYP3A4</i> *22 Polimorfizmine Ait Bulguların Değerlendirilmesi	118
4.2.1. <i>CYP3A4</i> Geni rs35599367, Genotip Sonuçları ve Hastaların Kullandıkları Günlük TKR Dozlarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi	119
4.2.2. <i>CYP3A4</i> Geni rs35599367, Genotip Sonuçları ve Kilo-Ayarlı TKR dozlarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi	120
4.2.3. <i>CYP3A4</i> Geni rs35599367, Genotip Sonuçları ve Kan TKR Düzeylerine Ait Bulguların Değerlendirilmesi	120
4.2.4. <i>CYP3A4</i> Geni rs35599367, Genotip Sonuçları, Kilo- ve Doz-Ayarlı Kan TKR Düzeylerine Ait Bulguların Değerlendirilmesi	121
4.3. <i>POR</i> Geni, rs1057868, <i>POR</i> *28 Polimorfizmine Ait Bulguların Değerlendirilmesi	122
4.3.1. <i>POR</i> Geni, rs1057868, Genotip Sonuçları ve Hastaların Kullandıkları Günlük TKR Dozlarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi	122
4.3.2. <i>POR</i> Geni rs1057868, Genotip Sonuçları ve Kilo-Ayarlı TKR dozlarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi	124
4.3.3. <i>POR</i> Geni rs1057868, Genotip Sonuçları ve Kan TKR Düzeylerine Ait Bulguların Değerlendirilmesi	124
4.3.4. <i>POR</i> Geni rs1057868, Genotip Sonuçları, Kilo- ve Doz-Ayarlı Kan TKR Düzeylerine Ait Bulguların Değerlendirilmesi	125
4.4. <i>CYP3A5</i> Geni, rs776746, <i>CYP3A4</i> Geni rs35599367 ve <i>POR</i> Geni, rs1057868 Genotip Dağılımı Kombinasyon Analizlerine Ait Bulguların Değerlendirilmesi	126
4.4.1. <i>CYP3A5</i> Geni, rs776746, <i>CYP3A4</i> Geni rs35599367 ve <i>POR</i> Geni, rs1057868 Kombinasyon Genotip Sonuçları ve Hastaların Kullandıkları Günlük TKR Dozlarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi	127

4.4.2. <i>CYP3A5</i> Geni, rs776746, <i>CYP3A4</i> Geni rs35599367 ve <i>POR</i> Geni, rs1057868 Kombinasyon Genotip Sonuçları ve Hastaların Kan TKR Düzeylerine Ait Bulguların Değerlendirilmesi	128
4.4.3. <i>CYP3A5</i> Geni, rs776746, <i>CYP3A4</i> Geni rs35599367 ve <i>POR</i> Geni, rs1057868 Kombinasyon Genotip Sonuçları ve Hastaların Kilo- ve Doz-Ayarlı TKR Düzeylerine Ait Bulguların Değerlendirilmesi	129
4.4.4. <i>CYP3A5</i> Geni, rs776746, <i>CYP3A4</i> Geni rs35599367 ve <i>POR</i> Geni, rs1057868 Kombinasyon Genotip Sonuçları ve Kan TKR Düzeyi Terapötik Aralıkta Kalan/Kalmayan Hastaların Oranlarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi	132
4.4.5. <i>CYP3A5</i> Geni, rs776746, <i>CYP3A4</i> Geni rs35599367 ve <i>POR</i> Geni, rs1057868 Kombinasyon Genotip Sonuçları ve Subterapötik Kan TKR Düzeyi ile Akut Rejeksiyon Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi	133
4.4.6. <i>CYP3A5</i> Geni, rs776746, <i>CYP3A4</i> Geni rs35599367 ve <i>POR</i> Geni, rs1057868 Kombinasyon Genotip Sonuçları ve Supraterapötik Kan TKR Düzeyi ile Gecikmiş Greft Fonksiyonu Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi	134
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	136
ÖZET	141
SUMMARY	142
KAYNAKLAR	143
EKLER	163
EK1-Etik Kurul Onayı	163
EK2-Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu	165
ÖZGEÇMİŞ	167

ÖNSÖZ

“Takrolimus kullanan böbrek nakil hastalarında farmakogenetiğin öneminin araştırılması” başlıklı bu doktora tezi kapsamında takrolimus (TKR) metabolizmasından sorumlu *CYP3A5*, *CYP3A4* ve bu enzimlere elektron transferinden sorumlu *POR* genlerindeki genetik farklılıkların nakil sonrası ilk yıl (10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda), hastaların TKR doz ihtiyaçları ve TKR düzeyleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu tez çalışması neticesinde, *CYP3A5**3, *CYP3A4**22 ve *POR**28 polimorfizmlerinin bireysel ve kombinasyon analizlerinin böbrek nakil hastalarının TKR doz ihtiyacı ve TKR düzey çeşitliliğini açıklamada birer farmakogenetik gösterge olarak kullanılabileceği kanıtlanmıştır.

Doktora eğitimim süresince, çalışmalarım sırasında derin bilgisini ve tecrübesini esirgemeyen, çalışmalarımın her aşamasında değerli yorumlarıyla bana yardımcı olan, tecrübelerinden faydalanma şansı veren, hayata bakış açısı ve bilimsel görüşü ile bana çok şey katan danışman hocam sayın Prof. Dr. Sinan SÜZEN’e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam için gerekli hasta popülasyonuna ulaşmamda ve klinik verileri değerlendirmemde büyük emeği olan Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji bilim dalı öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Kenan Keven’e teşekkürlerimi sunarım.

Doktora çalışmalarım süresince araştırma laboratuvarının her türlü olanaklarından yararlanmamı sağlayan ve lisansüstü eğitimime katkıda bulunan Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı tüm öğretim üyelerine teşekkür ederim.

Deneyisel çalışmalarım sırasında, çekinmeden kapısını çalabildiğim, yardım istediğimde beni hiçbir zaman geri çevirmeyen, her zaman desteğini hissettiğim sayın Doç. Dr. Aylin ÜSTÜNDAĞ’a teşekkür ederim.

Beraber çalışmaktan ve aynı odayı paylaşmaktan büyük mutluluk duyduğum, güzel enerjisi ile beni de saran arkadaşım Uzm. Ecz. Naile Merve GÜVEN'e teşekkür ederim.

Bana olan inancı ile kendime güvenmemi sağlayan, hayatı beraber paylaştığımız için çok şanslı hissettiğim, eşim Dr. Umut Can z'e teşekkür ederim.

Son olarak, hayatımın her aşamasında yanımda olan, beni destekleyen, varlıkları ile güvende hissetmemi sağlayan, biricik aileme sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimim süresince, 2211-A Genel Yurtiçi Doktora Burs programı ile bana destek olan TBTAK-BDEB'e teşekkür ederim.

SİMGELER ve KISALTMALAR

Ala	Alanin
Bç	Baz çifti
CnA	Kalsinörin, A katalitik alt birim
CnB	Kalsinörin, regülatör B alt birimi
CsA	Siklosporin
CYP3A5	Sitokrom P450 3A5
CYP3A4	Sitokrom P450 3A4
dNTP	Deoksiribonükleotit trifosfat
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
FKBP-12	TKR bağlayıcı protein
GA	Güven aralığı
GFR	Glomerüler filtrasyon hızı
HCl	Hidroklorik asit
İL-2	İnterklökin-2
KBY	Kronik böbrek yetmezliği
KDIGO	Böbrek hastalıkları küresel sonuçların iyileştirilmesi
MMF	Mikofenolat mofetil
OO	Olasılıklar Oranı
POR	Sitokrom P450 oksidoredüktaz
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu
RPUP	Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi
Sh	Standart hata
Ss	Standart sapma
TİDİ	Terapötik İlaç Düzeyi İzlemi
TKR	Takrolimus
Val	Valin

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Takrolimusun kimyasal yapısı	4
Şekil 1.2. TKR etki mekanizmasının şematik gösterimi	5
Şekil 1.3. TKR ve alternatif metabolitleri	8
Şekil 2.1. MultiSkanGo ile yapılan DNA saflık ve miktar tayini sırasında alınan ekran görüntüsü	40
Şekil 3.1. Bazı hastalara ait <i>CYP3A5*3</i> polimorfizmi için elde edilen PZR ürünün poliakrilamid jel elektroforez görüntüsü	57
Şekil 3.2. Bazı hastalara ait <i>CYP3A5*3</i> polimorfizmi için elde edilen RPUP ürünlerinin poliakrilamid jel elektroforez görüntüsü	58
Şekil 3.3. <i>CYP3A5*3/*3</i> genotipe sahip hastalar ve <i>CYP3A5*1</i> aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları günlük TKR dozlarının saplı kutu grafiği ile gösterimi	61
Şekil 3.4. <i>CYP3A5*3/*3</i> genotipe sahip hastalar ve <i>CYP3A5*1</i> aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları ortanca TKR dozlarının dağılım grafiği ile gösterimi	62
Şekil 3.5. <i>CYP3A5*3/*3</i> genotipe sahip hastalar ve <i>CYP3A5*1</i> aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kilo ayarlı günlük TKR dozlarının saplı kutu grafiği ile gösterimi	64
Şekil 3.6. <i>CYP3A5*3/*3</i> genotipe sahip hastalar ve <i>CYP3A5*1</i> aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları kilo-ayarlı ortanca TKR dozlarının dağılım grafiği ile gösterimi	65
Şekil 3.7. <i>CYP3A5*3/*3</i> genotipe sahip hastalar ve <i>CYP3A5*1</i> aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda TKR düzeylerinin saplı kutu grafiği ile gösterimi	67
Şekil 3.8. <i>CYP3A5*3/*3</i> genotipe sahip hastalar ve <i>CYP3A5*1</i> aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda TKR düzeylerinin dağılım grafiği ile gösterimi	68

Şekil 3.9. <i>CYP3A5*3/*3</i> genotipe sahip hastalar ve <i>CYP3A5*1</i> aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylardaki kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeylerinin saplı kutu grafiği ile gösterimi	70
Şekil 3.10. <i>CYP3A5*3/*3</i> genotipe sahip hastalar ve <i>CYP3A5*1</i> aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylardaki kilo- ve doz-ayarlı ortanca TKR düzeylerinin dağılım grafiği ile gösterimi	71
Şekil 3.11. Bazı hastalara ait C>T baz değişikliği olan <i>CYP3A4*22</i> polimorfizmini içeren <i>CYP3A4</i> gen bölgesinin çoğaltılması ile elde edilen PZR ürünün poliakrilamid jel elektroforez görüntüsü	71
Şekil 3.12. Bazı hastalara ait <i>CYP3A4*22</i> polimorfizmi için elde edilen RPUP ürünlerinin poliakrilamid jel elektroforez görüntüsü	72
Şekil 3.13. <i>CYP3A4*1/*1</i> genotipe sahip hastalar ve <i>CYP3A4*22</i> aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları günlük TKR dozlarının saplı kutu grafiği ile gösterimi	75
Şekil 3.14. <i>CYP3A4*1/*1</i> genotipe sahip hastalar ve <i>CYP3A4*22</i> aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları ortanca TKR doz değerlerinin dağılım grafiği ile gösterimi	76
Şekil 3.15. <i>CYP3A4*1/*1</i> genotipe sahip hastalar ve <i>CYP3A4*22</i> aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları kilo-ayarlı günlük TKR dozlarının saplı kutu grafiği ile gösterimi	78
Şekil 3.16. <i>CYP3A4*1/*1</i> genotipe sahip hastalar ve <i>CYP3A4*22</i> aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları ortanca kilo-ayarlı TKR doz değerlerinin dağılım grafiği ile gösterimi	79
Şekil 3.17. <i>CYP3A4*1/*1</i> genotipe sahip hastalar ve <i>CYP3A4*22</i> aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda TKR düzeylerinin saplı kutu grafiği ile gösterimi	81
Şekil 3.18. <i>CYP3A4*1/*1</i> genotipe sahip hastalar ve <i>CYP3A4*22</i> aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda ölçülen TKR düzeyi ortanca değerlerinin çizgi grafiği ile gösterimi	82

Şekil 3.19. <i>CYP3A4*1/*1</i> genotipe sahip hastalar ve <i>CYP3A4*22</i> aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kilo-ve doz-ayarlı TKR düzeylerinin saplı kutu grafiği ile gösterimi	84
Şekil 3.20. <i>CYP3A4*1/*1</i> genotipe sahip hastalar ve <i>CYP3A4*22</i> aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylardaki kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeyi ortanca değerlerinin dağılım grafiği ile gösterimi	85
Şekil 3.21. Bazı hastalara ait <i>POR*28</i> polimorfizmi için elde edilen PZR ürünün poliakrilamid jel elektroforez görüntüsü	85
Şekil 3.22. Bazı hastalara ait <i>POR*28</i> polimorfizmi için elde edilen RPUP ürünlerinin poliakrilamid jel elektroforez görüntüsü	86
Şekil 3.23. Bazı hastalara ait <i>POR*28</i> polimorfizmi tam dizi analiz sonuçlarına ait görüntü	87
Şekil 3.24. <i>POR*1/*1</i> , <i>POR*1/*28</i> ve <i>POR*28/*28</i> genotipe sahip hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları günlük TKR dozlarının saplı kutu grafiği ile gösterimi	90
Şekil 3.25. <i>POR*1/*1</i> , <i>POR*1/*28</i> ve <i>POR*28/*28</i> genotipe sahip hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları ortanca TKR doz değerlerinin dağılım grafiği ile gösterimi	91
Şekil 3.26. <i>POR*1/*1</i> , <i>POR*1/*28</i> ve <i>POR*28/*28</i> genotipe sahip hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları kilo ayarlı TKR dozlarının saplı kutu grafiği ile gösterimi	93
Şekil 3.27. <i>POR*1/*1</i> , <i>POR*1/*28</i> ve <i>POR*28/*28</i> genotipe sahip hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları ortanca kilo-ayarlı TKR doz değerlerinin dağılım grafiği ile gösterimi	94
Şekil 3.28. <i>POR*1/*1</i> , <i>POR*1/*28</i> ve <i>POR*28/*28</i> genotipe sahip hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kan TKR düzeylerinin saplı kutu grafiği ile gösterimi	96
Şekil 3.29. <i>POR*1/*1</i> , <i>POR*1/*28</i> ve <i>POR*28/*28</i> genotipe sahip hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda ortanca kan TKR düzeylerinin dağılım grafiği ile gösterimi	97

Şekil 3.30. <i>POR*1/*1, POR*1/*28 ve POR*28/*28</i> genotipe sahip hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeylerinin saplı kutu grafiği ile gösterimi	99
Şekil 3.31. <i>POR*1/*1, POR*1/*28 ve POR*28/*28</i> genotipe sahip hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kilo-ve doz-ayarlı ortanca kan TKR düzeylerinin dağılım grafiği ile gösterimi	100
Şekil 3.32. <i>CYP3A5*3, CYP3A4*22 ve POR*28</i> genotip gruplarının 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları ortanca TKR dozlarının dağılım grafiği ile gösterimi	102
Şekil 3.33. <i>CYP3A5*3, CYP3A4*22 ve POR*28</i> genotip gruplarının 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları ortanca TKR düzeylerinin dağılım grafiği ile gösterimi	103
Şekil 3.34. <i>CYP3A5*3, CYP3A4*22 ve POR*28</i> kombinasyon genotip gruplarının 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylar kilo-ve doz-ayarlı ortanca TKR düzeylerinin dağılım grafiği ile gösterimi	105
Şekil 3.35. <i>CYP3A5*3, CYP3A4*22 ve POR*28</i> kombinasyon genotip gruplarının 10. gün; 1. ay, 3. ay TKR düzeylerinin saplı kutu grafiği ile gösterimi	107

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. TKR'un etkileşim gösterdiği ilaçlar ve etkileşimin kan TKR düzeylerine etkisi	15
Çizelge 1.2. CYP3A5 enzimini kodlayan gendeki değişiklikler, TKR düzeyi ve TKR doz ihtiyacı arasındaki ilişki	24
Çizelge 1.3. CYP3A5 enzimini kodlayan gendeki varyasyonların ilaç metabolizması üzerindeki olası etkileri	25
Çizelge 1.4. CYP3A5*3 alelinin farklı popülasyonlarda dağılımı	26
Çizelge 1.5. Kan TKR düzeyleri ve CYP3A5*3 aleli ilişkisinin incelediği bazı farmakogenetik çalışmalar ve sonuçları	27
Çizelge 1.6. CYP3A4 enzimini kodlayan gendeki varyasyonların ilaç metabolizması üzerindeki olası etkileri	29
Çizelge 1.7. CYP3A4*22 alelinin farklı popülasyonlarda dağılımı	29
Çizelge 1.8. Kan TKR düzeyleri ve CYP3A4*22 aleli ilişkisinin incelediği bazı farmakogenetik çalışmalar ve sonuçları	31
Çizelge 1.9. POR*28 alelinin farklı popülasyonlarda dağılımı	34
Çizelge 2.1. CYP3A5*3, CYP3A4*22 ve POR*28 genetik polimorfizmleri için kullanılan kesim enzimleri ve tanıma bölgeleri	48
Çizelge 2.2. CYP3A5*3 polimorfizmi PZR bileşenleri ve reaksiyonda kullanılan miktarları	50
Çizelge 2.3. CYP3A5*3 polimorfizmi PZR ürünü amplifikasyon sıcaklık, süre ve döngü koşulları	50
Çizelge 2.4. CYP3A5*3 polimorfizmi RPUP reaksiyon bileşenleri ve reaksiyonda kullanılan miktarları	50
Çizelge 2.5. CYP3A4*22 polimorfizmi PZR bileşenleri ve reaksiyonda kullanılan miktarları	51
Çizelge 2.6. CYP3A4*22 polimorfizmi PZR ürünü amplifikasyon sıcaklık, süre ve döngü koşulları	51
Çizelge 2.7. CYP3A4*22 polimorfizmi RPUP reaksiyon bileşenleri ve reaksiyonda kullanılan miktarları	51

Çizelge 2.8. <i>POR*28</i> polimorfizmi PZR bileşenleri ve reaksiyonda kullanılan miktarları	52
Çizelge 2.9. <i>POR*28</i> polimorfizmi PZR ürünü amplifikasyon sıcaklık, süre ve döngü koşulları	52
Çizelge 2.10. <i>POR*28</i> polimorfizmi RPUP reaksiyon bileşenleri ve reaksiyonda kullanılan miktarları	52
Çizelge 2.11. <i>CYP3A5*3</i> , <i>CYP3A4*22</i> ve <i>POR*28</i> genetik polimorfizmleri ve referans TNP numaraları ve bulundukları konumlar	53
Çizelge 2.12. <i>CYP3A5*3</i> , <i>CYP3A4*22</i> ve <i>POR*28</i> genetik polimorfizmleri için kullanılan kesim enzimleri, oluşan kesim ürünleri ve değişim gösteren aleller	53
Çizelge 3.1. Çalışmaya katılan hastalara ait, demografik ve klinik veriler	56
Çizelge 3.2. <i>CYP3A5*3</i> genetik polimorfizmi genotip ve alel frekansı, Hardy-Weinberg dengesi testi sonuçları	59
Çizelge 3.3. <i>CYP3A5*3</i> genetik polimorfizmi ve hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları günlük TKR dozlarının ilişkisi	60
Çizelge 3.4. <i>CYP3A5*3</i> genetik polimorfizmi ve hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylardaki kilo-ayarlı günlük TKR dozlarının ilişkisi	63
Çizelge 3.5. <i>CYP3A5*3</i> genetik polimorfizmi ve hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylardaki TKR düzeylerinin ilişkisi	66
Çizelge 3.6. <i>CYP3A5*3</i> genetik polimorfizmi ve hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylardaki kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeylerinin ilişkisi	69
Çizelge 3.7. <i>CYP3A4*22</i> genetik polimorfizmi genotip ve alel frekans, Hardy-weinberg dengesi testi sonuçları	73
Çizelge 3.8. <i>CYP3A4*22</i> genetik polimorfizmi ve hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylardaki kullandıkları günlük TKR dozlarının ilişkisi	74
Çizelge 3.9. <i>CYP3A4*22</i> genetik polimorfizmi ve hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylardaki kilo-ayarlı günlük TKR dozlarının ilişkisi	77
Çizelge 3.10. <i>CYP3A4*22</i> genetik polimorfizmi ve hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylardaki ölçülen TKR düzeylerinin ilişkisi	80
Çizelge 3.11. <i>CYP3A4*22</i> genetik polimorfizmi ve hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylardaki kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeylerinin ilişkisi	83

Çizelge 3.12. <i>POR*28</i> genetik polimorfizmi genotip ve alel frekans, Hardy-Weinberg dengesi testi sonuçları	88
Çizelge 3.13. <i>POR*28</i> genetik polimorfizmi ve hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylardaki kullandıkları günlük TKR dozlarının ilişkisi	89
Çizelge 3.14. <i>POR*28</i> genetik polimorfizmi ve hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylardaki kullandıkları kilo-ayarlı TKR dozlarının ilişkisi	92
Çizelge 3.15. <i>POR*28</i> genetik polimorfizmi ve nakil sonrası 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kan TKR düzeylerinin ilişkisi	95
Çizelge 3.16. <i>POR*28</i> genetik polimorfizmi ve nakil sonrası 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylardaki kilo- ve doz-ayarlı kan TKR düzeylerinin ilişkisi	98
Çizelge 3.17. <i>CYP3A5*3</i> , <i>CYP3A4*22</i> ve <i>POR*28</i> genotip kombinasyon sınıflandırılması	100
Çizelge 3.18. <i>CYP3A5*3</i> , <i>POR*28</i> , <i>CYP3A4*22</i> genetik polimorfizmi ve hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları günlük TKR dozlarının ilişkisi	101
Çizelge 3.19. <i>CYP3A5*3</i> , <i>POR*28</i> , <i>CYP3A4*22</i> genetik polimorfizmi ve hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda TKR düzeylerinin ilişkisi	103
Çizelge 3.20. <i>CYP3A5*3</i> , <i>POR*28</i> , <i>CYP3A4*22</i> genetik polimorfizmi ve hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kilo ve doz ayarlı TKR düzeylerinin ilişkisi	104
Çizelge 3.21. <i>CYP3A5*3</i> , <i>POR*28</i> , <i>CYP3A4*22</i> kombinasyon genotip grupları ve hastaların 10. gün TKR düzeylerinin terapötik aralıkta kalma oranlarının ilişkisi	106
Çizelge 3.22. <i>CYP3A5*3</i> , <i>POR*28</i> , <i>CYP3A4*22</i> kombinasyon genotip grupları ve hastaların 1. ay TKR düzeylerinin terapötik aralıkta kalma oranlarının ilişkisi	106
Çizelge 3.23. <i>CYP3A5*3</i> , <i>POR*28</i> , <i>CYP3A4*22</i> kombinasyon genotip grupları ve hastaların 3. ay TKR düzeylerinin terapötik aralıkta kalma oranlarının ilişkisi	106

Çizelge 3.24. <i>CYP3A5*3, POR*28, CYP3A4*22</i> kombinasyon genotip grupları ve hastaların nakil sonrası 10. gün supratherapötik düzeylerde TKR’a maruz kalma durumlarının ilişkisi	108
Çizelge 3.25. <i>CYP3A5*3, POR*28, CYP3A4*22</i> kombinasyon genotip grupları ve hastaların nakil sonrası 1. ay supratherapötik düzeylerde TKR’a maruz kalma durumlarının ilişkisi	108
Çizelge 3.26. <i>CYP3A5*3, POR*28, CYP3A4*22</i> kombinasyon genotip grupları ve hastaların nakil sonrası 10. gün subtherapötik düzeylerde TKR’a maruz kalma durumlarının ilişkisi	109
Çizelge 3.27. <i>CYP3A5*3, POR*28, CYP3A4*22</i> kombinasyon genotip grupları ve hastaların nakil sonrası 1. ay subtherapötik düzeylerde TKR’a maruz kalma durumlarının ilişkisi	109
Çizelge 3.28. Subtherapötik TKR düzeylerine maruz kalan hastalar ile akut rejeksiyon arasındaki ilişki	110
Çizelge 3.29. Subtherapötik TKR düzeylerine maruz kalan hastalar ile akut rejeksiyon tecrübe etmeleri arasındaki ilişki	110
Çizelge 3.30. Supratherapötik TKR düzeylerine maruz kalan hastalar ile gecikmiş greft fonksiyonu arasındaki ilişki	111
Çizelge 3.31. Supratherapötik TKR düzeylerine maruz kalan hastalar ile gecikmiş greft fonksiyonu tecrübe etmeleri arasındaki ilişki	112

1.GİRİŞ

1.1. Kronik Böbrek Yetmezliği ve Böbrek Nakli

Kronik böbrek yetmezliği (KBY), ilerleyici bir böbrek rahatsızlığına bağlı olarak geri-dönüşsüz nefron kaybı ile seyreden böbreğin metabolik ve endokrin fonksiyonlarını yerine getirememesi ile karakterize bir tablodur (Isakova ve ark., 2017; Kidney Disease: Improving Global Outcomes, 2009). KBY, ölçülen glomerüler filtrasyon hızı ve böbrek fonksiyonlarına göre *The National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiative* (Ulusal Böbrek Vakfı Böbrek Hastalığı Çıktıları Kalite Girişimi) ve KDIGO (*Kidney Disease: Improving Global Outcomes*, Böbrek hastalıkları küresel sonuçların iyileştirilmesi) kılavuzlarına göre evrelendirilmektedir. Son dönem böbrek yetmezliği, böbrek fonksiyonlarının geri-dönüşsüz kaybı ile karakterize edilen beşinci evreyi ifade etmektedir (Levey, 2012; National Kidney, 2002). Son dönem böbrek yetmezliğinde, hastaya renal replasman tedavi seçeneklerinden birinin (hemodiyaliz, periton diyalizi veya böbrek nakli) uygulanması gerekmektedir (Fleming, 2011).

1950'lerin ortasında gerçekleştirilen ilk başarılı böbrek naklini takiben bu alanda yapılan çalışmalar artmış ve son dönem böbrek yetmezliği tedavisi için (diyalizden daha) etkili ve yeni bir cerrahi tedavi yöntemi bulunmuştur (Hariharan ve ark., 2000). Her yıl dünya çapında yaklaşık 100,000 organ nakil operasyonu gerçekleştirilmekte ve bu sayı yıldan yıla hızla artmaktadır (Delmonico ve ark., 2011). Ülkemizde de yapılan nakil sayısı, hızla artış göstermektedir. Sağlık bakanlığının güncel verilerine göre 2018 yılında Türkiye'de 3,874 böbrek nakli gerçekleştirilmiştir (T.C. Sağlık Bakanlığı, 2019). Böbrek nakli, hayatı tehdit eden ilerlemiş (son) dönem böbrek yetmezliğinde hastaların yaşam sürelerini uzatan ve yaşam kalitesini belirgin bir şekilde artıran en etkili yöntemdir (Callaghan ve Bradley, 2006). Transplantasyonun başarısını etkileyen önemli faktörlerden biri, operasyon sonrasında organ reddini önleyen immunosüpresif tedavidir (Halloran, 2004). Çalışmalarda, son 20 yılda yeni geliştirilen ajanlar sayesinde immunosüpresif tedavi ile organ reddi oranlarının

azaldığı, doku ve organ sağ kalım sürelerinin uzadığı gösterilmiştir. Günümüzde immunosüpresif tedavide kalsinörin inhibitörleri, antimetabolitler, antiproliferatif ilaçlar ve kortikosteroidler gibi farklı ajanlar kullanılmakla birlikte, klinikte en sık reçete edilenler, rejeksiyon oranlarını anlamlı bir şekilde düşüren, takrolimus (TKR) ve siklosporinin gibi kalsinörin inhibitörleridir (Halloran, 2004; Su ve ark., 2012).

1.3. Böbrek Nakli Sonrasında Kullanılan İmmunosüpresif Tedavi Seçenekleri

Nakil sonrası dönemde organ reddini önlemek üzere kullanılan çeşitli ajanlar mevcuttur. Bu ajanların tek başına kullanımları, tek ajanın yüksek dozda kullanımı nedeniyle advers etkilerde artışa yol açmakta ve hasta uyuncunu düşürmektedir. Bunun yerine rutin olarak kliniklerde farklı ilaç grupları bir arada kullanılmakta böylece sinerjistik etki ile daha etkin bir immunosüpresyon sağlanması yanında doz azaltılması ile de olası advers etkilerin önüne geçilebilmektedir (Ekberg ve ark., 2009; Metalidis ve Kuypers, 2011). Nakil sonrası dönemde güncel olarak kliniklerde KDIGO kılavuzunda da önerilen bir steroid, bir antiproliferatif, bir kalsinörin inhibitörünün yer aldığı idame immunosüpresif tedavi şeması uygulanmaktadır (Leichtman, 2007; Lessan Pezeshki, 2004).

1.3.1. Kalsinörin İnhibitörleri

Siklosporin-A ve TKR, organ nakli sonrasında modern immunosüpresif tedavinin temel taşlarıdır (Malvezzi ve Rostaing, 2015). Kalsinörin inhibitörleri, immunofilin olarak adlandırılan, intraselüler proteinlere bağlanarak fonksiyonlarını gösterirler (Azzi ve ark., 2013). İmmunofilinler sonrasında, intraselüler bir diğer molekül olan, kalsinörüne bağlanarak onun aktivitesini inhibe etmektedirler. Buna bağlı olarak, immun yanıtı sorumlu T hücre aktivasyonunu inhibe etmektedirler (Bram ve ark., 1993).

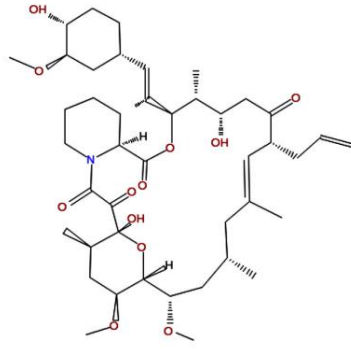
Kalsinörin, iki alt birimden oluşmaktadır: A katalitik alt birim, (CnA), kalsinörin fosfataz aktivitesinden sorumludur. Regülatör B alt birimi (CnB) ise, intraselüler kalsiyumdan ve CnA'nın aktivasyonundan sorumludur (Hurwitz ve ark., 1988).

T hücre reseptörü aracılığı ile T hücrelerinin aktivasyonu, intraselüler kalsiyum konsantrasyonunu artırmakta ve kalsinörin CnB altbirimini aktive etmektedir. Buna bağlı olarak, kalsinörin CnA alt birimi fosfataz aktivitesi kazanmaktadır. Aktive CnA, bir transkripsiyon faktörü olan, sitoplazmik aktive T hücrelerin nükleer faktörünü (NFAT) defosforile etmektedir. Aktive kalsinörin ile birlikte NFAT'ın nükleusa translokasyonu gerçekleşmektedir. Bunları takiben, IL-2 üretimi ve T lenfositlerin büyüme ve farklılaşması gerçekleşmektedir (Malvezzi ve Rostaing, 2015). TKR ve TKR bağlayıcı protein (FKBP-12) kompleksi, doğrudan kalsinörin CnA altbirimine bağlanarak, fosfataz aktivitesini inhibe etmektedir (Azzi ve ark., 2013).

1.4. Takrolimus

Takrolimus (FK506), *Streptomyces tsukubaensis*'den elde edilmiş immunsupresif özellikleri olan, molekül ağırlığı 822 kDa olan makrolid türevi bir antibiyotiktir ($C_{44}H_{69}NO_{12}$) (Şekil 1.1.) (J. Liu ve ark., 1991; Tanaka ve ark., 1987). TKR ilk defa 1987'de izole edilmiş ve 1994'te Amerika Gıda ve İlaç Kurumu tarafından karaciğer nakli sonrasında kullanımı için onaylanmıştır (Christians ve ark., 2002). Etkililiğinin ve yan etki profilinin diğer immunosüpresif ajanlardan daha iyi olması nedeniyle, böbrek, akciğer, kalp gibi tüm transplantasyon operasyonları sonrası ilk tercih edilen ajan olmuştur (M. Yu ve ark., 2018).

TKR'un aktivitesi CsA ile benzemesine rağmen, daha düşük dozlarda, akut rejeksiyon sıklığını daha fazla azaltmaktadır (Grimm ve ark., 2006). Yapılan *in vivo* ve *in vitro* immunosüpresyon modellerinde TKR'un, CsA'den 10-100 kat daha etkili olduğu tespit edilmiştir (Sawada ve ark., 1987).

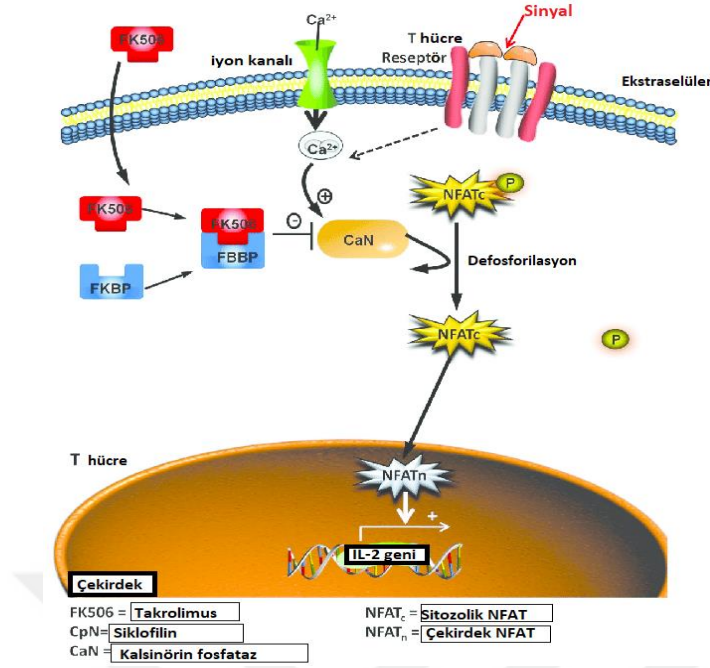


Şekil 1.1. Takrolimusun kimyasal yapısı (Knops ve ark., 2013).

1.4.1. Etki Mekanizması

Yüksek derecede lipofilik bir molekül olan TKR, etkisini hücre içinde bulunan TKR bağlayıcı proteine (FKBP-12) bağlanarak göstermektedir. FKBP-12 ve TKR'un bağlanması ile oluşan kompleks, kalsiyum/kalmoduline bağlı bir fosfataz olan kalsinörine bağlanmaktadır (Ban ve ark., 2016; Thomson ve ark., 1995).

TKR ve FKBP-12 kompleksi, kalsinörin fosfataz ve dolaylı olarak interlökin-2 (IL-2) ekspresyonu üzerinde doz-bağımlı güçlü bir inhibitör etki göstermektedir (Provenzani ve ark., 2013). Bu bağlanma ile birlikte; TKR, kalsinörin aktivitesini inhibe etmektedir. Böylece aktive T hücrelerin nükleer faktörünü (NFAT)'ın nükleusa translokasyonu ve IL-2, IL-3, IL-4, tümör nekroz-faktörü-alfa gibi sitokin genlerinin transkripsiyonel aktivitesi düşmekte ve sonuç olarak T lenfosit proliferasyonu azalmaktadır (Mochizuki ve ark., 1993; Schreiber ve Crabtree, 1992; Wiederrecht ve ark., 1993). TKR etki mekanizması Şekil 1.2.'de sunulmuştur.



Şekil 1.2. TKR etki mekanizmasının şematik gösterimi (Bennett ve ark., 2016).

1.4.2. Terapötik Endikasyonları ve Uygulama Şekli

TKR, karaciğer, böbrek ve kalp nakli uygulanan hastalar organ reddini önlemek amacıyla kullanılmaktadır.

Böbrek naklinde doz şeması:

TKR'un, böbrek nakil hastalarında başlangıç dozu 0,2-0,3 mg/kg/gün'dür. Bu doz 12 saat ara ile ikiye bölünerek uygulanmaktadır (Staatz ve Tett, 2004). Uygulama, cerrahi müdahaleden sonraki yaklaşık 24 saat içerisinde başlamaktadır. (Laskow ve ark., 1998). Böbrek nakil operasyonu geçirmiş çocuklarda ise başlangıç dozu 0,3mg/kg/gün olarak, ikiye bölünmüş doz şeklinde uygulanmaktadır. Nakil sonrası ilerleyen dönemlerde ise hedeflenen kan ilaç düzeyine ve hastanın klinik seyrine göre doz titrasyonu yapılmaktadır (Storset ve ark., 2015).

Kalp naklinde doz şeması:

TKR, kalp nakil operasyonu sonrasında 0,075 mg/kg/gün dozda antikör indüksiyonu ile başlamaktadır. Pediyatrik kalp nakil hastalarında bu başlangıç dozu 0,03-0,05 mg/kg/gün şeklinde 15-25 ng/ml tam kan TKR konsantrasyonuna ulaşacak şekilde uygulanmaktadır (Thervet ve ark., 2010).

Karaciğer naklinde doz şeması:

Karaciğer nakil operasyonu geçiren yetişkinlerde TKR başlangıç dozu 0,10-0,20 mg/kg iken pediyatrik hastalarda bu doz 0,30 mg/kg/gün olacak şekilde ayarlanmaktadır. Bu doz 12 saat ara ile ikiye bölünerek uygulanmaktadır (Kuypers, 2010).

1.4.3. Farmakokinetik Özellikleri

1.4.3.1. Emilim

TKR, oral alımı takiben sindirim sisteminde hızla absorbe olmakta, kandaki doruk plazma konsantrasyonuna yaklaşık 1-3 saatte ulaşmaktadır (Durham, 1990). Araştırmalarda, TKR'un barsaklardan hızlıca absorbe edilmesine rağmen oral biyoyararlanımının %20-25 aralığında olduğu tespit edilmiştir (Iwasaki, 2007). TKR'un emilim hızı ve derecesi açken en fazladır. Yiyeceklerle birlikte alımı, TKR'un emilimin hızını ve miktarını azaltmaktadır (Bekersky ve Dressler ve ark., 2001).

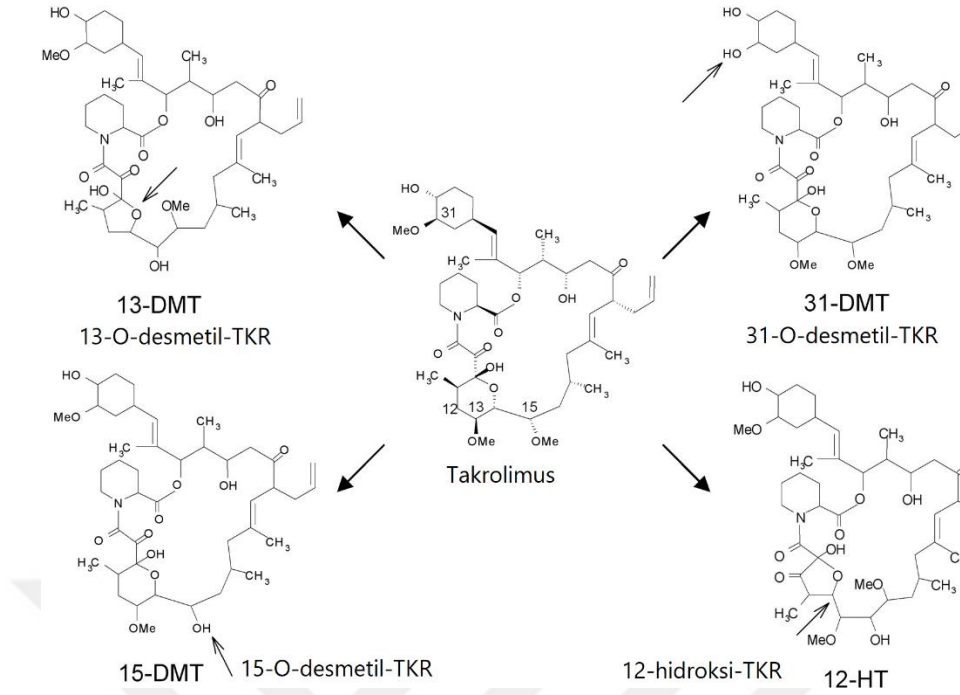
1.4.3.2. Dağılımı

TKR temel olarak alfa-1-asit glikoproteine ve daha az miktarda da serum albuminine, yüksek oranda (yaklaşık %99) bağlanmaktadır (Nagase ve ark., 1994). Plazmadaki TKR'un %99'u bağlanmış durumda bulunmaktadır, sistemik dolaşımda TKR'un eritrositlere güçlü olarak bağlanması, tam kan konsantrasyonu/plazma konsantrasyonu dağılım oranının yaklaşık 20:1 olması ile sonuçlanmaktadır, bu nedenle Terapötik İlaç Düzeyi İzlemi (TİDİ)'nde tam kan TKR konsantrasyonu

ölçülmektedir (Tang ve ark., 2016). Sistemik dolaşıma giren TKR'un, eritrositlere bağlanmayan kısmı ise lenfositlere girerek immunosüpresif etkisini göstermektedir (Kapturczak ve ark., 2004). TKR'un yarılanma ömrü uzun ve değişkendir. Sağlıklı gönüllülerde tam kandaki ortalama yarılanma ömrü yaklaşık 43 saat iken bu değer böbrek transplantasyonlu erişkin hastalardaki ortalama 15,6 saattir (Wallemacq ve Verbeeck, 2001).

1.4.3.3. Metabolizması

TKR temel olarak, karaciğerde sitokrom P450 (CYP450), enzim sistemi tarafından metabolize edilmektedir (Iwasaki, 2007). Sitokrom P450 3A4 ve 3A5 TKR metabolizmasında görev alan primer enzimlerdir (Dai ve ark., 2006; de Jonge ve ark., 2012). TKR'un temel metabolik yolları; hidroksilasyon, demetilasyon ve oksidasyondur. Yapılan *in-vitro* çalışmalar CYP3A5 katalik aktivitesinin CYP3A4'e göre 1,6 kat daha yüksek olduğunu göstermiştir (Kamdem ve ark., 2005). CYP3A enzimleri, TKR'un O-demetilasyonunu başlatır, makrolid halkasını destabilize ederek, ikincil ve üçüncül metabolitlerin oluşmasını sağlamaktadırlar. Bugüne kadar TKR'un tespit edilen 15 metaboliti bulunmaktadır (Iwasaki, 2007). 13-O-Desmetil TKR, TKR'un başlıca metabolitidir (Staatz ve Tett, 2004). TKR'un bu majör metabolitinin oluşmasında CYP3A4 ve 3A5 enzimleri eşit rol almaktadır. Ancak bu metabolitin ikincil metabolitlerinin metabolizmasında CYP3A4'ün rolü CYP 3A5 enziminden daha fazladır (Iwasaki, 2007). 13-O-Desmetil-TKR metaboliti, TKR'un onda biri kadar immunosüpresif aktiviteye sahipken, minör bir metabolit olan 31-O-Desmetil-TKR'un immunsupressif etkisinin TKR ile benzer olduğu tespit edilmiştir (Iwasaki ve ark., 1995; Iwasaki, Shiraga ve ark., 1993). Şekil 1.3.'te TKR ve metabolitleri sunulmuştur.



Şekil 1.3. TKR ve alternatif metabolitleri (Dai ve ark., 2006).

1.4.3.4. Eliminasyonu

Takrolimusun %1'inden daha düşük bir oranı idrarla ve feçesle değişme uğramadan atılır bu durum TKR'un eliminasyon öncesi neredeyse tamamen metabolize olduğuna işaret etmektedir. TKR'un metabolitlerinin yaklaşık %95'i safra yolu ile uzaklaştırılmaktadır (Moller ve ark., 1999).

CYP3A4 ve CYP3A5 enzimlerinin yanı sıra P-glikoprotein de farklı TKR düzeylerinin tecrübe edilmesinde rol olmaktadır (Hebert, 1997). P-glikoproteinler, ince barsak enterositlerinin viluslarında yüksek oranda bulunmaktadır ve absorbe edilmiş TKR'u intestinal lümene pompalayarak, intraselüler ilaç konsantrasyonunu düşürmektedirler (Wacher ve ark., 1998). P-glikoprotein fonksiyonu, kendi aktivitesini inhibe eden ya da indükleyen ajanlarla birlikte kullanıldığında değişmektedir (Yigitaslan ve ark., 2016). Yapılan araştırmalarda, ince barsaklardaki

P-glikoprotein ekspresyonunun, bireyler arası 2 ile 8 kat arası farklılık gösterdiği tespit edilmiştir (Lown ve ark., 1997).

1.4.4. Farmakodinamik Özellikleri

TKR'un, immunosüpresif etkisini hücre içinde bulunan FKBP-12 proteinine bağlanarak gösterdiği bilinmektedir. Oluşan kompleks, spesifik olarak kalsinörine bağlanarak inhibe etmekte ve T-hücre sinyal iletim yollarında inhibisyona neden olmaktadır. Buna bağlı olarak da lenfokin genlerin transkripsiyonunu engellenmektedir (Noceti ve ark., 2014). TKR etkisini yalnızca immun hücreler üzerinde, kalsinörin inhibisyonu şeklinde göstermemektedir, bu durum da immunosüpresif etki yanında çeşitli istenmeyen etkilere neden olmaktadır. Bu yan etkiler arasında, nefrotoksisite, nörotoksisite, diabetes mellitus, gastrointestinal rahatsızlıklar, hipertansiyon, artmış enfeksiyon riski ve maligniteler yer almaktadır (Issa ve ark., 2013; E. H. Liu ve ark., 2007; Rakel ve Karelis, 2011).

1.4.5. İstenmeyen Etkiler

TKR kullanımına bağlı olarak ortaya çıkan yan etkiler genellikle, operasyon sonrasındaki birkaç ay içinde ortaya çıkmaktadır. Bu etkilerin, çoğu geri dönüşlüdür, zamanla doza bağlı olarak azalmaktadır. TKR'un yüksek dozlarda kullanımına bağlı olarak ortaya çıkan yan etkiler arasında: enfeksiyon, nefrotoksisite, nörotoksisite, diyabet, hipertansiyon, gastrointestinal rahatsızlıklar sayılabilir (Mor ve ark., 1997; Plosker ve Foster, 2000; Staatz ve Tett, 2004; M. Yu ve ark., 2018).

1.4.5.1. Enfeksiyon ve Neoplazmalar

Diğer immunosüpresif ajanlarda olduğu gibi, TKR kullanan hastalar enfeksiyon ve malignite riski altındadır. Transplantasyonu takiben, ilk bir yıl içinde hastaların yaklaşık %75'i bir ya da birden fazla enfeksiyon geçirmektedir (Mayer, 1999; Singh ve ark., 2016). İmmünosupresif tedavi alan hastalarda malignite riskinin arttığı,

lenfoproliferatif bozuklukların da bulunduğu kötü huylu ve iyi huylu neoplazmların gözlendiği tespit edilmiştir (Cowlrick ve ark., 2008; Mayer ve ark., 1997).

1.4.5.2. Nefrotoksisite

Nefrotoksisite, TKR kullanan hastaların neredeyse yarısında ortaya çıkan ve tedaviyi kısıtlayan istenmeyen bir etkidir (de Mattos ve ark., 2000). Ancak bu etkiyi sadece TKR kullanımına bağlamak doğru değildir. İmmunosüpresif olarak kullanılan, nefrotoksik etkisi olan diğer ilaçlar ve/veya önceden var olan (diyabet gibi) veya devam eden böbrek hastalıkları da bu istenmeyen etkinin ortaya çıkmasına neden olabilmektedir (Naesens ve ark., 2009).

1.4.5.3. Nörotoksisite

Titreme, baş ağrısı, uykusuzluk TKR kullanımı ile ortaya çıkan minör nörolojik istenmeyen etkiler arasında bulunmaktadır. Yapılan klinik çalışmalarda, tremorun 35-56% sıklıkta, baş ağrısının %20-64 sıklıkta, uykusuzluğun ise %24-32 sıklıkta görüldüğü tespit edilmiştir (Bechstein, 2000; Naesens ve ark., 2009). Nöbetler, bilinç bozukluğu, koma gibi ciddi nörotoksik etkiler ise daha az sıklıkta görülmektedir ve yüksek TKR kan konsantrasyonları ile ilişkilendirilmiştir (Mor ve ark., 1997).

1.4.5.4. Metabolik Etkiler ve Diabetes Mellitus

Nakil sonrası gelişen diabetes mellitus (DM), TKR'un en önemli yan etkilerindendir. DM, greft ve hasta sağkalımını azaltırken, kardiyovasküler hastalıklar ve mortalite riskini artırmaktadır (Palepu ve Prasad, 2015). Ayrıca, TKR ile birlikte kullanılan steroidlerin de periferik insülin rezistansını artırmaları ve glukoz metabolizmasını değiştirmeleri nedeniyle bu istenmeyen etkiye zemin hazırladıkları düşünülmektedir (Dong ve ark., 2012; van Raalte ve ark., 2009). Nakil sonrası DM prevalansı, risk faktörleri ile değişkenlik göstermekle birlikte, ilaca ait kısa ürün bilgisinde görülme sıklığı çok yaygın ($\geq 1/10$) olarak belirtilmektedir (Balla ve Chobanian, 2009; Prokai ve ark., 2012). Nakil sonrası DM'in, patofizyolojisinde

insülin yetersizliği, insülin direnci ve/veya yetersiz insulin salımı mekanizmalarının yer aldığı bir çeşit Tip 2 DM formu olduğu düşünülmektedir (van Hooff ve ark., 2004).

1.4.5.5. Hipertansiyon

Hipertansiyon, greft ve hasta sağkalımını etkileyen; TKR kullanan karaciğer ve böbrek nakil hastalarının neredeyse %50'sinde ortaya çıkan istenmeyen bir etkidir (Hartmann ve Midtvedt, 2002). Bu durumun, yetersiz vazodilatasyon, renal hasar, artmış vazomotor tonus, sodyum tutulumu gibi mekanizmalar ile olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, kombine olarak tedavide kullanılan steroidlerin, su tutulumunu artırmasının da hipertansiyon için risk faktörü olduğu bilinmektedir (Didion, 2011). Hastanın vücut kitle indeksinin yüksek olması, vericinin hipertansif olması, nakil öncesinde kardiyovasküler hastalığı olması da hipertansiyon ortaya çıkmasını tetiklemektedir (Hartmann ve Midtvedt, 2002; Hoorn ve ark., 2012).

1.4.5.6. Gastrointestinal Rahatsızlıklar

Diyare, bulantı, konstipasyon TKR kullanan nakil hastalarının sıklıkla tecrübe ettiği yan etkiler arasındadır. Bunlardan diyare ve bulantı çok yaygın görülmektedir (Staatz ve ark., 2004; Staatz ve Tett, 2004).

1.4.5.7. Diğer Yan Etkiler

Nefrotoksisiteye bağlı ortaya çıkan, düşük veya normal renin aldosteron konsantrasyonlarının eşlik ettiği hiperkalemi TKR kullanımı sırasında sıklıkla karşılaşılan yan etkilerdendir (Didion, 2011). Doz ayarlaması ile her zaman düzelmeyebilir ve düşük kan TKR düzeylerinde de görülebilir. Hipomagnezemi yaygın olarak görülebilir ve renal magnezyum koruma mekanizmalarında bozulmaya bağlı olarak geliştiği düşünülmektedir (Staatz ve Tett, 2004).

1.4.6. İlaç Etkileşimleri

Metabolik etkileşimler

TKR, sistemik olarak CYP3A enzimleri tarafından metabolize edilmektedir. CYP3A izoenzimleri, birçok ilacın ve ksenobiyotiğin metabolizmasında yer alan majör Faz I metabolizma enzimlerindendir (Christians ve ark., 2002). Bu nedenle, CYP3A4 ve CYP3A5 enzimlerini inhibe ettiği veya indüklediği bilinen tıbbi ürünler veya bitkisel ilaçlar, TKR'un metabolizmasını etkileyebilir ve dolayısıyla takrolimus kan seviyelerini artırabilir veya azaltabilirler. Çalışmamız tasarlanırken bu durum göz önünde bulundurularak, TKR ile etkileşim gösteren ilaç kullanan hastalar çalışmaya dâhil edilmemiştir.

1.4.6.1. Metabolizma İnhibisyonu

TKR metabolizmasının inhibisyonuna neden olan aşağıdaki moleküller, TKR kan düzeylerinde artışa ve buna bağlı olarak, nefrotoksisite, nörotoksisite gibi advers etkilerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Christians ve ark., 2002). Bu durumda hastalarda TKR dozunun azaltılması gerekmektedir.

Ketokonazol, flukonazol, itraconazol, vorikonazol, klotrimazol gibi antifungal ajanlar (Albengres ve ark., 1998; Khan ve ark., 2014), eritromisin, klaritromisin gibi antibiyotikler (Wallemacq ve Verbeeck, 2001), Human Immunodeficiency Virus (HIV) proteaz inhibitörleri (örn: ritonavir, nelfinavir, sakonavir), Hepatit C Virus (HCV) proteaz inhibitörleri (örn. telaprevir, boseprevir) (Harbell ve ark., 2013), diltiazem, verapamil, nifedipin, nikardipin, gibi kalsiyum kanal blokerleri (Christians ve ark., 2002), omeprazol, nefazodon, ve *Schisandra sphenanthera* ekstraktı içeren bitkisel ilaçlar ile güçlü veya zayıf etkileşim göstermekte ve metabolizma inhibisyonuna neden olabilmektedir. Benzer şekilde, bromokriptin, kortizon, dapson, ergotamin, gestoden, lidokain, mefenitoin, mikonazol, midazolam, nilvadipin, noretisteron, kinidin, tamoksifen, troleandomisin moleküllerinin de TKR metabolizmasının potansiyel inhibitörleri olduğu *in vitro* olarak gösterilmiştir (Iwasaki, Matsuda ve ark., 1993; Matsuda ve ark., 1996; Mignat, 1997; Prasad ve ark.,

1994). Greyfurt suyunun da metabolizma inhibisyonu ile kan TKR seviyelerini artırdığı bildirilmiştir (Edwards ve ark., 1999).

Takrolimus kan düzeyi artışına yol açan diğer olası etkileşimler

TKR'un, kendisi gibi yaygın biçimde plazma proteinlerine bağlanma affinitesi yüksek olan ilaçlar (örn. non-steroid anti-enflamatuvar ilaçlar (NSAİİ), oral antikoagülanlar ya da oral antidiyabetikler) ile etkileşim olasıdır. Metoklopramid, simetidin gibi prokinetik ilaçlar ve magnezyum-alüminyum-hidroksit gibi absorpsiyonu azaltabilen antiasit ajanlar, potansiyel etkileşimler ile sistemik takrolimus maruziyetini artırmaktadır (Mignat, 1997). Özet olarak, yukarıda bahsedilen ajanlar, TKR'un hepatik metabolizmasını etkilemekte ve oral biyoyararlanımı artırarak kan TKR düzeylerinde artışa neden olmaktadır.

1.4.6.2. Metabolizma İndüksiyonu

CYP3A enzimlerinin indüksiyonu, TKR eliminasyonunun hızlanmasına, oral biyoyararlanımının azalmasına neden olmaktadır. Sonuç olarak, ilaç etkililiği azalmakta ve daha yüksek ilaç dozlarına ihtiyaç duyulmaktadır (Christians ve ark., 2002). Rifampisin, fenitoin, *St. John's Wort* (*Hipericum perforatum*) ile, hemen hemen tüm hastalarda TKR dozunu artırmayı gerektiren güçlü etkileşimler gösterilmiştir (Hebert ve ark., 1999; Hebert ve ark., 2004; Jantz ve ark., 2013). Fenobarbital ile klinik olarak anlamlı etkileşim olduğu gösterilmiştir (Siddiqi ve Marfo, 2010). Kortikosteroidler, TKR metabolizmasında yer alan hem CYP3A hem de P-glikoprotein aktivitesini indüklemektedir, bu nedenle yüksek steroid dozlarına çıkılması durumunda daha yüksek TKR dozu ihtiyacı ortaya çıkmaktadır (Anglicheau ve ark., 2003). Akut rejeksiyonu önlemek için uygulanan yüksek doz prednizolon veya metilprednizolonun, TKR kan seviyelerini artırma veya azaltma potansiyeli söz konusu olabilmektedir. Karbamazepin ve izoniazidin de takrolimus konsantrasyonlarını azaltma potansiyeli bulunmaktadır (Wada ve ark., 2009).

1.4.6.3. TKR'un Diğer Tıbbi Ürünlerin Metabolizması Üzerine Etkisi

İn vitro çalışmalarda, TKR'un bazı ilaçların CYP-bağımlı metabolizmasını inhibe ettiği gösterilmiştir (Izuishi ve ark., 1997). Siklosporin'in yarılanma ömrü, TKR ile kullanıldığında uzamaktadır. Ayrıca, sinerjistik/aditif nefrotoksik etkiler de oluşabilir. Bu nedenle, siklosporin ve TKR kombine kullanımı önerilmemektedir (Jain ve ark., 1991).

Statin grubu antihiperlipidemikler ile TKR birlikte kullanımının statinlerin farmakokinetiğini büyük oranda değiştirmedeği tespit edilmiştir (Lemahieu ve ark., 2005). Aminoglikozidler, giraz inhibitörleri, vankomisin, sülfametoksazol +trimetoprim, NSAİİ, gansiklovir, asiklovir, amfoterisin B ve ibuprofen gibi nefrotoksik veya nörotoksik etkileri olduğu bilinen ajanların TKR ile birlikte kullanımı bu etkilerde artışa yol açabilmektedir (Mignat, 1997). TKR kullanımı hiperkalemi ile ilişkilendirilebileceğinden; fazla miktarda potasyum alımından kaçınılması veya amilorid, triamteren veya spironolakton gibi potasyum tutucu diüretiklerin kullanılmaması tavsiye edilmektedir (Roughead ve ark., 2010).

Çizelge 1.1. TKR'un etkileşim gösterdiği ilaçlar ve etkileşimin kan TKR düzeylerine etkisi (Mignat, 1997).

İlaç grubu	Etkileşim gösteren ajan	TKR metabolizması üzerine etkisi	Olası etkileşim mekanizması	Klinik etki
Antibiyotikler	Eritromisin Klaritromisin	↓TKR metabolizması	CYP3A inhibisyonu P-Glikoprotein inhibisyonu	↑TKR düzeyi ↑Toksisite riski
	Rifampisin	↑TKR metabolizması	CYP3A indüksiyonu P-Glikoprotein indüksiyonu	↓TKR düzeyi Rejeksiyon riski
Antifungaller	Flukonazol Ketokonazol İtrakonazol	↓TKR metabolizması	CYP3A inhibisyonu	↑TKR düzeyi ↑Toksisite riski
Kalsiyum kanal blokerleri	Diltiazem Verapamil	↓TKR metabolizması	CYP3A inhibisyonu P-Glikoprotein inhibisyonu	↑TKR düzeyi ↑Toksisite riski
Antiepileptik ajanlar	Fenitoin Fenobarbital	↑TKR metabolizması	CYP3A indüksiyonu P-Glikoprotein indüksiyonu	↓TKR düzeyi Rejeksiyon riski
HIV proteaz inhibitörleri	Ritonavir Nelfinavir	↓TKR metabolizması	CYP3A inhibisyonu	↑TKR düzeyi ↑Toksisite riski
Diyet	Greyfurt suyu	↓TKR metabolizması	CYP3A inhibisyonu	↑TKR düzeyi ↑Toksisite riski
Bitkisel takviyeler	St. Johns wort	↑TKR metabolizması	CYP3A indüksiyonu	↓TKR düzeyi Rejeksiyon riski
Diğer ajanlar	Aminoglikozidler Amfoterisin B	Yok Yok	Farmakodinamik etkileşim	Artmış nefrotoksisite riski
	Anti asitler	Yok	Fiziksel adsorpsiyon, pH-bağımlı degradasyon	↓TKR düzeyi Rejeksiyon riski

1.4.7. Kan TKR Düzeyinin Önemi

TKR, organ nakli sonrasında akut rejeksiyonu önlemede kullanılan güçlü bir immunsupresandır. Ancak dar bir terapötik pencereye sahip olması ve önemli

istenmeyen etkilere neden olması nedeniyle, ilacın hedef terapötik konsantrasyonlarda tutulması greft ve hasta sağ kalımı için oldukça kritiktir (Oellerich ve ark., 1998).

TKR'un subterapötik konsantrasyonlarda kalması rejeksiyona neden olurken, yüksek konsantrasyonlarda olması, nefrotoksisite, diabetes mellitus, artmış enfeksiyon riski gibi ciddi yan etkilere neden olmaktadır (Fredericks ve ark., 2003). Günümüzde kliniklerde immun sistemin aşırı veya yetersiz baskılanmasının önüne geçmek üzere, TİDİ yapılmaktadır (Oellerich ve ark., 1998; S. F. Yu ve ark., 2006). Hedef kan TKR düzeyleri farklı merkezlerde uygulanan immunosüpresif tedavi şemasına göre değişkenlik gösterebilmektedir. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İbn-i Sina Hastanesi Nefoloji Kliniğimizde; kan TKR düzeyi, nakil sonrası ilk 3 ay için 9-10 ng/ml düzeylerinde tutulurken, 3 aydan sonra ilk 1 yıl ortalama 7-8 ng/ml düzeyinde tutulmaya çalışılmaktadır. Daha sonraki yıllarda ise 5-7 ng/ml düzey amaçlanmaktadır. Tüm bu terapötik aralıklar, "*Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Clinical Practice Guideline of Kidney Transplant Recipients*" kılavuzunda da belirtildiği şekilde belirlenmektedir (Kidney Disease: Improving Global Outcomes Transplant Work, 2009).

TİDİ, ilaç konsantrasyonlarının biyolojik materyalde uygun yöntemler ile ölçümü ve bireysel olarak ilaca maruziyetin durumunu gösteren bir yöntemdir. Hastaya uygulanan ilaç dozunun, hedef terapötik değerlere ulaşp ulaşmadığının anlaşılmasına yardımcı olmaktadır (Wallemacq ve Verbeeck, 2001).

TİDİ, özellikle rejeksiyon gelişme ihtimalinin yüksek olduğu operasyon sonrasındaki ilk günlerde oldukça önemlidir (Tavira ve ark., 2014). TKR kullanan böbrek nakil hastalarında yapılan bir çalışmada, TKR kan düzeyleri 5ng/ml'nin altında olan, subterapötik düzeyde kalan hastalarda rejeksiyon oranlarının %30 olduğu ve toksisite görülmediği rapor edilirken, 10 ng/ml'nin üzerideki hastalarda ise rejeksiyon oranlarının sadece %3 olduğunu ancak toksisite riskinin %45 olduğu belirtilmektedir (Oellerich ve ark., 1998). Günümüzde TKR için en sık kullanılan ilaç düzeyi izlem yöntemi, son TKR dozu alınmadan hemen önce tam kandan yapılan ölçümdür (Andrews ve ark., 2017; Bouamar ve ark., 2013). Günümüzde TKR düzeylerinin

ölçümü için farklı teknikler kullanılmaktadır. Bunlara; *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA), *microparticle enzyme-linked immuno-assay method* (MEIA) ve *enzyme multiplied immunoassay technique* (EMIT), *cloned enzyme donor immunoassay* (CEDIA) yöntemleri örnek olarak verilebilir (Akbas ve ark., 2005; Jusko, 1995).

TİDİ, ilaç dozlarının bireyselleştirilmesine büyük ölçüde yardımcı olsa da deneme yanılma temeline dayanmakta, tek başına yetersiz kalmakta ve birçok hastada ilacın hedef kan düzeylerine ulaşmasını geciktirmektedir (S. F. Yu ve ark., 2006). İlaç, kararlı düzeye ulaşmaya kadar hasta, yüksek veya düşük dozda TKR'a maruz kalmakta ve bunun sonucunda da istenmeyen komplikasyonlar görülmektedir (MacPhee, Fredericks ve ark., 2005). Son yıllarda özellikle immunosüpresif ilaçların farmakogenetiği üzerine yapılan çalışmalar oldukça önem kazanmıştır. Böylece, genotip temelli doz belirlenmesi ile çok daha hızlı bir şekilde hedef kan konsantrasyonlarına ulaşılırken ortaya çıkabilecek komplikasyonların önüne geçilebilecektir.

1.4.8. Kan TKR Düzeyini Etkileyen Faktörler

TKR kullanan hastalarda görülen bireylerarası farklılıklar yapılan birçok çalışmada açıklanmaya çalışılmıştır (Christians ve ark., 2002; Mignat, 1997). CYP3A enzimleri ve P-glikoprotein dışında TKR düzeylerini etkileyen çeşitli faktörler olduğu tespit edilmiştir. TKR farmakokinetiğine etki ederek, immunosüpresan etkide çeşitliliğe neden olan faktörler aşağıda özetlenmiştir.

1.4.8.1. TKR İlaç Düzeyini Etkileyen Genetik Olmayan Faktörler

Cinsiyet

Klinik çalışmalarda cinsiyetin, TKR farmakokinetik profilinde değişime neden olmadığı tespit edilmiştir (Fitzsimmons ve ark., 1998).

Etnik köken

Araştırmalar, beyaz ırk ile karşılaştırıldığında Afrika kökenli Amerikalıların, daha yüksek TKR dozlarına ihtiyaç duyduklarını göstermiştir. Benzer şekilde, biyoyararlanımın da siyahi hastalarda daha düşük olduğu gözlenmiştir (Fitzsimmons ve ark., 1998; Uber ve ark., 2001). Etnik gruplar arasındaki bu farklılığın ırklar arasındaki CYP3A ve/veya P-glikoprotein aktivitesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Felipe ve ark., 2001).

Yaş

Geriatrik hastalarda TKR farmakokinetiğinde değişim olmadığı düşünülmesine rağmen, pediatrik hastalar terapötik TKR kan konsantrasyonlarına ulaşmak için yetişkinlerden 2-4 kat yüksek TKR dozlarına ihtiyaç duymaktadır. Bu yüksek doz ihtiyacının, CYP3A enzimlerindeki farklılıklardan ileri geldiği düşünülmektedir bunun yanı sıra P-glikoprotein farklılıkları, barsak uzunluğu, hepatik kan akışı da doz ihtiyacını değiştiren diğer faktörler arasında sayılmaktadır (V. Gijzen ve ark., 2011; McDiarmid ve ark., 1993; Przepiorka ve ark., 2000).

Renal fonksiyon

TKR farmakokinetik özellikleri renal fonksiyonlar tarafından etkilenmemektedir. Transplantasyon öncesi renal disfonksiyonu olan hastalar ile sağlıklı gönüllülerde yapılan çalışmalarda, TKR klirensin benzer olduğu tespit edilmiştir (Hesselink, Ngyuen ve ark., 2003; van Hooff ve ark., 1999).

Hepatik fonksiyon

Karaciğer fonksiyonları normal olan kişilerle karşılaştırıldığında, karaciğer fonksiyon bozukluğu bulunan hastalarda TKR konsantrasyonlarının daha yüksek, plazma yarılanma ömrünün daha uzun ve klirens seviyeleri daha düşük olma potansiyeli bulunmaktadır (Bekersky, Dressler ve ark., 2001; Jain ve ark., 1993; Pou

ve ark., 1998). Hepatit C pozitif ve negatif hastalarda yürütülen bir çalışmada, HCV pozitif hastaların, HCV negatif hastalardan daha düşük TKR dozlarına ihtiyaç duydukları gösterilmiştir. Hepatit virusunun karaciğer hücrelerinde replikasyonu CYP enzim sisteminde değişikliklere neden olmakta ve TKR metabolizmasının azalmasına neden olmaktadır (Manzanares ve ark., 1998; van den Berg ve ark., 2001).

Kortikosteroid Dozu

TKR ile tedavide yer alan steroidler, CYP3A izoenzimlerini indükleyerek TKR eliminasyonunu arttırabilmektedirler. Ancak, bir çalışmada uygulanan steroid dozu ile ihtiyaç duyulan TKR dozu arasında bir korelasyon olduğu gösterilirken, bir başka çalışmada TKR ile steroid kullanımının TKR farmakokinetiği üzerine bir etkisi olmadığını gösterilmiştir (Anglicheau ve ark., 2003; Lam ve ark., 2008).

Hematokrit ve albümin konsantrasyonları

TKR yüksek oranda kırmızı kan hücrelerine ve serum albüminine bağlanmaktadır. Hematokrit ve alfa-1-asit glikoprotein konsantrasyonu böbrek nakil hastalarında operasyonun hemen sonrasında düşük olmakla birlikte bu düzey zamanla yükselmektedir. Hastalarda, TKR ilaç düzeylerinin tam kanda ölçülmesi nedeniyle, düşük hematokrit ve albümin konsantrasyonlarına bağlı olarak ölçülen total ilaç düzeylerinin de düşük olması olası bir tablodur (M. L. Huang ve ark., 1988). Bu durumda, tam kan ilaç klirensi artmış gibi görünse de bağlanmamış olan ilaç konsantrasyonu aynı kalacaktır.

Diyare

TKR kullanan hastalarda akut ve kronik diyare dönemlerinde kan TKR düzeylerinde artış olduğu gösterilmiştir (Staat ve Tett, 2004). Bu durum, açlık ve artmış absorpsiyon ve artmış intestinal permeabilite veya azalmış hepatik kan akışı ve azalmış hepatik metabolizma ile açıklanabilir (Zylber-Katz ve Granot, 2001). Enterite neden olan viral enfeksiyonlar, enterositlerde CYP3A enzim aktivitesini düşürebilir ve

TKR düzeylerinde artışa neden olabilirler (Asano ve ark., 2004). Ayrıca, gastrointestinal kanalda CYP3A çeşitli yerlerde değişen miktarlarda bulunmaktadır, gastrointestinal geçiş süresinin değişmesi TKR biyoyararlanımını değiştirebilmektedir (Berengue ve ark., 2003).

Transplantasyon sonrası geçen süre

Transplantasyon sonrasında erken dönem ile kıyaslandığında, zamanla hastanın terapötik düzeylere ulaşmak için ihtiyaç duyduğu TKR dozunun azaldığı gösterilmiştir (Dashti-Khavidaki ve ark., 2016). Bu durum temel olarak, artan TKR biyoyararlanımı ve azalan TKR klirensi ile ilişkilendirilmektedir (Pou ve ark., 1998). 303 Böbrek transplantasyon hastasında yapılan bir çalışmada, nakil sonrası ikinci yılda hastaların ihtiyaç duyduğu TKR dozunda %50 düşme gözlenmiş ve zamanla azaltılan steroid dozunun ve artmış hematokrit ve albümin konsantrasyonlarının buna neden olabileceği düşünülmüştür (Undre ve Schafer, 1998).

1.4.8.2. TKR İlaç Düzeyini Etkileyen Genetik Faktörler

TKR ilaç yanıtını etkileyen çeşitli faktörler bulunmaktadır, bunlar etkisini ilaç farmakokinetiği veya farmakodinamiği üzerinde göstermekte ve ilaç etkililiği ve immunosüpresif yanıtta çeşitliliğe neden olmaktadır. Bugüne kadar ilaç yanıtını etkileyen, genetik ve genetik olmayan birçok faktör tanımlanmıştır. Genetik faktörlerin bireyler arasında çeşitliliğe neden olan en önemli faktör olduğu düşünülmektedir (Kalow ve ark., 1998; S. F. Yu ve ark., 2006). Son yıllarda immunosüpresif ilaçların farmakogenetiği üzerine yapılan çalışmalar oldukça önem kazanmıştır. Özellikle ilaç metabolizmasında rol alan enzim ve proteinleri kodlayan genlerdeki değişiklikler, immunosüpresif ajanlara yanıtta bireysel farklılıkları oluşturan temel etkindir (Hesselink, Van Schaik ve ark., 2003; S. F. Yu ve ark., 2006).

1.4.9. Farmakogenetik

Farmakogenetik, bireylerin ilaçlara yanıtındaki farklılığını genetik çerçevede inceleyen bilim dalıdır (Mroziwicz ve Tyndale, 2010). Farmakogenetik ilk defa 1950’lerde bilim dalı olarak anılmaya başlanmıştır (Kalow, 2001). İlk defa 1956’da genetik olarak bütiril kolinesteraz eksikliği olan hastaların, anestezi sırasında süksinilkolin enjeksiyonu sonucu öldüğü rapor edilmiştir. 1970’lerde debrisoekin kullanan hastaların çoğunda yan etkiler meydana gelmiştir. Araştırmacılar bu yan etkilerin kolinesteraz, sitokrom P450, N-asetiltransferaz gibi enzimlerin genetik eksikliklerinden kaynaklandığını göstermişlerdir. 2003 yılında insan genom projesinin tamamlanması ile farmakogenetik çalışmalar hız kazanmıştır (Kalow, 2006).

Günümüzde nefroloji kliniklerinde TKR başlangıç dozu, hastanın kilosuna göre ayarlanmakta ve kan TKR düzeylerine göre doz titre edilmektedir. Uygulama sırasında, transplantasyon sonrası Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İbn-i Sina Hastanesi Nefoloji Kliniğinde, ilk aylarda kan TKR düzeyi 9-10ng/ml daha sonraki aylarda ise 7-8 ng/ml düzeyinde tutulmaya çalışılmaktadır ancak bu düzeyler, hastanın genetik-klinik geçmişi, transplantasyon çeşidi, diyeti, kullanılan diğerk ilaçlar gibi birçok faktörden etkilenmektedir. Farmakogenetik alışmalar, bireylerarası bu çeşitliliği yaklaşık %20-95 oranlarda tahmin edebilmekte-açıklayabilmektedir (Herrero ve ark., 2010; Provenzani ve ark., 2013). Böylece, daha hızlı ve kesin bir şekilde uygun başlangıç ve idame dozu ayarlanmasına olanak tanımaktadır.

Transplantasyon sonrası ilaç tedavisinin farmakogenetik yöntemler ile bireyselleştirilmesi, tedavinin etkililiğini ve güvenliliğini artırmanın yanında yapılacak harcamaları da en aza indirgeyecektir (Verbelen ve ark., 2017). İlaç dozu ayarlanması sırasında yaşanan gecikmeler, yetersiz veya yüksek dozda ilaca maruziyet sonucu ortaya çıkabilecek komplikasyonlar, pahalı ve yaşam boyu kullanılması gereken bu ajanlar ile tedavinin maliyetinin artmasına neden olacaktır.

Sonuç olarak, hedef kan konsantrasyonlarına daha hızlı ulaşılmasının yanında, olası istenmeyen etkiler ve bunların da tedavisi için gereken tedavi masrafları ortadan kalkacaktır (Groessl ve ark., 2018).

Oral uygulanan TKR, gastrointestinal kanaldan absorbe edildikten sonra, karaciğerde CYP 450 enzimleri tarafından metabolize edilmektedir. Metabolizmada temel rolü olan CYP3A4 ve CYP3A5 enzimleri ve bu enzimlere elektron taşımada görevli sitokrom P450 oksidoredüktaz (POR) genlerindeki değişiklikler, bireylerin değişen TKR ihtiyaçlarını açıklamaktadır (M. Yu ve ark., 2018).

1.5. TKR Metabolizmasında Yer Alan Genler

1.5.1. CYP3A5 Geni, CYP3A5*3 Polimorfizmi

CYP3A alt ailesi, CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7 ve CYP3A43 enzimlerinden oluşmaktadır (Barry ve Levine, 2010). CYP3A4 yetişkin bireylerde bulunan dominant izoenzimdir, CYP içeriğinin %30-40'ını oluşturmaktadır, karaciğerde ve kalın ve ince barsakta yoğun bir şekilde eksprese edilmektedir. CYP3A5 ise bu dokular yanında prostat ve az miktarda da böbreklerde bulunmaktadır. CYP3A5; ilaçların, yağ asitlerinin, steroidlerin, ksenobiyotiklerin metabolizmasında önemli bir role sahiptir (Guengerich, 1999).

CYP3A4 ve CYP3A5 enzimlerinin instestinal mukozada ve hepatik hücrelerde bulunması, TKR'un sistemik dolaşıma girmesinden önceki ilk geçiş etkisinde görev almaktadır. Bu iki enzimde yer alan genetik polimorfizmler, bireylerarası farklılıkların oluşmasında önemli rol oynamaktadır (Jacobson ve ark., 2011). TKR, yanıtındaki bireylerarası ilaç düzey farklılığını oluşturan; en önemli faktör metabolizmada görevli birincil enzim olan sitokrom P450 3A5'i kodlayan CYP3A5 genindeki değişimdir (Tavira ve ark., 2014). CYP3A5 enzimini kodlayan gen, yedinci kromozomun uzun

kolu üzerinde (7q.21.1) yer almaktadır (J. A. Williams ve ark., 2003). *CYP3A5* geni üzerinde farklı polimorfizmler tanımlanmıştır ve ekspresyon düzeyi etnik gruplar arasında çeşitlilik göstermektedir. Çizelge 1.4.'te farklı populasyonlarda *CYP3A5*3* polimorfizmine ait alel frekansları yer almaktadır.

CYP3A5 genindeki polimorfizmler bireyler arasındaki TKR doz ihtiyacı çeşitliliğini %40-50 oranında açıklamaktadır (Tang ve ark., 2016). Bu polimorfizmler arasında *CYP3A5*3* tek nükleotid polimorfizmi (rs776746, 6986A>G veya T>C) uygun TKR dozunun belirlenmesindeki en güçlü genetik etkidir (Hafroid ve ark., 2006; Tavira ve ark., 2014). Bu varyant, *CYP3A5* geni intron 3'te yer almakta, 6986. pozisyonda adeninden guanine olan değişimi ifade etmektedir (M. Yu ve ark., 2018). *CYP3A5*1* aleli yabanıl tip olarak adlandırılmaktadır. Homozigot yabanıl tip genotipe sahip bireyler normal metabolize edici bireylerdir (*CYP3A5*1/*1*, AA genotip). *CYP3A5* geni için varyant allelerde (*CYP3A5*3*, G alleli taşıyanlarda) ise, mRNA kısa kalmış erken durdurucu kodon oluşmuş ve buna bağlı olarak fonksiyonel *CYP3A5* protein ekspresyonu azalmıştır (Birdwell ve ark., 2015).

Varyant *CYP3A5*3* aleli için homozigot olan bireyler (*CYP3A5*3/*3*), fonksiyonel *CYP3A5* proteini taşımazken (*CYP3A5* ekspresyonu yapmayanlar), en az bir fonksiyonel *CYP3A5*1* alleli taşıyan bireyler *CYP3A5* proteini sentezleyebilecektir. *CYP3A5* enzimini kodlayan gendeki değişiklikler, TKR düzeyi ve TKR doz ihtiyacı arasındaki ilişki çizelge 1.2.'de özetlenmiştir.

Çizelge 1.2. CYP3A5 enzimini kodlayan gendeki değişiklikler, TKR düzeyi ve TKR doz ihtiyacı arasındaki ilişki (Chen ve Prasad, 2018)

Hasta profili	Alel	TNP (tek nükleotid polimorfizmi)	Etki	TKR düzeyi	TKR doz ihtiyacı
CYP3A5 ekspresyonu yapan	*1/*1	rs6986 AA	mRNA doğru sentezlenmektedir, normal CYP3A5 enzim miktarı	↓	↑
	*1/*3	rs6986 AG		↓	↑
CYP3A5 ekspresyonu yapmayan	*3/*3	rs6986 GG	mRNA yanlış sentezlenmektedir, fonksiyonel olmayan CYP3A5 proteini oluşmaktadır	↑	↓

Sonuç olarak, *CYP3A5**3 varyantı hastaları; yavaş metabolize edici (homozigot varyant *CYP3A5**3/*3), orta hızlı (heterozigot *CYP3A5**1/*3) ve normal metabolize edici (*CYP3A5**1/*1, homozigot yabanıl tip) olarak sınıflandırmaya olanak tanımaktadır (MacPhee ve Holt, 2008; Tavira ve ark., 2014). Fonksiyonel CYP3A5 enzimi taşıyan bireyler (*CYP3A5**1/*3 ve *CYP3A5**1/*1 genotipine sahip olanlar), TKR’u normal metabolize etmeleri nedeniyle, hedef terapötik TKR konsantrasyonlarına ulaşmak için diğer bireylerden daha yüksek ilaç dozlarına ihtiyaç duymaktadırlar (Tavira ve ark., 2014). Gerçekleştirilen retrospektif çalışmalarda böbrek, kalp, karaciğer nakilli hastalarda; TKR tam kan düzeyleri ve doz ihtiyaçları CYP3A5 polimorfizmi ile ilişkili olarak bulunmuştur; en az bir *CYP3A5**1 aleli taşıyan hastaların CYP3A5 ekspresyonu yapmayanlara göre (*CYP3A5**3/*3) daha düşük TKR konsantrasyon/doz oranlarına sahip oldukları tespit edilmiştir (Zheng ve ark., 2004). Bir başka çalışmada ise böbrek nakilli hastalarda *CYP3A5**3/*3 ve *CYP3A5**1/*1 genotiplerine sahip hastalar arasında hedef konsantrasyonlara ulaşmak için gerek duyulan günlük dozlar arasında 2,3 kat fark tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra, CYP3A5 ekspresyonu yapan böbrek nakil hastalarında, operasyon sonrasındaki ilk iki hafta içinde, terapötik kan konsantrasyonlarına ulaşmak için gereken sürenin de uzadığı tespit edilmiştir (Thervet ve ark., 2010). Bir çalışmada ise CYP3A5 ekspresyonu olan hastaların CYP3A5 eksprese etmeyen bireylere göre TKR oral klirenslerinin 2,4 kat daha yüksek olduğu ve ihtiyaç duydukları TKR dozunun ise 2,5 kat arttığı tespit edilmiştir (Kuypers, 2018). Çizelge 1.5.’te kan TKR düzeyleri ve *CYP3A5**3 aleli ilişkisinin incelediği bazı farmakogenetik çalışmalar ve sonuçları sunulmuştur.

*CYP3A5*3/*3* genotipli bireyler ile karşılaştırıldığında, *CYP3A5*1/*1* genotipine sahip olmanın TKR klirensini 2 kat artırdığı, heterozigot *CYP3A5*1/*3* genotipli bireylerde ise klirensin 1,7 kat arttığı tespit edilmiştir (Boughton ve ark., 2013; MacPhee ve ark., 2004; Oetting ve ark., 2016). *CYP3A5*3/*3* genotipli bireyler, *CYP3A5* eksprese eden bireylere göre %48 düşük oral klirens sahiptir (Barry ve Levine, 2010). Çizelge 1.3.'te *CYP3A5* enzimini kodlayan gendeki varyasyonların ilaç metabolizması üzerindeki olası etkileri özetlenmiştir.

Çizelge 1.3. *CYP3A5* enzimini kodlayan gendeki varyasyonların ilaç metabolizması üzerindeki olası etkileri (Birdwell ve ark., 2015).

Metabolizma durumu	Genotip	Olası klinik etki	Terapötik öneriler
Normal metabolize edici (<i>CYP3A5</i> ekspresyonu yapan)	Fonksiyonel 2 adet alel taşımaktadır <i>*1/*1</i>	Standart dozda tedavi ile terapötik konsantrasyonlara ulaşamayabilir. Rejeksiyon riski söz konusu olabilir.	Başlangıç dozu, 1,5-2 kat artırılmalı, total başlangıç dozu 0,3 mg/kg/gün dozunu aşmamalıdır. TİDİ ile doz ayarlanmalıdır.
Orta düzeyde metabolize edici (<i>CYP3A5</i> ekspresyonu yapan)	Bir fonksiyonel bir de fonksiyonel olmayan alel taşımaktadır <i>*1/*3</i>	Standart dozda tedavi ile terapötik konsantrasyonlara ulaşabilir.	Başlangıç dozu, 1,5-2 kat artırılmalı, total başlangıç dozu 0,3 mg/kg/gün dozunu aşmamalıdır. TİDİ ile doz ayarlanmalıdır.
Yavaş metabolize edici (<i>CYP3A5</i> ekspresyonu yapmayan)	Fonksiyonel olmayan 2 adet alel taşımaktadır <i>*3/*3</i>	Standart dozda tedavi ile terapötik konsantrasyonların üzerine ulaşabilir. İstenmeyen reaksiyon görülme riski mevcuttur.	Tedavi, standart önerilen doz ile başlanmalıdır, TİDİ ile doz ayarlanmalıdır.

*CYP3A5*3* alel frekansı etnik gruplar arasında farklılık göstermektedir, görülme sıklığının Avrupalılarda %95, Afrikalılarda %18, Doğu Asyalılarda %71,3, Güney Asyalılarda %66,8 ve Amerikalılarda %79,7 civarında olduğu önceki çalışmalarda rapor edilmiştir (Zhou ve ark., 2017). Çizelge 1.4.'te *CYP3A5*3* alelinin farklı popülasyonlarda dağılımı sunulmuştur.

Çizelge 1.4. CYP3A5*3 alelinin farklı popülasyonlarda dağılımı

Çalışma grubu	Ülke	Kişi sayısı	CYP3A5*3 frekansı (%)	Kaynak
Beyaz ırk	Amerika	111	96	(International HapMap, 2003)
Beyaz ırk	Belçika	59	92	(de Jonge ve ark., 2012)
Beyaz ırk	Almanya	74	93	(Mai ve ark., 2004)
Beyaz ırk	İtalya	143	94	(Stratta ve ark., 2012)
Beyaz ırk	İspanya	206	96	(Tavira ve ark., 2013)
Beyaz ırk	Polonya	241	96	(Kurzawski ve ark., 2014)
Afrika kökenli Amerikalı	Amerika	144	35	(Jacobson ve ark., 2011)
Sarı ırk	Japonya	97	72	(Niioka ve ark., 2013)
Sarı ırk	Çin	203	72,4	(W. Zhang ve ark., 2011)
Sarı ırk	Kore	129	76,0	(Kim ve ark., 2012)
Güneybatı Asya	Hindistan	44	66	(Ashavaid ve ark., 2010)
Beyaz ırk	Türkiye	51	86	(Kayilioglu ve ark., 2017)

Araştırmalar, günümüzde nefroloji kliniklerinde uygulanmakta olan kilo-temelli TKR dozu ayarlanmasının, CYP3A5 ekspresyonu yapan bireylerde nakil sonrası erken dönemde, yetersiz kaldığını ve bu durumun akut rejeksiyon riskini artırdığını göstermiştir. MacPhee ve arkadaşları da nakil sonrası erken dönemde TİDİ yapılmasına rağmen CYP3A5 ekspresyonu yapan bireylerin, hedef terapötik TKR konsantrasyonlarına ulaşmada gecikme yaşadığını göstermiştir (MacPhee ve ark., 2004).

Çizelge 1.5. Kan TKR düzeyleri ve CYP3A5*3 aleli ilişkisinin incelediği bazı farmakogenetik çalışmalar ve sonuçları

İlaçlar	Popülasyon	Kişi sayısı	Sonuç	Kaynak
TKR, MMF, Steroid	Beyaz ırk Belçika Böbrek nakli	298	Kan TKR düzeyleri, TKR doz ihtiyacı CYP3A5*1 aleli taşıyanlarda (*3/*3 genotipli hastalar ile kıyaslandığında) tüm çalışma süresince daha yüksektir.	(de Jonge ve ark., 2011)
TKR, MMF, Steroid	Beyaz ırk Avustralya Böbrek nakli	138	CYP3A5*3 aleli taşıyan, ekspresyon yapmayanlarda TKR C ₀ /Doz değerleri CYP3A5*1 aleli taşıyanlar ile kıyaslandığında daha yüksek çıkmıştır.	(Hu ve ark., 2018)
TKR, MMF, Steroid	Beyaz ırk Hollanda Böbrek nakli	136	TKR doz ihtiyacı en az bir *1 aleli taşıyan hastalarda, *3/*3 ile kıyaslandığında 1,7 kat daha yüksektir. CYP3A5 ekspresyonu yapan hastaların, hedef kan konsantrasyonlarına ulaşma süresi, *3 aleli taşıyanlara göre daha uzundur.	(Hesselink ve ark., 2008)
TKR, MMF, Steroid	Sarı ırk Çin Böbrek nakli	118	CYP3A5 ekspresyon yapmayanlarda TKR C ₀ /Doz değerleri ekspresyon yapan hastalar ile kıyaslandığında 2,2 kat daha yüksek çıkmıştır. CYP3A5 ekspresyonu yapan hastaların, hedef kan TKR düzeylerine ulaşma süresi, CYP3A5 ekspresyonu yapmayanlara göre daha uzundur.	(X. Zhang ve ark., 2005)
TKR, MMF, Steroid	Beyaz ırk İtalya Böbrek nakli	30	TKR doz ihtiyacı CYP3A5*1 aleli taşıyanlarda (*3/*3 genotipli hastalar ile kıyaslandığında) daha yüksektir. Ölçülen kan TKR düzeyleri, *3/*3 genotipe sahip hastalarda; *1 aleli taşıyanlar ile kıyaslandığında daha düşüktür.	(Ferrareso ve ark., 2007)
TKR, MMF, Steroid	Beyaz ırk İngiltere Sarı ırk Güney ve Orta Asya Siyah Irk Afrika Böbrek nakli	180	CYP3A5 ekspresyon yapmayanlarda TKR C ₀ /Doz değerleri ekspresyon yapan hastalar ile karşılaştırıldığında daha yüksek çıkmıştır. CYP3A5 ekspresyonu yapan hastaların, hedef kan TKR düzeylerine ulaşma süresi, CYP3A5 ekspresyonu yapmayanlara göre daha uzundur.	(Macphee, Fredericks ve ark., 2005)
TKR, MMF, Steroid	Beyaz ırk Hollanda Böbrek nakli	151	CYP3A5*3/*3 genotipe sahip bireyler, *1 aleli taşıyanlar ile kıyaslandığında TKR C ₀ /Doz değerlerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.	(Lloberas ve ark., 2017)

1.5.2. CYP3A4 geni, CYP3A4*22 Polimorfizmi

CYP3A4, karaciğerde en fazla eksprese olan CYP izoenzimidir, toplam CYP enzimlerinin %30-40'ını oluşturmaktadır ve ilaçların %45-60'ının metabolizmasından sorumludur (Danielson, 2002). Uygulanan TKR'un yaklaşık %40'ı CYP3A4 enzimi tarafından metabolize edilmektedir. CYP3A4 enzim aktivitesi bireyler arasında 10 ile 100 kat arasında değişmektedir (J. K. Lamba ve ark., 2002; Westlind ve ark., 1999). Bireyler arasında görülen hepatik CYP3A4 ekspresyon farklılığının, yaklaşık %85'i genetik faktörler ile açıklanabilmektedir (Ozdemir ve ark., 2000). CYP3A4 geni, yedinci kromozom (7q21.3-q22.1) üzerinde yer almaktadır. Gen; 27,592 baz çifti (bç) uzunluğunda olup 13 ekzondan oluşmaktadır (Keshava ve ark., 2004). CYP3A4 geni yüksek oranda polimorfik bir gendir. CYP3A4 geninde tanımlanan bu polimorfizmler, çok düşük görülme sıklığına sahiptirler (Elens, van Gelder ve ark., 2013). Bunlar arasında sıklıkla görülen ve incelen polimorfizmler CYP3A4*1B ve CYP3A4*22 dir (Elens, van Gelder ve ark., 2013).

CYP3A4*22 polimorfizmi (rs35599367, C>T), ilk defa Wang ve arkadaşları tarafından, altıncı intron üzerinde, 15389. pozisyonda sitozinden timine olan değişim şeklinde tanımlanmıştır. Bu çalışmada, CYP3A4*22 polimorfizminin, mRNA ekspresyonunu ve insan karaciğer enzim aktivitesini düşürdüğü tespit edilmiştir (Wang ve ark., 2011). CYP3A4*22 alelinin hepatik ekspresyon üzerine etkisi total CYP3A4 mRNA düzeyleri ölçülerek tespit edilmiştir. Buna göre; yabanıl genotipe sahip (CYP3A4*1/*1, CC genotip) bireylerin, CYP3A4*22 (CT veya TT) varyant aleline sahip bireyler ile kıyaslandığında, 1,7 kat yüksek mRNA düzeylerine sahip oldukları tespit edilmiştir (Wang ve ark., 2011). Sonuç olarak, azalmış CYP3A4 protein içeriğinin ve buna bağlı olarak CYP3A4 aracılı enzim aktivitesinin CYP3A4*22 aleli ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Okubo ve ark., 2013). Elens ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada CYP3A4*22 polimorfizminin CYP3A4 enzim aktivitesini %20 oranında düşürdüğü tespit edilmiştir (Elens, van Schaik ve ark., 2011). İnsan karaciğer mikrozomları ile gerçekleştirilen bir çalışmada CYP3A4*22 aleli taşıyan bireylerin, yabanıl tip bireyler ile kıyaslandığında CYP3A4 protein içeriğinde %28 düşme olduğu tespit edilmiştir (Pasternak ve ark., 2018).

Çizelge 1.6.'da gösterildiği gibi *CYP3A4*22* polimorfizminin olası klinik etkileri tahmin edilmektedir ancak kılavuzlara geçmiş genotip-temelli bir dozlama önerisi henüz bulunmamaktadır.

Çizelge 1.6. *CYP3A4* enzimini kodlayan gendeki varyasyonların ilaç metabolizması üzerindeki olası etkileri

Metabolizma durumu	Genotip	Olası klinik etki
Yavaş metabolize edici	Fonksiyonel olmayan 2 adet alel taşımaktadır <i>CYP3A4*22/*22</i> aleli taşıyıcısı	Standart dozda tedavi ile terapötik konsantrasyonların üzerine ulaşabilir. İstenmeyen reaksiyon görülebilir.
Orta düzeyde metabolize edici	Bir fonksiyonel bir de fonksiyonel olmayan alel taşımaktadır <i>CYP3A4*22</i> <i>CYP3A4*1</i>	Standart dozda tedavi ile terapötik konsantrasyonlara ulaşabilir.
Normal metabolize edici	Fonksiyonel 2 adet alel taşımaktadır <i>CYP3A4*1/*1</i>	Standart dozda tedavi ile terapötik konsantrasyonlara ulaşamayabilir. Rejeksiyon riski söz konusu olabilir.

*CYP3A4*22* polimorfizminin görülme sıklığı etnik gruplara göre çeşitlilik göstermektedir. *CYP3A4*22* polimorfizminin görülme sıklığının Avrupalılarda %5, Afrikalılarda <%0,01, Doğu Asyalılarda %0, Güney Asyalılarda %0,06 ve Amerikalılarda %2,6 civarında olduğu bildirilmiştir (Zhou ve ark., 2017). *CYP3A4*22* alelinin farklı popülasyonlarda dağılımı Çizelge 1.7.'de özetlenmiştir.

Çizelge 1.7. *CYP3A4*22* alelinin farklı popülasyonlarda dağılımı

Çalışma grubu	Populasyon	Kişi sayısı	<i>CYP3A4*22</i> frekansı (%)	Kaynak
Beyaz ırk	Hollanda	185	8,3	(Elens, Bouamar ve ark., 2011)
Beyaz ırk	Amerika	243	5,4	(Okubo ve ark., 2013)
Beyaz ırk	Türk	194	1,6	(Karaca ve ark., 2017)
Beyaz ırk	Avrupa kökenli Amerika	1966	5,0	(Mohamed ve ark., 2019)
Siyah ırk	Afrika kökenli Amerika	461	0,8	(Mohamed ve ark., 2019)

Böbrek nakil hastalarında yapılan bir çalışmada *CYP3A4*22* (minör-varyant T aleline sahip bireyler) genotipine sahip bireylerin azalmış kalsinörin inhibitör klirensi gösterdiği bu nedenle de yüksek doza maruziyet riskinin arttığı tespit edilmiştir. Elens ve arkadaşları *CYP3A4*22/*22* (TT genotip) genotipine sahip bireylerin *CYP3A4*1* (CC genotip, yabanıl tip) aleline sahip bireyler ile kıyaslandığında daha düşük TKR dozlarına ihtiyaç duyduğunu göstermiştir (Elens, Bouamar ve ark., 2011). Çizelge 1.8.'de kan TKR düzeyleri ve *CYP3A4*22* aleli ilişkisinin incelediği bazı farmakogenetik çalışmalar ve sonuçları sunulmuştur.



Çizelge 1.8. Kan TKR düzeyleri ve CYP3A4*22 aleli ilişkisinin incelediği bazı farmakogenetik çalışmalar ve sonuçları

Medikasyon	Popülasyon	Kişi sayısı	Sonuç	Kaynak
TKR, steroid	Beyaz ırk Hollanda Böbrek nakli	185	TKR doz ihtiyacı, T varyant aleli taşıyan hastalar, CC genotipe sahip hastalar ile kıyaslandığında %33 daha düşüktür.	(Elens, Bouamar ve ark., 2011)
TKR, MMF, steroid	Beyaz ırk Hollanda Böbrek nakli	49	Doz-ayarlı TKR düzeyleri T varyant aleli taşıyan hastalar, CC genotipe sahip hastalar ile kıyaslandığında 2 kat daha yüksektir. TKR doz ihtiyacı, T varyant aleli taşıyan hastalar, CC genotipe sahip hastalar ile kıyaslandığında %42,6 daha düşüktür.	(Elens, van Schaik ve ark., 2011)
TKR, MMF, Steroid	Beyaz ırk Belçika Böbrek nakli	96	CYP3A4*22 aleli taşıyan hastaların, kan TKR düzeyleri, CYP3A4*1 aleli taşıyanlar ile kıyaslandığında anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. CYP3A4*22 aleli taşıyan hastalar doz-ayarlı TKR düzeyleri CYP3A4*1 aleli taşıyanlara göre daha yüksektir	(Elens, Capron ve ark., 2013)
TKR, MMF, Steroid	Beyaz ırk Hollanda Pediyatrik kalp nakli	66	Terapötik TKR konsantrasyonlarına ulaşmak için CYP3A4*22 aleli taşıyan hastalar CYP3A4*1/*1 genotipe sahip hastalardan %30 düşük TKR dozuna ihtiyaç duymaktadır.	(V. M. Gijzen ve ark., 2013)
TKR, MMF, Steroid	Beyaz ırk Belçika Böbrek nakli	298	Terapötik TKR konsantrasyonlarına ulaşmak için CYP3A4*22 T aleli taşıyan hastalar, CC genotipe sahip hastalardan anlamlı olarak düşük TKR dozuna ihtiyaç duymaktadır	(Kuypers ve ark., 2014)
TKR, MMF, Steroid	Beyaz Irk Avrupa kökenli Amerikalı Böbrek nakli	1966	CYP3A4*22 aleli taşıyan hastalar, doz ayarlı TKR düzeyleri anlamlı olarak daha yüksektir.	(Mohamed ve ark., 2019)
TKR, MMF, Steroid	Beyaz ırk Brezilya, Böbrek nakli	140	Hastaların ihtiyaç duyduğu TKR dozu CYP3A4*22 aleli ile ilişkili bulunmamıştır.	(Santoro ve ark., 2013)
TKR, MMF, Steroid	Beyaz ırk, İspanya Böbrek nakli	206	CYP3A4*22 aleli taşıyan hastalar ile CYP3A4*1 aleli taşıyan hastalar arasında doz-ayarlı TKR düzeyleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır.	(Tavira ve ark., 2013)

TKR temel olarak, karaciğer, barsakta CYP3A5 ve 3A4 enzimleri tarafından metabolize edilmektedir (Kamdem ve ark., 2005; Staatz ve Tett, 2004). CYP3A5 enziminin majör rolü olduğu bilinmektedir, ayrıca CYP3A5 enzimini kodlayan gendeki *CYP3A5*3* polimorfizminin TKR dozlarını ayarlamadaki rolü kabul edilmiş ve klinik farmakogenetik uygulama konsorsiyum kılavuzuna (CPIC) girmiştir (Birdwell ve ark., 2015). Ancak *CYP3A5* genindeki bu TNP, bireyler arasında TKR ilaç yanıtı ve yan etkilerini açıklamada tek başına yetersiz kalmaktadır (Shuker ve ark., 2016). CYP3A5 enzim aktivitesini ortadan kaldıran *CYP3A5*3* TNP'nin yanında CYP3A4 enzim aktivitesinin azalmasına neden olan *CYP3A4*22* TNP'nin de bu çeşitliliği açıklamada rolü olabileceği düşünülmektedir (Elens, Bouamar ve ark., 2011; Elens, Capron ve ark., 2013; Kuypers ve ark., 2014). Buna göre; hastaların yavaş metabolize edici, orta hızlı metabolize edici ve normal metabolize edici şeklinde sınıflandırılmasının bu fonksiyonel iki Tek nükleotid Polimorfizmine (TNP) göre yapılması oldukça mantıklıdır. Bu iki fonksiyonel TNP yanında, CYP3A aktivitesini ve potansiyel olarak TKR metabolizmasını etkileyen farklı genler üzerinde tanımlanmış değişiklikler mevcuttur. Sitokrom P450 oksidoredüktaz (POR), CYP3A aktivitesinden bağımsız olarak düşünülmesi mümkün olmayan bir moleküldür (Henderson ve ark., 2003). Bu nedenle, *POR* geni üzerinde tanımlanmış polimorfizmlerin de TKR metabolizma ve ilaç yanıtında büyük rolü olabileceği düşünülmektedir.

1.5.3. SitokromP450 Oksidoredüktaz (*POR*) Geni, *POR*28* Polimorfizmi

SitokromP450 oksidoredüktaz (POR), ilk defa 1950 yılında keşfedilmiş ve özgün bir sitokrom C redüktaz olarak adlandırılmıştır (C. H. Williams, Jr. ve Kamin, 1962). POR 82-kDa ağırlığında, 680 aminoasitten oluşan, membrana bağımlı bir flavoproteindir (Phillips ve Langdon, 1962; C. H. Williams, Jr. ve Kamin, 1962). POR, birçok ilaç ve steroidin metabolizmasında görevli CYP enzimlerine elektron transfer ederek enzimlerin aktivitesini göstermesine yardımcı olmaktadır (de Jonge ve ark., 2011; Gong ve ark., 2017). Mikrozomal CYP enzimleri, kataliz reaksiyonu için 2 elektrona ihtiyaç duymaktadır ve POR transfer edilen ilk elektron için tek elektron

vericisi olarak görev yapmaktadır (Bridges ve ark., 1998). Bu nedenle CYP aracılı oksidasyon reaksiyonları için büyük önem teşkil etmektedir.

POR geni 7. kromozom üzerinde yer almakta (7q11.2) ve 16 ekzondan oluşmaktadır (Gomes ve ark., 2008). Yüksek oranda polimorfizm gösteren, *POR* geninde kırktan fazla polimorfizm tanımlanmıştır (Hart ve Zhong, 2008). Bu polimorfizmlerden en sık görülen 12. ekzon, 503. konumda alanin aminoasidinin valin aminoasidine değişimine neden olan *POR**28 (rs1057868; C>T), tek nükleotid polimorfizmidir (Provenzani ve ark., 2013).

Zhang ve arkadaşları tarafından Çin popülasyonunda yapılan bir çalışmada *POR**28 polimorfizminin *POR* aktivitesini artırdığı tespit edilmiştir (H. F. Zhang ve ark., 2016). Bir başka çalışmada ise, *POR**28 TT genotipi taşıyan bireylerin, CC genotipe sahip bireyler ile kıyaslandığında CYP3A aktivitesinin 1,6 kat arttığı *in vivo* olarak gösterilmiştir (Oneda ve ark., 2009). Buna göre, *POR**28 varyantı taşıyan hastaların CYP3A5 ve CYP3A4 genotip profillerine bağlı olarak TKR doz ihtiyaçlarının artabileceği düşünülmektedir (de Jonge ve ark., 2011). Elens ve arkadaşları da yaptıkları çalışmada, TKR kullanan böbrek nakil hastalarında 3. aydan itibaren *POR**28/*28 genotipe sahip hastalar ile *1/*1 genotipe sahip arasında ihtiyaç duydukları TKR dozu bakımından anlamlı farklılık olduğunu tespit etmişlerdir. Benzer şekilde aynı çalışma grubu, nakil sonrası 6. ayda kan TKR düzeylerinin *1/*1 genotipe sahip hastalarda, *POR**28/*28 genotipe sahip hastalardan anlamlı olarak yüksek olduğunu tespit etmiştir (Elens ve ark., 2014)

*POR**28 polimorfizmi görülme sıklığı etnik gruplara göre çeşitlilik göstermektedir. Japonlarda %40, Beyaz ırkta 26,4 Afrika kökenli Amerikalılarda %19,1 ve Çinlilerde ise %37,5 sıklıkla görülmektedir (N. Huang ve ark., 2008; Pandey ve Sproll, 2014; Tanner ve ark., 2017). Çizelge 1.9'da *POR**28 alelinin farklı etnik popülasyonlardaki dağılımı sunulmuştur.

Çizelge 1.9. *POR*28* alelinin farklı popülasyonlarda dağılımı

Çalışma grubu	Popülasyon	Kişi sayısı	<i>POR*28</i> frekansı (%)	Kaynak
Asya	Çin	71	29,6	(J. J. Zhang ve ark., 2013)
Asya	Japonya	235	40	(Saito ve ark., 2011)
Afrika kökenli Amerikalı	Amerika	711	40	(Haiman ve ark., 2007)
Beyaz Irk	Hollanda	184	22	(Elens ve ark., 2014)
Beyaz Irk	Belçika	298	27,5	(de Jonge ve ark., 2011)
Beyaz Irk	Fransa	229	31	(Jannot ve ark., 2016)

Bu bilgiler ışığında; TKR'un dar terapötik pencereye sahip olması, advers etki potansiyelinin yüksek olması ve bireyler arasında doz ihtiyacı çeşitliliği göstermesi nedeniyle TKR tedavisinin bireyselleştirilmesi ihtiyacı ortaya çıkmaktadır. Bireysel TKR dozlarının belirlenmesinde terapötik ilaç izlemi yapılmasına rağmen bazı hastalar yüksek veya düşük TKR düzeylerine maruz kalmaktadır. Bu durum genotip temelli TKR doz belirlenmesi ihtiyacını ortaya koymaktadır.

Bu tez çalışmasının amacı TKR metabolizmasından sorumlu CYP3A5, CYP3A4 enzimlerini ve bu enzimlere elektron transferinden sorumlu *POR* enzimini kodlayan, sırasıyla *CYP3A5*, *CYP3A4* ve *POR* genlerindeki genetik farklılıkların nakil sonrası ilk yıl (10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylar) içinde, hastaların TKR doz ihtiyaçları ve TKR düzeyleri üzerine etkisinin araştırılmasıdır.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

50-100 bç DNA Ladder GeneRuler	: Thermo Fisher, ABD
Taq DNA polimeraz	: Ampliqon, Danimarka
Hücre Lizis Çözeltisi	: Promega, ABD
Nükleus Lizis Çözeltisi	: Promega, ABD
Protein Çöktürme Çözeltisi	: Promega, ABD
DNA Rehidratasyon Çözeltisi	: Promega, ABD
Nükleotid karışımı (dNTPs)	: Thermo Fisher
Etidyum Bromür	: Ambresco, ABD
Msp I kesim enzimi	: ThermoFisher, ABD
Ssp I kesim enzimi	: ThermoFisher, ABD
Dra III kesim enzimi	: New England Biolabs, ABD
Agaroz	: Prona, EU
Etilendiamin-tetra asetik asit (EDTA)	: Serva, Almanya
Borik asit	: Merck, Almanya
Tris-Base	: AppliChem, ABD
Akrilamid	: Alfa Aesar, ABD
Bis-Akrilamid	: Amresco, ABD
Sodyum hidroksit	: Labkim, EU
Hidroklorik asit	: Sigma, ABD
İzopropanol	: Sigma, ABD
Etanol	: Merck, Almanya
Primer dizileri	: Oligomer
Gümüş nitrat	: Merck, Almanya
Amonyum persülfat	: Merck, Almanya
Formaldehit	: Merck, Almanya

2.1.2. Kullanılan Cihazlar

Terazi	: Metler
Hassas terazi	: Sartorius
Otoklav	: SANYO, MAC-235 EX
Santrifüj	: Thermo IEC
Mini santrifüj	: Combi Spin
Vorteks	: Labinco L 46
Jel Görüntüleme Sistemi	: Vilber Lourmat Marne La Vallée
Applied Biosystems, Termal Cyclor	: Thermo Fisher
MultiskanGo UV/Vis Spektrofotometere	: Thermo Fisher
Mini-PROTEANTetra	: Biorad Vertical Electrophoresis Cell
Owl EasyCast B-Series	: Thermo Fisher Horizontal Gel Systems
Elektroforez Güç Kaynağı	: Consort E741
Mikrodalga Fırın	: Arçelik MD 551
pH Metre	: Mettler Toledo
Isı bloğu	: LAB-LINE
Manyetik karıştırıcı	: Heidolph, MR Hei-Standard
Platform çalkalayıcı	: Heidolph, Rotamax 120 orbital

2.1.3. Çalışma Planı ve Kan Numunelerinin Toplanması

Bu tez çalışması, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı ve Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı tarafından yürütülmüştür. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı polikliniğine başvurarak canlı veya kadavra vericiden böbrek transplantasyonu operasyonu geçirmiş, en az bir yıldır takrolimus kullanan üç yüz iki hastada gerçekleştirilmiştir. Çalışma, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul'u tarafından 05.09.2016 tarih ve Karar No: 14-661-16 karar numarası ile onay alınmıştır (EK-1). Hastalar bilgilendirilmiş onay formunu okuyup imzaladıktan sonra kan örnekleri alınmıştır (EK2-bilgilendirilmiş onam formu). Alınan kandan aynı gün içerisinde DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. DNA örnekleri analizlere kadar -80°C

derin dondurucuda saklanmıştır. Hastalara ait demografik ve klinik veriler (cinsiyet, yaş, kilo, boy, primer böbrek hastalığı, kullandıkları ilaç dozları ve 10. gün, 1. ay, 3. ay, 6. ay, 9. ay ve 12. aylardaki takrolimus kan düzeyleri, eşlik eden hastalıkları, vb.) Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı hasta muayene izleme formlarından elde edilmiştir. Hastaların belirtilen aylardaki TKR kan düzeyleri, klonlanmış enzim dönör immunoassay yöntemi (Qms tacrolimus immunoassay, Thermoscientific, Fremont, Calif., United States) ile tam kandan yapılan ölçümler ile elde edilmiş (Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İbn-i Sina Araştırma ve Uygulama Hastanesi Merkez Laboratuvarı Tıbbi Biyokimya birimi) ve hasta muayene izleme formlarına kaydedilmiştir.

2.1.4. Çalışma Grubu için Gerekli Kriterler

Dahil olma kriterleri:

- 1- 18 yaşından büyük olmak ve renal allograft almış olmak,
- 2- İlk veya ikinci kez kadavra veya yaşayan, hasta yakını olan/olmayan birinden böbrek almış olmak,
- 3- Karaciğer fonksiyonlarının normal olması,
- 4-Çalışmaya dahil olmak istediğini belirten bilgilendirmiş onam formunu okuyarak imzalamış olmak,

Dışlama kriterleri:

- 1- Birden fazla organ nakil edilmiş olan,
 - 2- Bir yıldan daha az süre ile takip edilmiş olan,
 - 3-Hastanın bir yıldan daha az süre ile takrolimus kullanıyor olması,
 - 4- Cerrahi bir nedenle operasyon sırasında greftlerini kaybeden,
 - 5- Dış merkezde transplantasyon yapılmış olan,
 - 6- CYP3A enzimlerini indükleyen, inhibe eden veya takrolimus ile etkileşen ilaç kullanmakta olan,
 - 7-Klinik kayıtları yetersiz olan,
- Hastalar çalışma dışı bırakılmıştır.

2.2. Yöntemler

2.2.1. Tam Kandan Genomik DNA İzolasyonu

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı polikliniğinde toplanan ve EDTA içeren tüplere alınan tam kan örnekleri, soğuk zincir ile aynı gün içerisinde Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Araştırma Laboratuvarına getirilerek bekletilmeden genomik DNA izolasyonu aşağıdaki basamaklar takip edilerek gerçekleştirilmiştir.

Kandan DNA izolasyonu için Promega izolasyon kiti kullanılmıştır.

1. İzolasyon öncesi, kan numunelerinin homojen olarak karışması sağlanmıştır. Bu amaçla 10 dakika rotatörde karıştırılmıştır.
2. Tam kandan alınan 500 µl'lik örnek, 2 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne aktarılmış ve üzerine 1200 µl hücre lizis çözeltisi ilave edilmiştir. Karışmanın etkin bir şekilde gerçekleşmesi amacıyla rotatörde 10 dk çevrilmiştir. Burada amaç lenfositlerin parçalanmasıdır.
3. Hücre lizis çözeltisi ile muamele edilen kan 14,000xg'de, 30 saniye, oda sıcaklığında santrifüj edilmiştir.
4. Santrifüj sonrası, tüpün dibinde net bir şekilde görülebilen lenfositlere zarar vermeden supernatant tüpten uzaklaştırılmıştır. Tüpte yaklaşık olarak 10-20 µl kan-hücre lizis çözeltisi karışımı ve pelletler bırakılmıştır.
5. Santrifüj tüpünün dibinde kalan lenfositlerin dağılması amacıyla 10-15 sn süreyle tüp vortekslenmiştir.
6. Vorteks sonrasında tüpe 500 µl nükleus lizis çözeltisi ilave edilmiştir. Lenfositlerin iyice parçalanması ve homojen bir karışım elde etmek için çözelti eklendikten sonra 5-6 kez pipetleme işleme yapılmıştır. Bu işlem sonrası karışımın viskoz bir hal aldığı görülmüştür.
7. Viskoz hale gelen nükleus içeren lizat üzerine 180 µl protein çöktürme çözeltisi ilave edilmiştir. Tüp 30 saniye süre ile vortekslenerek proteinler çökmeye hazır küçük pelletler haline getirilmiştir.

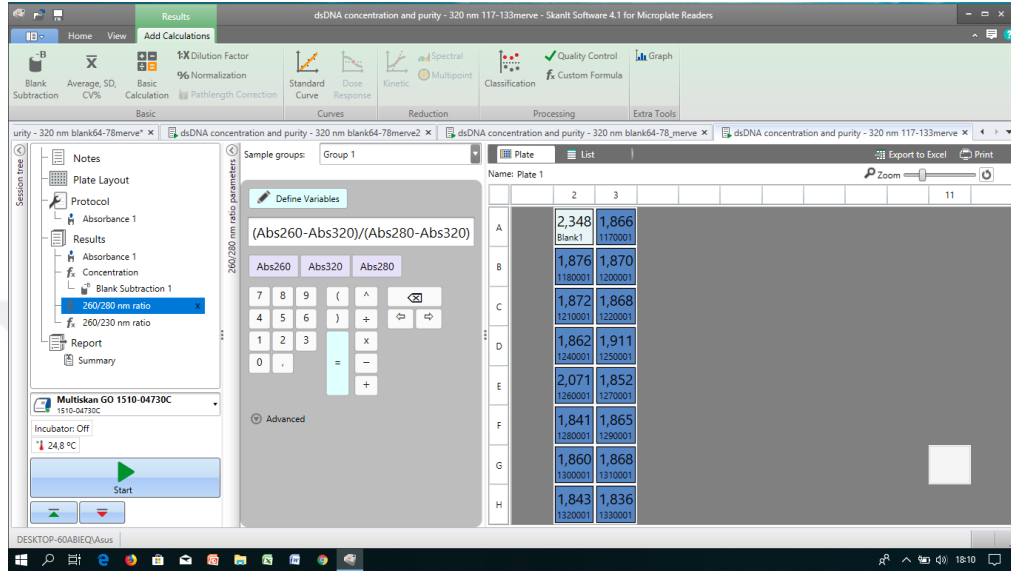
8. Proteinlerin çöktürülmesi amacıyla, 14,000xg'de sıcaklığında, 3 dakika süre ile santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlem sonrasında, protein pelletleri tüpün dibinde kahverengi çökelek şeklinde gözlenmiştir.
9. Çöken protein pelletleri yerinden oynatmamaya dikkat edilerek, supernatant temiz başka bir tüpe aktarılmış ve üzerine 1:1 oranda olacak şekilde izopropanol ilave edilmiştir. Kapağı kapatılan tüp yavaş ve dikkatli bir şekilde ters düz edilerek beyaz DNA iplikçığının oluşumu sağlanmıştır.
10. Elde edilen DNA'nın, tüpün dibine çökmesi amacıyla oda sıcaklığında 14,000xg'de 3 dakika santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlem sonrasında DNA beyaz pellet halinde tüpün dibinde gözle görülebilir şekilde çökmüştür.
11. Tüpün dibine çöken DNA'ya zarar vermeden ve yerinden oynatmadan supernatant uzaklaştırılmıştır. Kalan DNA üzerine 300 µl %70'lik etanol ilave edilmiştir. Tüp dikkatlice ters düz edilerek hem mikrosantrifüj tüpü hem de DNA pelleti temizlenmesi sağlanmıştır.
12. Temizleme işlemi sonrasında tüp tekrar oda sıcaklığında 14,000xg'de 3 dakika santrifüj edilmiştir. Tüpün dibine çöken DNA'ya zarar vermeden ve yerinden oynatmadan, etanol ortamdan uzaklaştırılmıştır. Tüp temiz bir filtre kâğıdı üzerine dikkatlice ters çevrilerek bırakılmış ve 15 dakika boyunca DNA pelletlerinin hava ile temas edip kuruması beklenmiştir.
13. Kuruma işlemi sonrasında DNA içeren tüpe 100-170 µl DNA rehidratasyon çözeltisi ilave edilmiştir. DNA'nın çözünmesi için tüp hafifçe çalkalanmış ve bir gece oda sıcaklığında bekletilmiştir. Sonrasında DNA örnekleri -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

2.2.2. DNA Saflık ve Miktar Tayini

İzole edilen DNA'ların saflıklarını ve miktarlarını kantitatif olarak tayin etmek ve için MultiSkanGo µDrop Plate kullanıldı. 100 µl DNA çözeltisinden, 3 µl alınarak, kuvarz tabaka üzerine yerleştirilerek, kör çözeltiye karşı 260 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı.

$$DNA \text{ concentration } (\mu g/ml) = Abs_{260} \times 50 \mu g/ml$$

Nükleik asitler proteinlerden farklı olarak, 280 nm dalga boyunda maksimum absorpsiyon vermektedir. Bu nedenle Abs260/Abs280 oranı numunenin protein kontaminasyonu hakkında bilgi vermektedir. Yüksek kalite ve saflıkta bir DNA örneği için bu oranın 1,8-2,0 arasında olması beklenmektedir.



Şekil 2.1. MultiSkanGo ile yapılan DNA saflık ve miktar tayini sırasında alınan ekran görüntü örneği

2.2.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ve Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RPUP) Optimizasyon Çalışmaları

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), kalıp bir DNA molekülü üzerinde, hedeflenen DNA bölgesinin, *forward* ve *reverse* primerler yardımı ile *Taq* DNA polimeraz enzimi varlığında, *in vitro* olarak çoğaltılması işlemidir (Garibyan ve Avashia, 2013).

Öncelikle hedeflenen gene ait mevcut biyoinformatik kaynaklardan yararlanarak gen dizilimi ve polimorfik bölge belirlenerek bu gen dizilimini amplifiye etmek için kullanılacak primerler tasarlanmıştır. Her bir polimorfizm için uygun PZR koşullarının belirlenmesi amacıyla primer % GC oranları ve T_m (*Melting temperature*, erime

sıcaklığı) değerleri hesaplanarak teorik olarak uygun yapışma ve denatürasyon sıcaklıkları hesaplanmıştır.

Çalışmamızda kullanılan primer dizileri aşağıdaki gibidir;

a) *POR*28* polimorfizmi tespiti için;

F: 5'- CATCAACAAGGGCGTGGCCAC-3'

R: 5'- GGGCCCACCATGATGACAGGC -3'

b) *CYP3A5*3* polimorfizmi tespiti için;

F: 5'- CATGACTTAGTAGACAGATGA -3'

R: 5'- GGTCCAAACAGGGAAGAAATA-3'

c) *CYP3A4*22* polimorfizmi tespiti için;

F: 5'- CTGAAGAGGAATCGGCTCTG-3'

R: 5'- TTTTACCATCCTTCCTCTATGC-3'

Primerler, liyofilize olarak, 25, 50, 100 nmol konsantrasyonlarda sentez ettirilmiştir. Saf su ile çözülerek (100 pmol/μl), stoklar şeklinde hazırlanıp -80° C'de muhafaza edilmiştir.

2.2.3.1. PZR Reaksiyon Şartları ve Optimizasyonu

Bir PZR şu bileşenleri değişen oranlarda içermektedir:

Kalıp DNA, *Taq* DNA polimeraz, 10x Amonyum tamponu, Magnezyum iyonu (Mg^{+2}) oligonükleotid primerler, serbest deoksiribonükleozid trifosfat karışımı (dNTPs), saf steril su.

PZR kurulurken olası pipetleme hatalarının önüne geçmek için öncelikle, *Taq* DNA polimeraz, 10x amonyum tamponu, magnezyum iyonu (Mg^{+2}) oligonükleotid primerler, serbest deoksiribonükleozid trifosfat karışımı (dNTPs), saf steril sudan oluşan bir karışım hazırlanır. Bu karışım her bir PZR tüpüne eşit miktarda dağıtılır ve her bir tüpe en son kalıp DNA eklenir.

Yukarıda belirtilen PZR bileşenleri, farklı konsantrasyon ve kombinasyonlarında denenerek, her bir polimorfizm için gereken en uygun PZR ortamı oluşturulmuştur. Çalışmanın bu basamağında amaç, hedeflenen gen bölgesinin temiz ve RPUP reaksiyonu için yeterli yoğunlukta çoğaltılmasıdır.

2.2.3.1.1. Magnezyum İyon (Mg^{+2}) Konsantrasyonu

Taq DNA Polimeraz enziminin aktivitesini gösterebilmesi için ortamda serbest halde bulunması gereken Mg^{+2} konsantrasyonu her bir reaksiyon için 0,50-2,5 mM aralığında denenmiştir. Ekstra bandın gözlenmediği ve en iyi ürünün elde edildiği konsantrasyonun *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22* ve *POR*28* genleri için; 1,20,1,20, 1,25 olduğuna karar verilmiştir.

2.2.3.1.2. dNTP konsantrasyonu

PZR reaksiyonun gerçekleşmesi sırasında; 0,15 mM, 0,175 mM, 0,2 mM, 0,225 mM olmak üzere farklı dNTP konsantrasyonları denenmiştir. Amplifikasyon için en uygun konsantrasyonun *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22* ve *POR*28* genleri için sırasıyla 0,15 mM, 0,2 mM ve 0,2 mM olduğuna karar verilmiştir.

2.2.3.1.3. Primer Konsantrasyonları

PZR reaksiyonları sırasında hedef bölgeyle tam olarak eşleşebilen *forward* ve *reverse* olmak üzere iki farklı primer dizilimi kullanılmıştır. Reaksiyon ortamındaki primer konsantrasyonun gereğinden fazla olması, primer-dimer oluşumlarının

gözlenmesine neden olabilirken, gereğinden az olması ise hedeflenen PZR ürünün elde edilememesi veya yeterli miktarda PZR ürün çoğalmasının gerçekleşmemesi ile sonuçlanmaktadır.

30 µl PZR reaksiyon karışımında denenmek üzere; 100 pmol/µl stok çözeltiden; 5, 7,5, 10, 15 pmol/µl konsantrasyonlarda primerler hazırlanmıştır. En iyi sonucun *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22* ve *POR*28* genleri; *forward* ve *reverse* primerlerin her biri için 10 pmol/µl konsantrasyonda alındığı gözlenmiştir.

2.2.3.1.4. DNA Konsantrasyonu

PZR karışımındaki kalıp DNA için; 50, 75, 100, 125, 150 ng/µl konsantrasyonlar denenmiştir. En iyi sonucun *CYP3A5*3* için 100 ng/µl, *CYP3A4*22* için 125 ng/µl ve *POR*28* için 125 ng/µl konsantrasyonda alındığı tespit edilmiştir. PZR reaksiyonu öncesi konsantrasyon ve saflıkları ölçülen DNA örneklerinin her biri yukarıda belirtilen miktarda PZR reaksiyon ortamında olacak şekilde seyreltilmiştir.

2.2.3.1.5. Taq DNA Polimeraz Konsantrasyonu

30 µl PZR reaksiyon karışımı için 0,50-1,5 ünite aralığında konsantrasyonlarda enzim kullanılarak reaksiyon kurulmuştur. Uygun PZR ürünü elde edilen *Taq* DNA polimeraz miktarı, *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22* ve *POR*28* genleri için sırasıyla; 0,75, 0,50 ve 0,75 ünite olarak belirlenmiştir.

2.2.3.2. PZR Programı ve Optimizasyonu

PZR temel olarak üç temel basamaktan oluşmaktadır. Bunlar; denatürasyon, bağlanma ve uzama basamaklarıdır. Bu basamaklarda uygulanan, sıcaklık, süre ve döngü sayısı hedef PZR ürünü elde edilmesinde oldukça önemlidir. Her bir polimorfizm için, parametrelerin optimizasyonu amacıyla yapılan çalışmalar ve sonuçları aşağıda açıklanmıştır.

2.2.3.2.1. Başlangıç Denatürasyon Sıcaklığı

Bu sıcaklık, kalıp DNA'nın her iki sarmalını birbirinden ayırmak üzere uygulanmaktadır. Bunun için 92-97°C arasındaki sıcaklıklar denendiğinde *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22* ve *POR*28* genleri için en uygun başlangıç denatürasyon sıcaklıklarının sırasıyla; 94°C, 94°C ve 95°C olduğu tespit edilmiştir.

2.2.3.2.2. Bağlanma Sıcaklığı (Annealing)

Primerlerin, genomik DNA üzerindeki hedef bölgelerini tanıması ve bağlanması için uygulanmaktadır. Primer erime sıcaklığı, primer dizilimi, G/C içeriği ve primer konsantrasyonuna bağlı olarak, ara yüzlerde teorik olarak hesaplanmıştır. Laboratuvarında uygulama sırasında teorik olarak hesaplanan bu sıcaklıkların 1-2°C altından başlanarak her bir polimorfizm için gradient PZR kurulmuştur. Yapılan optimizasyon çalışmalarında en uygun bağlanma sıcaklıkları; *CYP3A5*3* için; 55°C, *CYP3A4*22* için 63°C ve *POR*28* için 64°C olarak bulunmuştur.

2.2.3.2.3. Uzama ve Son Uzama Sıcaklıkları

Bu iki işlemde, birleşen primerler ve kalıp DNA zinciri, Taq DNA polimeraz yardımı ile kapanarak uzamaya ve yeni DNA molekülleri oluşmaktadır. *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22* ve *POR*28* için bu sıcaklık, uzama ve son uzama basamaklarında 72°C'dir.

2.2.3.2.4. Sıcaklık Süresi

Başlangıç denatürasyon süresi her bir bölge için 3-5 dakika arasında değişen sürelerde denenmiştir. En uygun denatürasyon süreleri; *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22* ve *POR*28* için sırasıyla: 5 dk, 3 dk ve 3 dk olarak tespit edilmiştir.

İkinci denatürasyon süresi 30 saniye, 45 saniye, 1 dakika, 1,5 dakika denenmiş ve en uygun denatürasyon sürelerinin *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22* ve *POR*28* genleri için sırasıyla; 30 saniye, 1 dakika ve 1 dakika olduğu gözlenmiştir.

Bağlanma süreleri, primerlerin GC içeriğine göre hesaplanmıştır; ideal bağlanma süreleri *CYP3A5*3* için 30 saniye, *CYP3A4*22* ve *POR*28* genleri için 45'er saniye olarak tespit edilmiştir.

Uzama süreleri; *CYP3A5*3* için 30 saniye, *CYP3A4*22* ve *POR*28* genleri için 45'er saniye olarak tespit edilmiştir.

Son uzama süreleri; *CYP3A5*3* için 10 dakika, *CYP3A4*22* ve *POR*28* genleri için 5'er dakika olarak tespit edilmiştir.

2.2.3.2.5. Döngü Sayısı

Analizler sırasında PZR ürün amplifikasyonu için uygun döngü sayısını bulmak amacıyla her bir polimorfizm için 25, 30, 35 sayıda döngü denenmiştir. İdeal döngü sayıları *CYP3A5*3* ve *CYP3A4*22* için 35'er ve *POR*28* için 30 olarak bulunmuştur.

2.2.4. PZR Ürünlerinin Jel Elektrophorez ile Görüntülenmesine Yönelik Optimizasyon Çalışmaları

PZR ürünleri, poliakrilamid jel elektrophorez (PAJE) ile yürütülerek hedef PZR ürünün amplifikasyonu tespit edilmiştir. Poliakrilamid jel; %30 akrilamid-bisakrilamid çözeltisi, Tris-Borat-EDTA tamponu, bidistile su ve polimerizasyon başlatıcı, TEMED ve %10 amonyum persülfat çözeltisi kullanılarak hazırlanmıştır.

İhtiyaç duyulan ayırıştırma gücüne göre, akrilamid-bisakrilamid konsantrasyonu değiştirilerek farklı yoğunlukta jel konsantrasyonları denenmiştir. Hazırlanan jel çözeltisi polimerleşmeye fırsat vermeden, hemen 1mm cam aralığı bulunan iki cam tabaka arasında konularak üst kısmına kuyucukların oluşması için istenilen boyutta bir tarak yerleştirilmiş ve oda sıcaklığında donmaya bırakılmıştır. Jelleşmenin tamamlanmasını takiben bu cam kasetler elektroforez tankına yerleştirilmiştir. Plastik tarakların oluşturduğu kuyucuklara örnekler uygulanarak, istenilen şartlarda elektroforez gerçekleştirilmiştir.

2.2.4.1. Uygun Poliakrilamid Jel Konsantrasyonun Belirlenmesi

PZR ürünlerinin görüntülenmesi amacıyla poliakrilamid jel; %8, %10 ve %12 konsantrasyonlarda hazırlanmıştır. *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22* ve *POR*28* genlerinin amplifikasyon ürünlerini görüntülemek için %10 jel konsantrasyonun uygun olduğu tespit edilmiştir.

2.2.4.2. Uygun PZR Ürün Miktarının Belirlenmesi

PZR ürünlerinin tespit edilmesinde 5, 7,5, 10, 12,5, 15 µl miktarları jele yüklenmiştir. *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22* ve *POR*28* genleri için jele yüklenmesi gereken uygun miktarının sırasıyla 5 µl, 5 µl ve 7,5 µl olduğu tespit edilmiştir.

2.2.4.3. PZR Ürünlerinin Yürütülmesi İçin Uygun Volt, Amper ve Sürenin Belirlenmesi

PZR ürünlerinin jel elektroforezde yürütülmesi sırasında test edilen volt, amper ve yürütme süresi değerleri aşağıdaki gibidir;

Volt: 75, 100, 125, 150, 200 V

Amper: 0,5, 0,8, 1 mA

Süre: 30, 40, 50, 60 dakika

Bu değerler arasında yapılan kombinasyon sonucunda;

*CYP3A5*3* geni PZR ürünü için en iyi sonucun 120 V, 0,5 mA ve 45 dakikada olduğu gözlenmiştir.

*CYP3A4*22* geni PZR ürünü için 120 V, 0,5 mA ve 45 dakikada olduğu gözlenmiştir. *POR*28* geni PZR ürünü için 120 V, 0,5 mA ve 50 dakikada olduğu gözlenmiştir.

2.2.5. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RPUP) Optimizasyon Çalışmaları

Yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda, elde edilen PZR ürünleri her bölge için spesifik kesim enzimleri ile muamele edilmektedir. Kesim enzimlerinin özgün tanıma bölgeleri ve çalışmaları için uygun bir ortam sıcaklığı bulunmaktadır. Uygun şartlar sağlandığında kesim enzimi DNA'nın her iki zinciri birden kesmekte, farklı uzunlukta DNA parçaları oluşturmaktadırlar.

RPUP reaksiyonun optimizasyonunda kullanılan PZR ürün miktarı, restriksiyon enzim miktarı, uygun çalışma sıcaklığı ve inkübasyon süresinin ayarlanması gerekmektedir. *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22* ve *POR*28* genlerinin değişim olan bölgeleri, uygun kesim enzimleri ve bu enzimlerin tanıma bölgeleri çizelge 2.1.' de sunulmuştur.

2.2.5.1. PZR Ürün Miktarı

Jel elektroforezde görüntülenen PZR ürün şiddeti dikkate alınarak RPUP reaksiyonu için gerekli PZR ürün miktarına karar verilmiştir. 10 µl reaksiyon ortamında; şiddeti yeterli bantlar elde etmek için 5-8,5 µl arasındaki PZR ürün miktarı denenmiştir. PZR ürün şiddeti az olan ürünler için ise; 17 µl seçilmiş ve reaksiyon ortamı hacmi 20 µl'ye çıkarılmıştır. Bu uygulama, *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22* ve *POR*28* PZR ürünlerinin her üçü için de kullanılmıştır. PZR ürün miktarı yeterli olan örneklerde *CYP3A5*3* için 5 µl, *CYP3A4*22* için 8,5 µl, *POR*28* için 8,5 µl PZR ürünü kullanılarak RPUP reaksiyonu kurulmuştur.

2.2.5.2. Restriksiyon Enzim Miktarı

RPUP ürünlerini elde etmek üzere PZR ürünleri 5, 10, 15 ünite (U) konsantrasyonlarında enzim ile muamele edilmiştir.

*CYP3A5*3* için *Ssp* I, *CYP3A4*22* için *Dra* III, *POR*28* için *Msp* I kesim enzimleri kullanılmıştır. PZR ürünlerini kesmek üzere *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22* ve *POR*28* genleri için sırasıyla; 2,5 U *Ssp* I, 5 U *Dra* III ve 5 U *Msp* I kesim enziminin yeterli olduğu gözlenmiştir. PZR ürün miktarı yetersiz olan ürünlerde, yukarıda açıklandığı şekilde hem PZR ürün miktarı hem de enzim miktarı artırılarak düzenlemeler yapılmıştır.

2.2.5.3. İnkübasyon Süresi

Hazırlanan örnekler 2 saat, 4 saat, 6 saat ve 12 saat kesim enzimi ile muamele edilmiştir. Kesim reaksiyonu inkübasyon süresinin *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22* ve *POR*28* genleri için sırasıyla; 6 saat, 6 saat ve 4 saat olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 2.1. *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22* ve *POR*28* genetik polimorfizmleri için kullanılan kesim enzimleri ve tanıma bölgeleri

Genetik polimorfizm	Kesim enzimi	Tanıma bölgesi
<i>CYP3A5*3</i>	<i>Ssp</i> I	5' AAT↓ATT3' 3' TTA↑TAA5'
<i>CYP3A4*22</i>	<i>Dra</i> III	5' CACNNN↓GTG 3' 3' GTG↑NNNCAC 5'
<i>POR*28</i>	<i>Msp</i> I	5' C↓CGG 3' 3' GGC↑C 5'

2.2.6. RPUP Ürünlerinin Jel Elektrofrez ile Görüntülenmesine Yönelik Optimizasyon Çalışmaları

RPUP ürünleri poliakrilamid jel elektrofrez (PAJE) ile yürütülerek *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22*, *POR*28* için her bir örneğin genotip durumu tespit edilmiştir. RPUP ürünlerinin tespit edilmesinde uygun poliakrilamid jel hazırlanması “2.2.4. PZR

Ürünlerinin Jel Elektroforez ile Görüntülenmesine Yönelik Optimizasyon çalışmaları” başlığında açıklandığı şekilde gerçekleştirilmiştir.

2.2.6.1. Uygun Poliakrilamid Jel Konsantrasyonun Belirlenmesi

RPUP ürünlerinin tespit edilmesi için poliakrilamid jel konsantrasyonu %8, %10 ve %12 olarak denenmiştir. Çalışmanın hassasiyetinin yüksek olması ve düşük baz çiftine sahip bölgelerin de görüntülenebilmesi için *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22* ve *POR*28* polimorfizmlerinin tespitinde %10 jel konsantrasyonun yeterli olduğu tespit edilmiştir.

2.2.6.2. Uygun RPUP Ürün Miktarının Belirlenmesi

5, 7,5 ve 10 µl ürün miktarları denenmiştir ve görüntüleme için uygun miktarın 7,5 µl olduğu tespit edilmiştir.

RPUP ürünlerinin tespit edilmesinde 5, 7,5, 10, 12,5, 15 µl ürün jele yüklenmiştir. *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22* ve *POR*28* genleri için jele yüklenmesi gereken uygun miktarının sırasıyla 7,5 µl, 7,5 µl ve 8 µl olduğu tespit edilmiştir.

2.2.6.3. RPUP Ürünlerinin Belirlenmesinde Uygulanacak Volt, Amper ve Yürütme Süresinin Belirlenmesi

PZR ürünlerinin jel elektroforezde yürütülmesi sırasında test edilen volt, amper ve yürütme süresi değerleri aşağıdaki gibidir;

Volt: 75, 100, 120, 150, 200 V

Amper: 0,5, 0,8, 1 mA

Süre: 30, 40, 50, 60, 70 dakika

Bu değerler arasında yapılan kombinasyon sonucunda;

*CYP3A5*3* geni RPUP ürünü için en iyi sonucun 120 V, 0,5 mA ve 50 dakikada olduğu gözlenmiştir.

*CYP3A4*22* geni RPUP ürünü için 120 V, 0,5 mA ve 50 dakikada olduğu gözlenmiştir.

*POR*28* geni RPUP ürünü için 120 V, 0,5 mA ve 60 dakikada olduğu gözlenmiştir.

2.2.7. Yapılan PZR-RPUP Analizleri, Optimizasyon Çalışmalarının Özeti

2.2.7.1. CYP3A5*3, rs776746, 6986 A>G

CYP3A5*3 polimorfizminin belirlenmesine yönelik yapılan optimizasyon çalışmaları sonrasında en iyi sonucun elde edildiği PZR ve RPUP reaksiyon şartlarına ait sonuçlar aşağıda özet olarak sunulmuştur.

Çizelge 2.2. CYP3A5*3 polimorfizmi PZR bileşenleri ve reaksiyonda kullanılan miktarları

Reaksiyon bileşenleri	Başlangıç konsantrasyonu	Bir reaksiyonda kullanılan bileşen miktarı (µl)
Taq Tamponu	10 X	3
Magnezyum	25 mM	1,20
dNTP karışımı	10 mM	3
Primerler (Forward-Reverse)	100 pmol	1-1 (10 pmol)
Taq DNA Polimeraz	5U/µl	0,15
DNA	-	3
Su	-	*
Toplam hacim	-	30

Çizelge 2.3. CYP3A5*3 polimorfizmi PZR ürünü amplifikasyon sıcaklık, süre ve döngü koşulları

İşlem	Sıcaklık ve süre	Döngü sayısı
İlk denatürasyon	94°C, 5 dakika	1
Denatürasyon	94°C, 30 saniye	35
Bağlanma	55°C, 30 saniye	
Uzama	72°C, 30 saniye	
Son uzama	72°C, 10 dakika	1

Çizelge 2.4. CYP3A5*3 polimorfizmi RPUP reaksiyon bileşenleri ve reaksiyonda kullanılan miktarları

Reaksiyon bileşenleri	Başlangıç konsantrasyonu	Bir reaksiyonda kullanılan bileşen miktarı (µl)
PZR ürünü	-	5
Kesim enzimi tamponu	10 X	1
Kesim enzimi (Ssp I)	10U/ µl	0,25
Su	-	*
Toplam hacim	-	10

2.2.7.2. CYP3A4*22, rs35599367, C>T

CYP3A4*22 polimorfizminin belirlenmesine yönelik yapılan optimizasyon çalışmaları sonrasında en iyi sonucun elde edildiği PZR ve RPUP reaksiyon şartlarına ait sonuçlar aşağıda özet olarak sunulmuştur.

Çizelge 2.5. CYP3A4*22 polimorfizmi PZR bileşenleri ve reaksiyonda kullanılan miktarları

Reaksiyon bileşenleri	Başlangıç konsantrasyonu	Bir reaksiyonda kullanılan bileşen miktarı (µl)
Taq Tamponu	10 X	3
Magnezyum	25 mM	1,20
dNTP karışımı	10 mM	3
Primerler (Forward-Reverse)	100 pmol	0,55-0,55 (10 pmol)
Taq DNA Polimeraz	5U/ µl	0,10
DNA		4
Su		*
Toplam hacim		30

Çizelge 2.6. CYP3A4*22 polimorfizmi PZR ürünü amplifikasyon sıcaklık, süre ve döngü koşulları

İşlem	Sıcaklık ve süre	Döngü sayısı
İlk denatürasyon	94°C, 3 dakika	1
Denatürasyon	94°C, 1 dakika	35
Bağlanma	63°C, 45 saniye	
Uzama	72°C, 45 saniye	
Son uzama	72°C, 5 dakika	1

Çizelge 2.7. CYP3A4*22 polimorfizmi RPUP reaksiyon bileşenleri ve reaksiyonda kullanılan miktarları

Reaksiyon bileşenleri	Başlangıç konsantrasyonu	Bir reaksiyonda kullanılan bileşen miktarı (µl)
PZR ürünü	-	8,5
Kesim enzimi tamponu	10 X	1
Kesim enzimi (Dra III)	10U/ µl	0,5
Su	-	*
Toplam hacim		10

2.2.7.3. *POR*28* Polimorfizmi rs1057868; C>T

*POR*28* polimorfizminin belirlenmesine yönelik yapılan optimizasyon çalışmaları sonrasında en iyi sonucun elde edildiği PZR ve RPUP reaksiyon şartlarına ait sonuçlar aşağıda özet olarak sunulmuştur.

Çizelge 2.8. *POR*28* polimorfizmi PZR bileşenleri ve reaksiyonda kullanılan miktarları

Reaksiyon bileşenleri	Başlangıç konsantrasyonu	Bir reaksiyonda kullanılan bileşen miktarı (µl)
<i>Taq</i> Tamponu	10 X	2,5
Magnezyum	25 mM	1,25
dNTP karışımı	10 mM	3
Primerler (Forward-Reverse)	100 pmol	1-1 (10 pmol)
<i>Taq</i> DNA Polimeraz	5U/µl	0,125
DNA		3
Su		*
Toplam hacim		30

Çizelge 2.9. *POR*28* polimorfizmi PZR ürünü amplifikasyon sıcaklık, süre ve döngü koşulları

İşlem	Sıcaklık ve süre	Döngü sayısı
İlk denatürasyon	95°C, 3 dakika	1
Denatürasyon	94°C, 30 saniye	30
Bağlanma	64°C, 45 saniye	
Uzama	72°C, 45 saniye	
Son uzama	72°C, 5 dakika	1

Çizelge 2.10. *POR*28* polimorfizmi RPUP reaksiyon bileşenleri ve reaksiyonda kullanılan miktarları

Reaksiyon bileşenleri	Başlangıç konsantrasyonu	Bir reaksiyonda kullanılan bileşen miktarı (µl)
PZR ürünü	-	8,5
Kesim enzimi tamponu	10 X	1
Kesim enzimi (<i>Msp</i> I)	10U/ µl	0,5
Su	-	*
Toplam hacim		10

Çizelge 2.11.'de *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22* ve *POR*28* genetik polimorfizmlerine ait referans tek nükleotit polimorfizmi numaraları ve bulundukları konumlar özet olarak sunulmuştur.

Çizelge 2.11. *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22* ve *POR*28* genetik polimorfizmleri ve referans TNP numaraları ve bulundukları konumlar

Genetik polimorfizm	TNP numarası	Bulunduğu konum
<i>CYP3A5*3</i>	rs776746	chr7:99672916, intron 3
<i>CYP3A4*22</i>	rs35599367	chr7:99768693, intron 6
<i>POR*28</i>	rs1057868	chr7:75985688, ekzon12

Çizelge 2.12.'de *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22* ve *POR*28* genetik polimorfizmleri için RPUP reaksiyonlarında kullanılan kesim enzimleri, oluşan kesim ürünleri ve polimorfizm sonucu değişim gösteren aleller özet olarak birarada sunulmuştur.

Çizelge 2.12. *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22* ve *POR*28* genetik polimorfizmleri için kullanılan kesim enzimleri, oluşan kesim ürünleri ve değişim gösteren aleller

Genetik polimorfizm	PZR ürünü	Kesim enzimi	Kesim ürünü	Değişim gösteren alel
<i>CYP3A5*3</i>	293 bç	<i>Ssp</i> I	148-125-20 bç 168-125 bç	A G
<i>CYP3A4*22</i>	397 bç	<i>Dra</i> III	397 bç 243-154 bç	C T
<i>POR*28</i>	147 bç	<i>Msp</i> I	147 bç 99-48 bç	T C

2.2.8. İstatistiksel Analiz

Bu tez çalışmasında; hastalardan genotipleme sonucu elde edilen verilerin ve klinik-demografik verilerin istatistiksel analizi için SPSS (*Statistical Packages of Social Sciences, SPSS for Windows, Version 23.0, Chicago, IC, USA*), GraphPad Prism 5 (*Prism version 5.00 for Windows, GraphPad Software, La Jolla California, USA*) programı kullanılmıştır. Shapiro-Wilk testi ile verilerin normal dağılımı test edilmiştir. Çalışmaya katılan hastaların genotip sayılarının Hardy-Weinberg Dengesine (HWE) uygun olma durumu test edilmiştir. Gözlenen ve beklenen değerler arasındaki farkı test etmek için, elde edilen genotipleme verilerine ki-kare testi uygulanmıştır.

Araştırılan TNP'lerin HWE dengesinden sapma gösterdiği p değeri $\leq 0,05$ olduğunda kabul edilmiştir. Kategorik değişkenlerin birbiri ile kıyaslanmasında Pearson Ki-kare, örnek sayısının yetersiz olduğu durumlarda ise Fisher's Exact testleri kullanılmıştır. Sürekli değişkenlerin kıyaslanmasında ise *Mann-Whitney U* veya *Kruskal-Wallis* testleri kullanılmıştır. İstatistiksel olarak önemli sonuç bulunduğunda, hangi grupların birbirlerinden farklı olduğunu belirlemek için parametrik olmayan çoklu karşılaştırma testleri kullanılmıştır. Etki ve sonuç değişkenleri arasındaki ilişkiyi değerlendirmek üzere lojistik regerasyon analizi ve olasılıklar oranı kullanılmış, değişkenler %95 güven düzeyinde analiz edilmiştir.



3. BULGULAR

3.1. Çalışmaya Katılan Hastalara Ait Demografik ve Klinik Veriler

Çalışmaya dâhil edilen hastalara ait demografik ve klinik veriler aşağıda Çizelge 3.1.'de sunulmuştur. Kategorik değişkenler yüzde, sürekli değişkenler ise ortalama±standart sapma olarak sunulmuştur.



Çizelge 3.1. Çalışmaya katılan hastalara ait, demografik ve klinik veriler

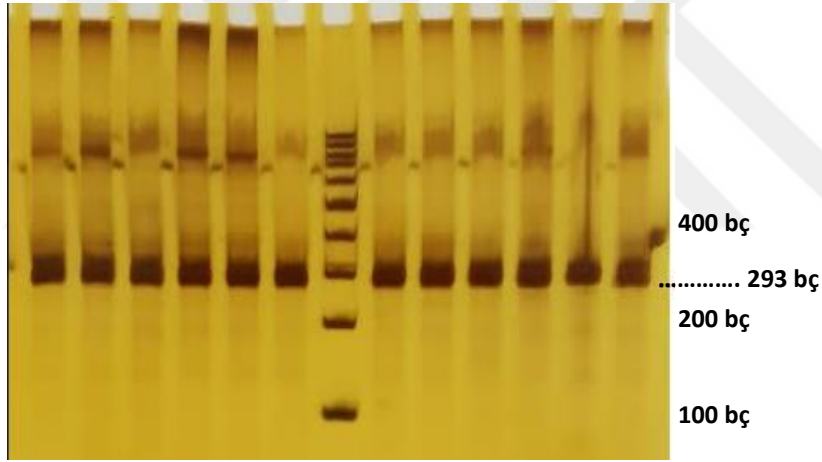
Demografik ve Klinik parametreler	Tüm hastalar
Hasta sayısı, n	302
Cinsiyet, n (%)	
Kadın	130 (43,05)
Erkek	172 (56,95)
Yaş, yıl	37,83±10,77
Kilo, kg	64,97±12,55
Vücut kitle indeksi, kg/m ²	23,37±3,57
Verici tipi, n (%)	
Canlı	238 (78,81)
Kadavra	64 (21,19)
Primer böbrek hastalığı, n (%)	
Kronik glomerulonefrit	55 (18,21)
Polikistik böbrek hastalığı	18 (5,96)
Diabetik nefropati	26 (8,61)
Hipertansif nefropati	29 (9,60)
Amiloidoz	24 (7,95)
VUR nefropatisi	19 (6,29)
Pyelonefrit	7 (2,32)
Diğer	26 (8,61)
Bilinmeyen	98 (32,45)
Hospitalizasyon süresi, gün	10,93±4,11
Renal replasman tedavisi n (%)	
Hemodiyaliz	176 (58,29)
Periton diyalizi	20 (6,62)
Pre-emptif	106 (35,09)
Rejeksiyon n (%)	
Yok	288 (96,36)
Var	14 (4,64)
İndüksiyon tedavisi n (%)	
Yok	134 (44,37)
Basiliksimab	121 (40,06)
Antilenfosit globülin (ATG)	41 (13,58)
Daklizumab	6 (1,98)
Gecikmiş greft fonksiyonu n (%)	
Var	24 (7,95)
Yok	278 (92,05)
eGFR, (ml/dk/1,73m ²)	
Gün 10	61,40 (45,96-78,72)
Ay 12	68,17 (57,35-81,83)

3.2. CYP3A5 Geni, rs776746, CYP3A5*3 Polimorfizmine Ait Bulgular

3.2.1. PZR ve RPUP Ürünlerinin Tespit Edilmesine İlişkin Bulgular

3.2.1.1. CYP3A5 Geni, rs776746, PZR Ürünlerinin Tespit Edilmesi

CYP3A5*3 polimorfizminin tespit edilmesine yönelik gerçekleştirilen çalışmalarda PZR ürünlerine ait aşağıdaki jel görüntüsü elde edilmiştir. Bu görüntüde PZR ürünlerinin ayırt edilmesinde 100 baz çiftlik marker kullanılmıştır. PZR ürünü 293 baz çifti olarak görüntülenmiştir. Şekil 3.1’de bazı hastalara ait CYP3A5*3 polimorfizmi için elde edilen PZR ürünün poliakrilamid jel elektroforez görüntüsü sunulmuştur.



Şekil 3.1. Bazı hastalara ait CYP3A5*3 polimorfizmi için elde edilen PZR ürünün poliakrilamid jel elektroforez görüntüsü

3.2.1.2. CYP3A5 Geni, rs776746, RPUP Ürünlerinin Tespit Edilmesi

Hastaların genotiplerinin aydınlatılmasına yönelik gerçekleştirilen RPUP reaksiyonu sonrasında elde edilen ürünlere ait aşağıdaki jel görüntüsü örneği elde edilmiştir. RPUP reaksiyon sonuçlarına göre; *1/*1 genotipine sahip bireyler, 148-125 bp uzunluğunda 2 bant şeklinde, *1/*3 genotipine sahip bireyler 168-148-125 bp uzunluğunda 3 bant şeklinde ve *3/*3 genotipine sahip bireyler 168-125 bp

uzunluğunda 2 bant şeklinde görüntülenmiştir. Şekil 3.2.'de bazı hastalara ait *CYP3A5**3 polimorfizmi için elde edilen RPUP ürünlerinin ve 50 baz çiftlik markerın uygulandığı örnek poliakrilamid jel elektroforez görüntüsü sunulmuştur.

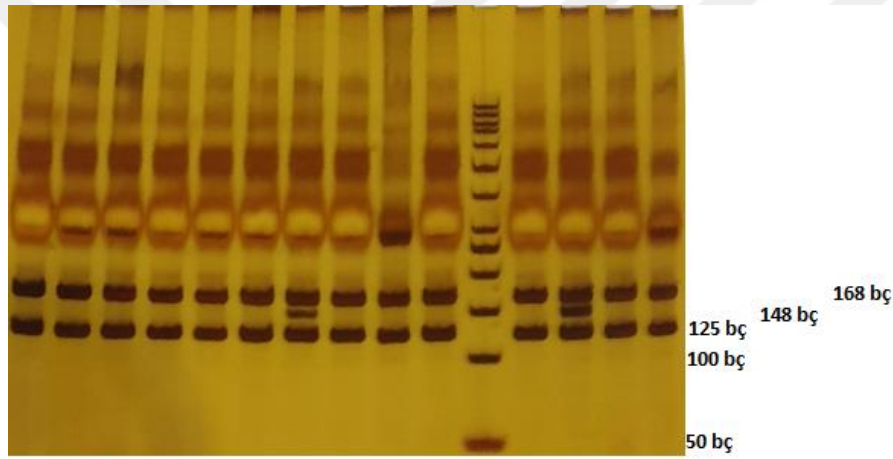
PZR ürünü: 293 baz çifti

RPUP ürünü:

AA, *1/*1: 148-125 bç

AG, *1/*3: 168-148-125 bç

GG, *3/*3: 168-125 bç



Şekil 3.2. Bazı hastalara ait *CYP3A5**3 polimorfizmi için elde edilen RPUP ürünlerinin poliakrilamid jel elektroforez görüntüsü

3.2.2. *CYP3A5* Geni, Genotip-Alel Frekansları ve Hardy-Weinberg Dengesi Sonuçları

Bu tez çalışmasına dahil edilen bireylerin sayılarının Hardy-Weinberg dengesi test edilmiş, genotip ve alel frekansları hesaplanmıştır. Çalışma grubundaki her TNP için gerçekleştirilen Hardy-Weinberg dengesi testlerinin değerlendirilmesinde ki-kare testi uygulanmıştır. *CYP3A5* geni için yapılan Hardy-Weinberg dengesi testleri sonuçları Çizelge 3.2.'de sunulmuştur. *CYP3A5* geni için gözlenen değerler ile beklenen değerlerin birbirine uygun olduğu ve Hardy-Weinberg dengesinde oldukları tespit edilmiştir ($p>0,05$). *CYP3A5**1/*1 genotipe sahip sadece bir kişi bulunması

nedeniyle, heterozigot grup ile birleştirilerek *CYP3A5*1* aleli taşıyan ve *CYP3A5*3/*3* genotipe sahip hastalar arasında karşılaştırma yapılmıştır.

Çizelge 3.2. *CYP3A5*3* genetik polimorfizmi genotip ve alel frekans, Hardy-weinberg dengesi testi sonuçları

Gen bölgesi	Genotip	Gözlenen (%)	Beklenen	Alel frekansı (%)	χ^2	<i>p</i>
<i>CYP3A5*3</i>	<i>*3/*3</i>	259 (85,7)	259,6	<i>*3</i> : 560 (92,72)	0,26	0,61
	<i>*1/*3</i>	42 (13,9)	40,8			
	<i>*1/*1</i>	1 (0,33)	1,6	<i>*1</i> : 44 (7,28)		
Toplam		302	302			

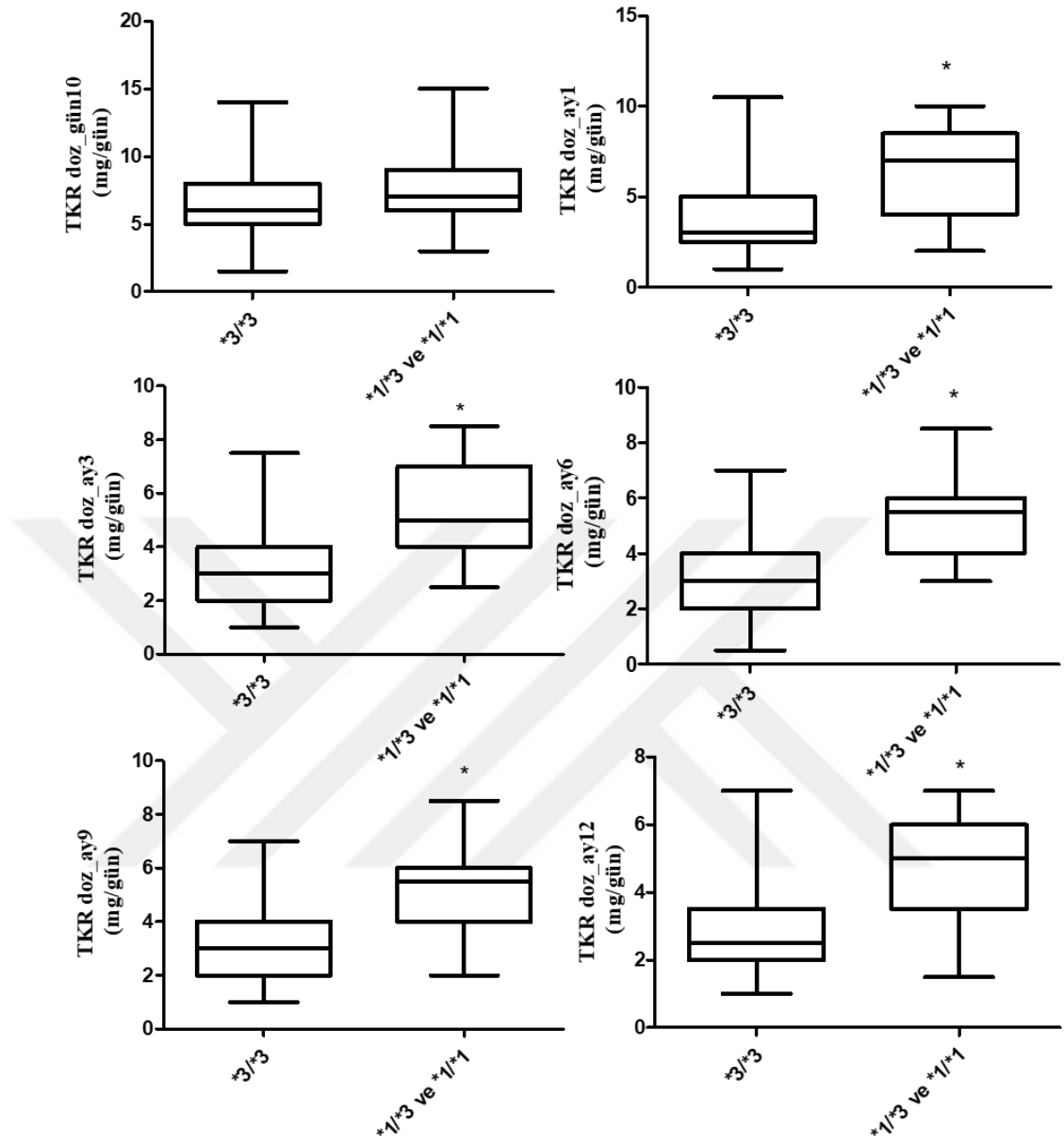
3.2.3. *CYP3A5* Geni rs776746, Genotip Sonuçları ve Hastaların Kullandıkları TKR Dozlarının İlişkisi

Hastaların nakil sonrası 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları TKR dozları *CYP3A5*3/*3* ve *CYP3A5*1* aleli taşıyan (*CYP3A5*1/*3* ve *CYP3A5*1/*1*) hasta grupları arasında kıyaslanmıştır. Yapılan *Mann-Whitney U* testi analiz sonuçları Çizelge 3.3.'te sunulmuştur. Analiz sonuçlarına göre nakil sonrası 10. günde *CYP3A5*3/*3* ve *CYP3A5*1* aleli taşıyan grupları arasında kullanılan TKR dozları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık tespit edilmemiştir ($p=0,156$). Ancak, *CYP3A5*3/*3* ve *CYP3A5*1* aleli taşıyan genotip gruplarının 1. ay, 3. ay, 6. ay, 9. ay ve 12. ayda kullandıkları TKR dozları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0.05$).

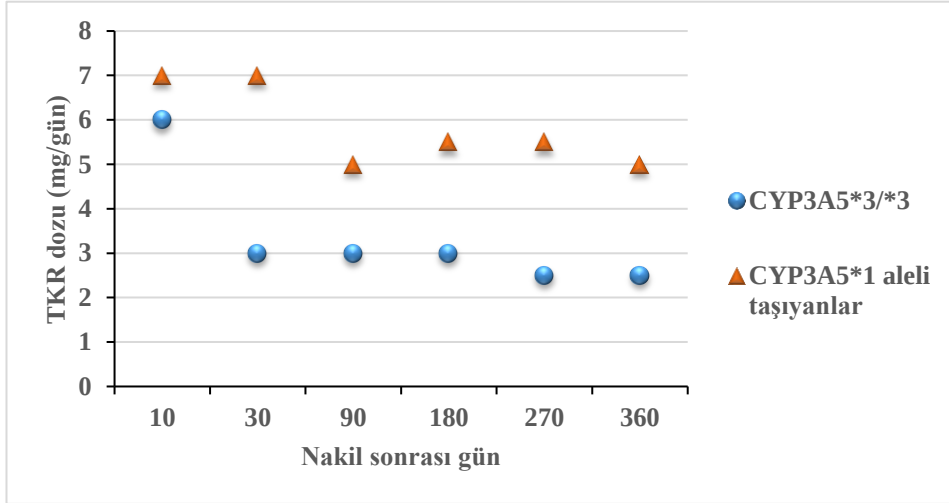
Çizelge 3.3. CYP3A5*3 genetik polimorfizmi ve hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları günlük TKR dozlarının ilişkisi

Günlük TKR dozu (mg/gün)	CYP3A5*3/*3 genotipe sahip hastalar N=259	CYP3A5*1 aleli taşıyan hastalar N=43	p
TKR dozu gün 10	6,00 (5,00-8,00)	7,00 (6,00-9,00)	p=0,156
TKR dozu ay 1	3,00 (2,50-5,00)	7,00 (4,00-8,50)	p<0,0001
TKR dozu ay 3	3,00 (2,00-4,00)	5,00 (4,00-7,00)	p<0,0001
TKR dozu ay 6	3,00 (2,00-4,00)	5,50 (4,00-6,00)	p<0,0001
TKR dozu ay 9	3,00 (2,00-4,00)	5,50 (4,00-6,00)	p<0,0001
TKR dozu ay 12	2,50 (2,00-3,50)	5,00 (3,50-6,00)	p<0,0001
Total	3,00 (2,00-4,50)	6,00 (4,00-7,00)	p<0,0001

Çizelge 3.3.'te kullanılan TKR dozları ortanca (çeyrekler arası dağılım genişliği) olarak sunulmuştur. Hastaların kullandıkları ortanca TKR dozları incelendiğinde, nakil sonrası 10. günde gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık görülmezken, 1. aydan itibaren 12 ay boyunca CYP3A5*1 aleli taşıyan hastalar, CYP3A5*3/*3 genotipe sahip hastalardan daha yüksek TKR dozlarına ihtiyaç duymuştur. Şekil 3.3. ve şekil 3.4. farklı zaman dilimlerinde CYP3A5*3/*3 genotipe sahip hastaların ve CYP3A5*1 aleli taşıyan hastaların kullandıkları TKR dozlarını göstermektedir.



Şekil 3.3. *CYP3A5**3/*3 genotipe sahip hastalar ve *CYP3A5**1 aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları günlük TKR dozlarının saplı kutu grafiği ile gösterimi (* $p < 0,05$ vs $*3/*3$).



Şekil 3.4. *CYP3A5*3/*3* genotipe sahip hastalar ve *CYP3A5*1* aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları ortalanca TKR dozlarının dağılım grafiği ile gösterimi.

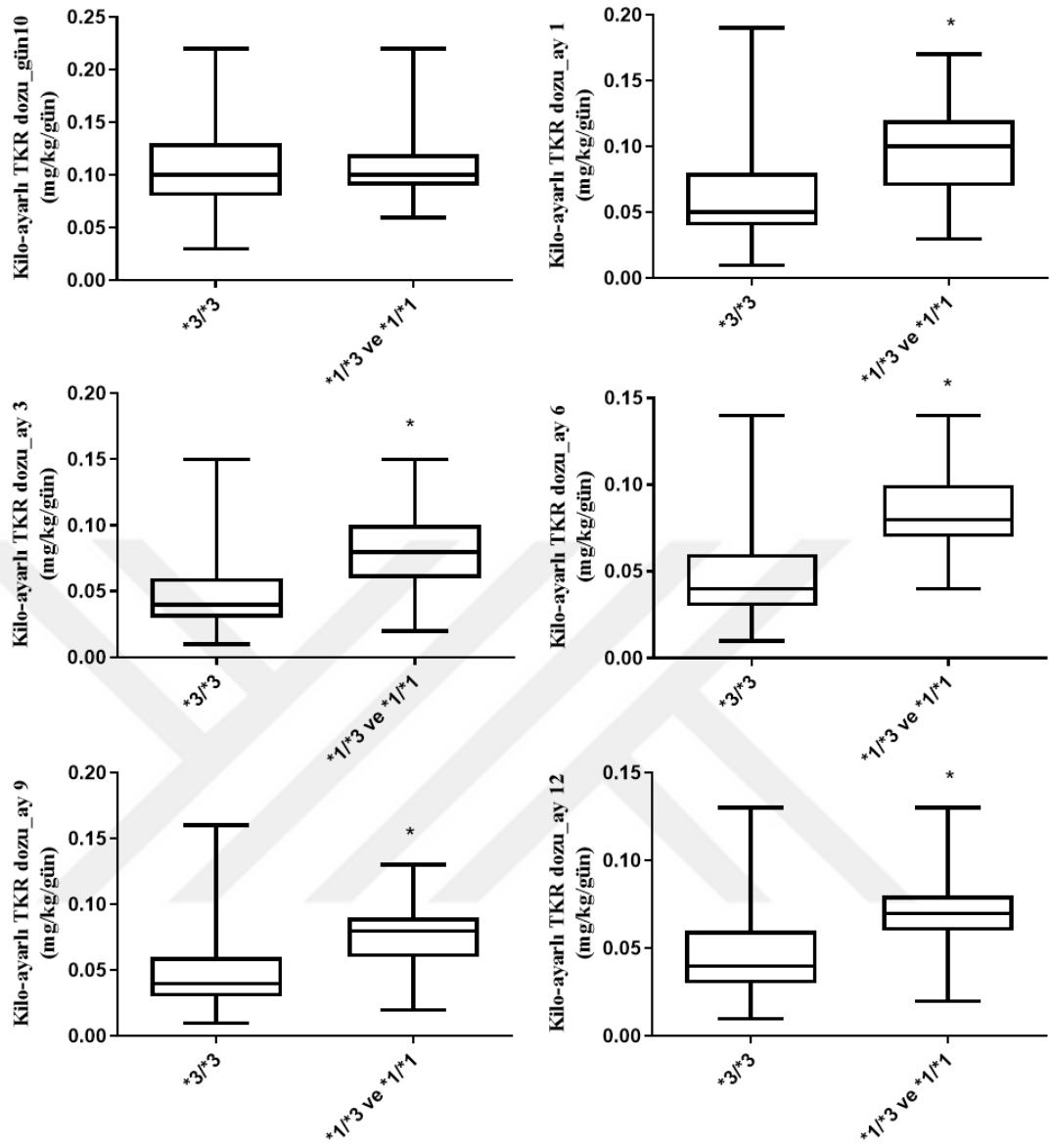
3.2.4. *CYP3A5* Geni rs776746, Genotip Sonuçları ve Hastaların Kullandıkları Kilo-Ayarlı TKR Dozlarının İlişkisi

Hastaların nakil sonrası, 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları kilo-ayarlı TKR dozları; *CYP3A5*3/*3* ve *CYP3A5*1* aleli taşıyan (*CYP3A5*1/*3* ve *CYP3A5*1/*1*) hasta grupları arasında kıyaslanmıştır. Yapılan *Mann-Whitney U* testi analiz sonuçları Çizelge 3.4.'te sunulmuştur. Analiz sonuçlarına göre, nakil sonrası 10. günde *CYP3A5*3/*3* ve *CYP3A5*1* aleli taşıyan grupları arasında kullanılan kilo-ayarlı günlük TKR dozları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p=0,765$). Ancak, *CYP3A5*3/*3* ve *CYP3A5*1* aleli taşıyan genotip gruplarının nakil sonrası 1. ay, 3. ay, 6. ay, 9. ay ve 12. ayda kullandıkları kilo-ayarlı TKR dozları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu tespit edilmiştir.

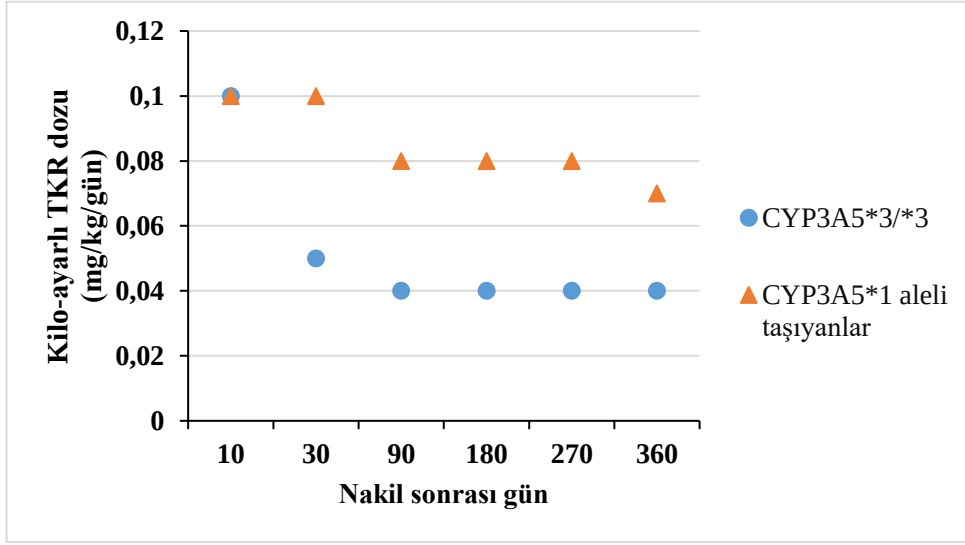
Çizelge 3.4. *CYP3A5*3* genetik polimorfizmi ve hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylardaki kilo ayarlı günlük TKR dozlarının ilişkisi

Nakil sonrası zaman	Kilo ayarlı günlük TKR dozu (mg/kg/gün)		<i>p</i>
	<i>CYP3A5*3/*3</i> genotipe sahip hastalar N=259	<i>CYP3A5*1</i> aleli taşıyan hastalar N=43	
Gün 10	0,10 (0,08-0,13)	0,10 (0,09-0,12)	<i>p</i> =0,765
Ay 1	0,05 (0,04-0,08)	0,10 (0,07-0,12)	<i>p</i> <0,0001
Ay 3	0,04 (0,03-0,06)	0,08 (0,06-0,10)	<i>p</i> <0,0001
Ay 6	0,04 (0,03-0,06)	0,08 (0,07-0,10)	<i>p</i> <0,0001
Ay 9	0,04 (0,03-0,06)	0,08 (0,06-0,09)	<i>p</i> <0,0001
Ay 12	0,04 (0,03-0,06)	0,07 (0,06-0,08)	<i>p</i> <0,0001
Toplam	0,05 (0,03-0,08)	0,08 (0,07-0,11)	<i>p</i> <0,0001

Çizelge 3.4.'te kilo-ayarlı TKR dozları ortanca (çeyrekler arası dağılım genişliği) olarak sunulmuştur. Kilo-ayarlı TKR doz ihtiyacı, *CYP3A5*1* aleli taşıyanlarda *CYP3A5*3/*3* genotipe sahip hastalar ile kıyaslandığında, nakil sonrası birinci aydan itibaren yaklaşık 2 kat daha yüksektir ve bu durum nakil sonrası ilk yıl devam etmektedir. Şekil 3.5. ve şekil 3.6. farklı zaman dilimlerinde *CYP3A5*3/*3* genotipe sahip hastaların ve *CYP3A5*1* aleli taşıyan hastaların kilo-ayarlı TKR dozlarını göstermektedir.



Şekil 3.5. *CYP3A5**3/*3 genotipe sahip hastalar ve *CYP3A5**1 aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kilo-ayarlı günlük TKR dozlarının saplı kutu grafiği ile gösterimi. (* $p < 0,05$ vs *3/*3).



Şekil 3.6. *CYP3A5**3/*3 genotipe sahip hastalar ve *CYP3A5**1 aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları kilo-ayarlı TKR dozlarının dağılım grafiği ile gösterimi.

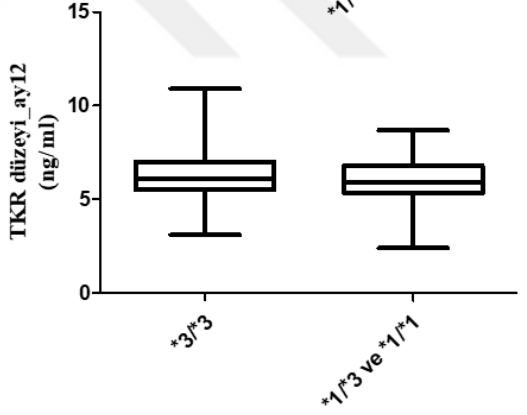
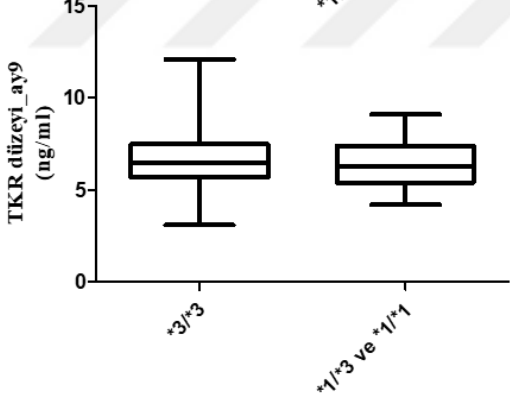
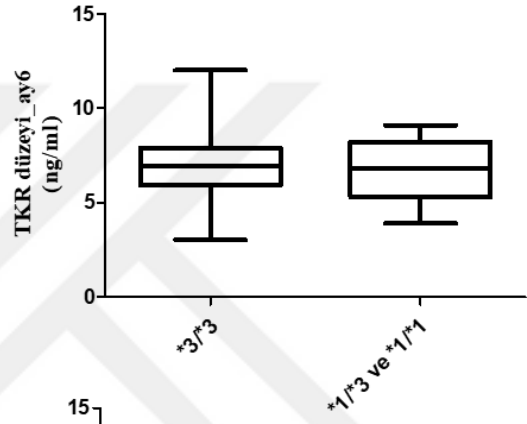
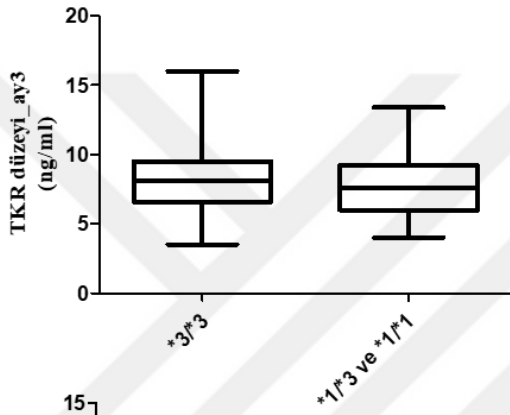
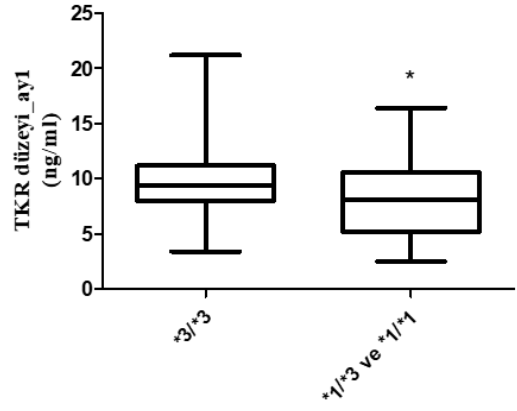
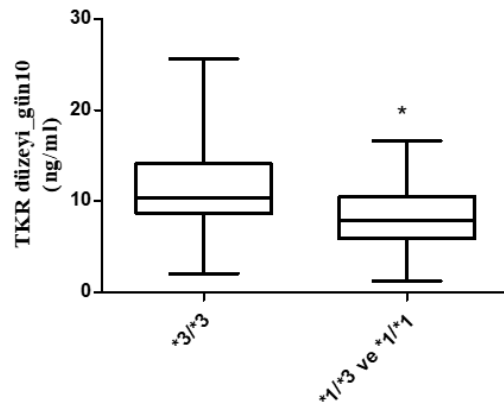
3.2.5. *CYP3A5* Geni rs776746, Genotip Sonuçları ve Kan TKR Düzeylerinin İlişkisi

Hastaların nakil sonrası, 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda ölçülen kan TKR düzeyleri; *CYP3A5**3/*3 ve *CYP3A5**1 aleli taşıyan hasta grupları arasında kıyaslanmıştır. Yapılan *Mann-Whitney U* testi analiz sonuçları Çizelge 3.5.'te sunulmuştur. Analiz sonuçlarına göre nakil sonrası 10. gün ölçülen TKR düzeyleri *CYP3A5**3/*3 ve *CYP3A5**1 aleli taşıyan hasta grupları arasında anlamlı farklılık göstermiştir ($p < 0,0001$). *CYP3A5**3/*3 ve *CYP3A5**1 aleli taşıyan genotip gruplarının 1. ayda ölçülen TKR düzeyleri arasında da anlamlı bir fark bulunmaktadır ancak 3. ay, 6. ay, 9. ay ve 12. aylarda bu iki genotip arasındaki fark kaybolmuştur.

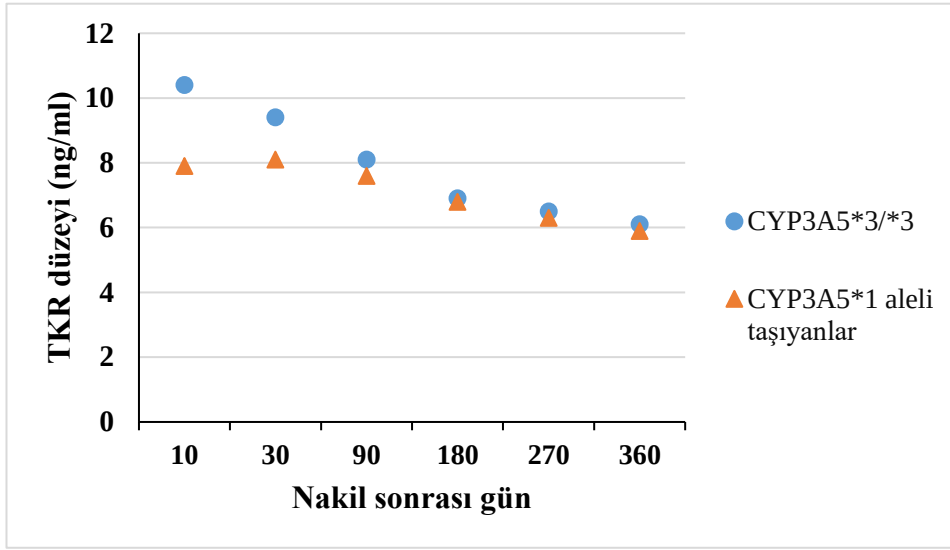
Çizelge 3.5. *CYP3A5*3* genetik polimorfizmi ve hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylardaki TKR düzeylerinin ilişkisi

Nakil sonrası zaman	Kan TKR düzeyi (ng/ml)		<i>p</i>
	<i>CYP3A5*3/*3</i> genotipe sahip hastalar N=259	<i>CYP3A5*1</i> aleli taşıyan hastalar N=43	
Gün 10	10,40 (8,70-14,10)	7,90 (5,90-10,50)	<i>p</i> <0,0001
Ay 1	9,40 (8,00-11,20)	8,10 (5,20-10,60)	<i>p</i> =0,009
Ay 3	8,10 (6,60-9,50)	7,60 (6,00-9,20)	<i>p</i> =0,208
Ay 6	6,90 (5,90-7,90)	6,80 (5,30-8,20)	<i>p</i> =0,495
Ay 9	6,50 (5,70-7,50)	6,30 (5,40-7,40)	<i>p</i> =0,384
Ay 12	6,10 (5,50-7,00)	5,90 (5,30-6,80)	<i>p</i> =0,065
Toplam	7,50 (6,10-9,50)	6,80 (5,50-8,30)	<i>p</i> <0,0001

Çizelge 3.5.'te TKR düzeyleri ortanca (çeyrekler arası dağılım genişliği) olarak sunulmuştur. *CYP3A5*1* aleli taşıyan hastalar, *CYP3A5*3/*3* genotipe sahip bireyler ile kıyaslandığında nakil sonrası ilk bir ay anlamlı olarak daha düşük TKR düzeylerine maruz kalmaktadır. *CYP3A5*3/*3* genotipe sahip bireyler erken dönemde istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek kan TKR düzeyine sahiptirler. İleri zamandaki ölçümlerde de aynı durum görülmekle beraber iki grup arasında anlamlı fark 3. aydan sonra kaybolmaktadır. Şekil 3.7. ve Şekil 3.8. farklı zaman dilimlerinde *CYP3A5*3/*3* genotipe sahip hastaların ve *CYP3A5*1* aleli taşıyan hastaların kan TKR düzeylerini göstermektedir.



Şekil 3.7. *CYP3A5**3/*3 genotipe sahip hastalar ve *CYP3A5**1 aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kan TKR düzeylerinin saplı kutu grafiği ile gösterimi (* $p < 0,05$ vs *3/*3).



Şekil 3.8. *CYP3A5**3/*3 genotipe sahip hastalar ve *CYP3A5**1 aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylardaki TKR düzeylerinin dağılım grafiği ile gösterimi.

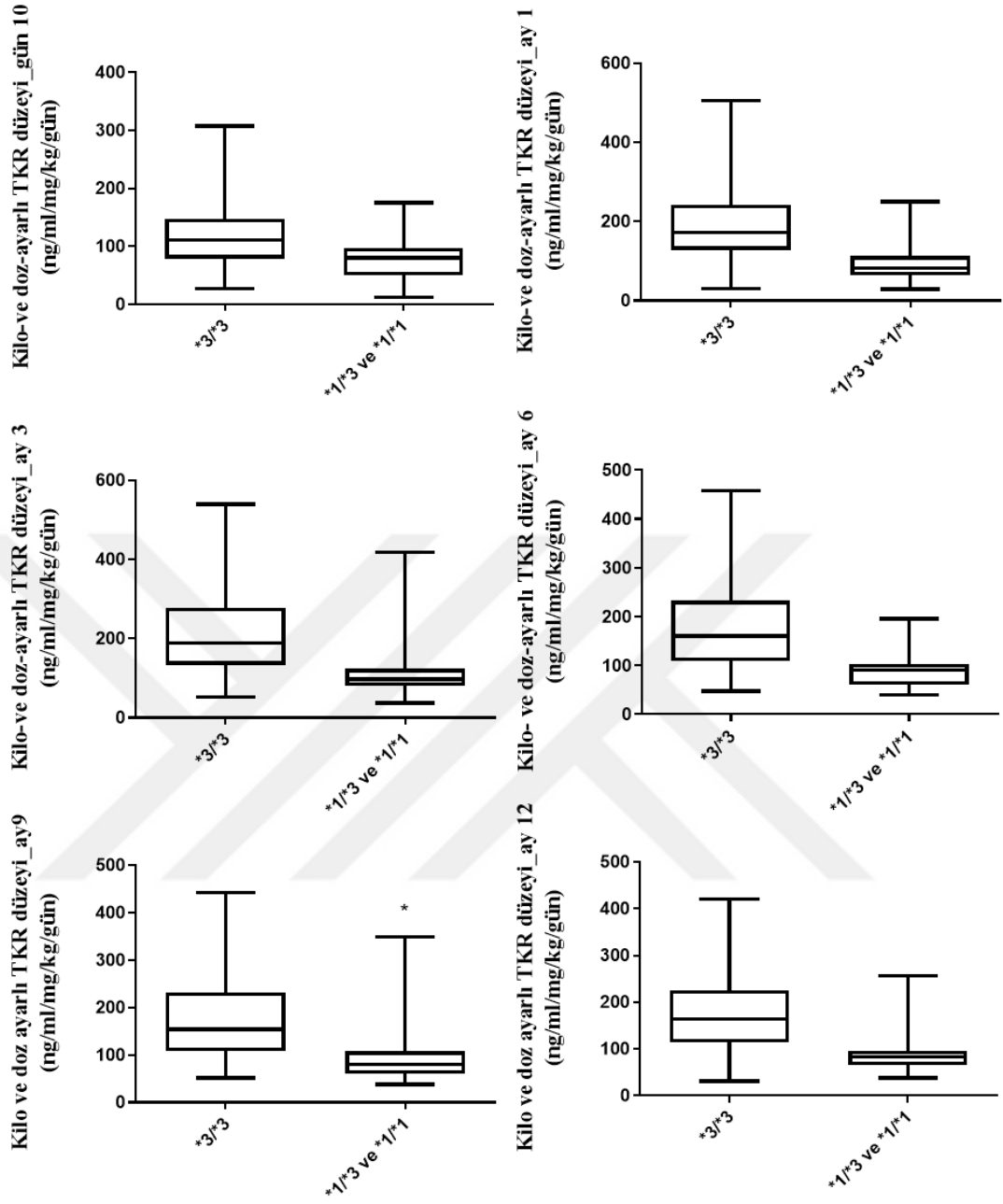
3.2.6. *CYP3A5* Geni rs776746, Genotip Sonuçları, Kilo- ve Doz- Ayarlı Kan TKR Düzeylerinin İlişkisi

Hastaların nakil sonrası, 10. gün, 1. ay, 3. ay, 6. ay, 9. ay ve 12. aydaki doz- ve kilo- ayarlı kan TKR düzeyleri *CYP3A5**3/*3 ve *CYP3A5**1 aleli taşıyan hasta grupları arasında kıyaslanmıştır. Yapılan *Mann-Whitney U* testi analiz sonuçları Çizelge 3.6.'da sunulmuştur. Analiz sonuçlarına göre nakil sonrası 10. gün, 1. ay, 3. ay, 6. ay, 9. ay ve 12. ayda gruplar arasında anlamlı farklılık olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,0001$).

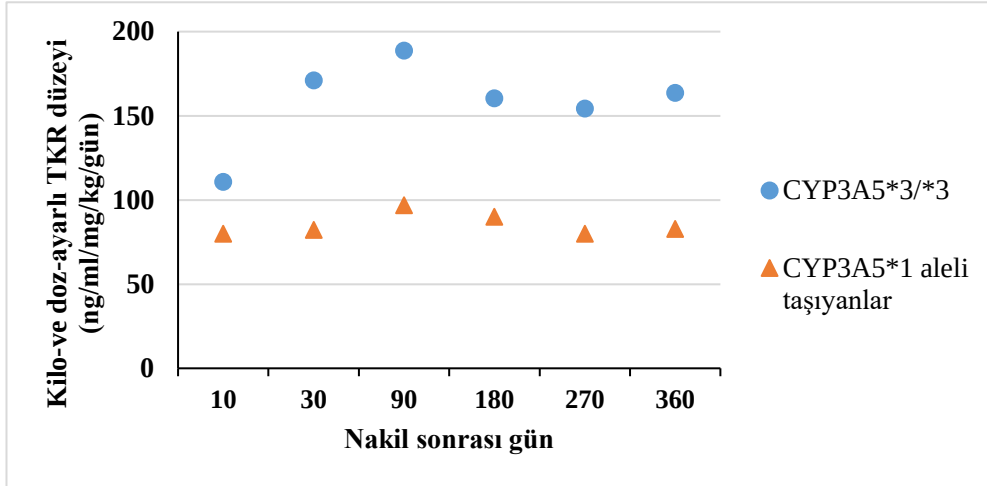
Çizelge 3.6. CYP3A5*3 genetik polimorfizmi ve hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylardaki kilo- ve doz- ayarlı TKR düzeylerinin ilişkisi

Nakil sonrası zaman	Kilo- ve doz- ayarlı TKR düzeyi (ng/ml/(mg/kg/gün))		<i>p</i>
	CYP3A5*3/*3 genotipe sahip hastalar N=259	CYP3A5*1 aleli taşıyan hastalar N=43	
Gün 10	110,7 (79,04-147,5)	80,00 (49,41-97,50)	<i>p</i> <0,0001
Ay 1	171,1(127,8-241,5)	82,25(64,80-112,8)	<i>p</i> <0,0001
Ay 3	188,8 (139,9-277,7)	96,90 (79,33-123,4)	<i>p</i> <0,0001
Ay 6	160,5 (109,2-232,4)	90,00 (60,20-102,7)	<i>p</i> <0,0001
Ay 9	154,4 (108,3-232,2)	79,98 (60,27-107,9)	<i>p</i> <0,0001
Ay 12	163,7 (114,2-225,0)	82,73 (65,00-96,00)	<i>p</i> <0,0001
Toplam	157,5 (107,6-226,8)	83,07 (61,38-106,2)	<i>p</i> <0,0001

Çizelge 3.6.'da TKR düzeyleri ortanca (çeyrekler arası dağılım genişliği) olarak sunulmuştur. CYP3A5 ekspresyonu yapan (CYP3A5*1 aleli taşıyan) hastalar, CYP3A5*3/*3 genotipe sahip hastalar ile karşılaştırıldığında kilo- ve doz- ayarlı TKR düzeylerinin daha düşük olduğu tespit edilmiştir (*p*<0,0001).



Şekil 3.9. *CYP3A5**3/*3 genotipe sahip hastalar ve *CYP3A5**1 aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylardaki kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeylerinin saplı kutu grafiği ile gösterimi (* $p < 0,05$ vs *3/*3).



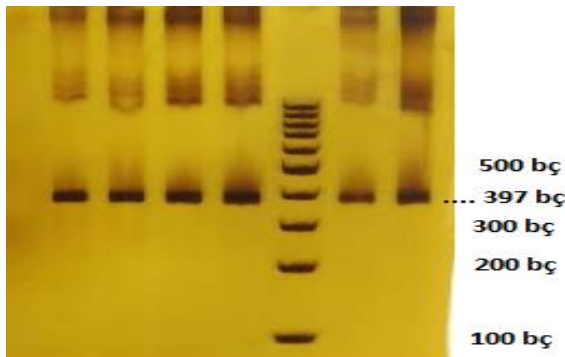
Şekil 3.10. CYP3A5*3/*3 genotipe sahip hastalar ve CYP3A5*1 aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylardaki kilo- ve doz-ayarlı ortalama TKR düzeylerinin dağılım grafiği ile gösterimi.

3.3. CYP3A4 Geni, rs35599367, CYP3A4*22 Polimorfizmine Ait Bulgular

3.3.1. CYP3A4 Geni, rs35599367, PZR ve RPUP Ürünlerinin Tespit Edilmesi

3.3.1.1. CYP3A4 Geni, PZR Ürünlerinin Tespit Edilmesi

CYP3A4*22 polimorfizminin tespit edilmesine yönelik çalışmalarda PZR ürünlerine ait Şekil 3.11'deki jel görüntüsü elde edilmiştir. Bu görüntüde PZR ürünlerinin ayırt edilmesinde 100 baz çiftlik marker kullanılmıştır. PZR ürünü 397 baz çifti olarak görüntülenmiştir.



Şekil 3.11. Bazı hastalara ait C>T baz değişikliği olan CYP3A4*22 polimorfizmini içeren CYP3A4 gen bölgesinin çoğaltılması ile elde edilen PZR ürünün poliakrilamid jel elektroforez görüntüsü.

3.3.1.2. CYP3A4 Geni, RPUP Ürünlerinin Tespit Edilmesi

Hastaların genotiplerinin aydınlatılmasına yönelik gerçekleştirilen RPUP reaksiyonu sonrasında elde edilen ürünlere ait aşağıdaki jel görüntüsü elde edilmiştir (Şekil 3.12.). RPUP reaksiyon sonuçlarına göre *1/*1 genotipine sahip bireyler, 397 bç uzunluğunda 1 bant şeklinde, *1/*22 genotipine sahip bireyler 397-243-154 bç uzunluğunda 3 bant şeklinde ve *22/*22 genotipine sahip bireyler 243-154 bç uzunluğunda 2 bant şeklinde görüntülenmiştir. Şekil 3.12.'de bazı hastalara ait CYP3A4*22 polimorfizmi için elde edilen RPUP ürünlerinin ve 100 baz çiftlik markerin uygulandığı poliakrilamid jel elektroforez görüntüsü sunulmuştur.

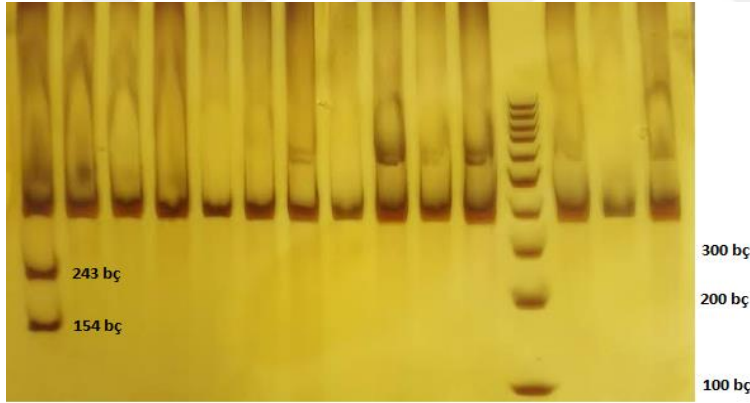
PZR ürünü: 397 baz çifti

RPUP ürünü:

CC (homozigot yabanıl tip), *1/*1: 397 bç

CT (heterozigot), *1/*22: 397-243-154 bç

TT (homozigot mutant), *22/*22: 243-154 bç



Şekil 3.12. Bazı hastalara ait CYP3A4*22 polimorfizmi için elde edilen RPUP ürünlerinin poliakrilamid jel elektroforez görüntüsü

3.3.2. CYP3A4 Geni, Genotip-Alel Frekansları ve Hardy-Weinberg Dengesi Sonuçları

Çalışmadaki hasta sayılarının Hardy-Weinberg dengesi test edilmiş genotip ve alel frekansları hesaplanmıştır. Çalışma grubundaki her TNP için gerçekleştirilen

Hardy-Weinberg dengesi testlerinin değerlendirilmesinde ki-kare testi uygulanmıştır. *CYP3A4* geni için yapılan Hardy-Weinberg dengesi testleri sonuçları Çizelge 3.7.'de sunulmuştur. *CYP3A4* geni için, gözlenen değerler ile beklenen değerlerin birbirine uygun olduğu ve Hardy-Weinberg dengesinde oldukları tespit edilmiştir ($p>0,05$).

Çizelge 3.7. *CYP3A4*22* genetik polimorfizmi genotip ve alel frekansı, Hardy-Weinberg dengesi testi sonuçları

Gen bölgesi	Genotip	Gözlenen (%)	Beklenen	Alel frekansı (%)	χ^2	p
<i>CYP3A4*22</i>	*1/*1	270 (89,4)	270,8	*1: 572 (94,70)	0,95	0,33
	*1/*22	32 (10,6)	30,8			
	*22/*22	0 (0,00)	0,8	*22: 32 (5,30)		
Toplam		302	302			

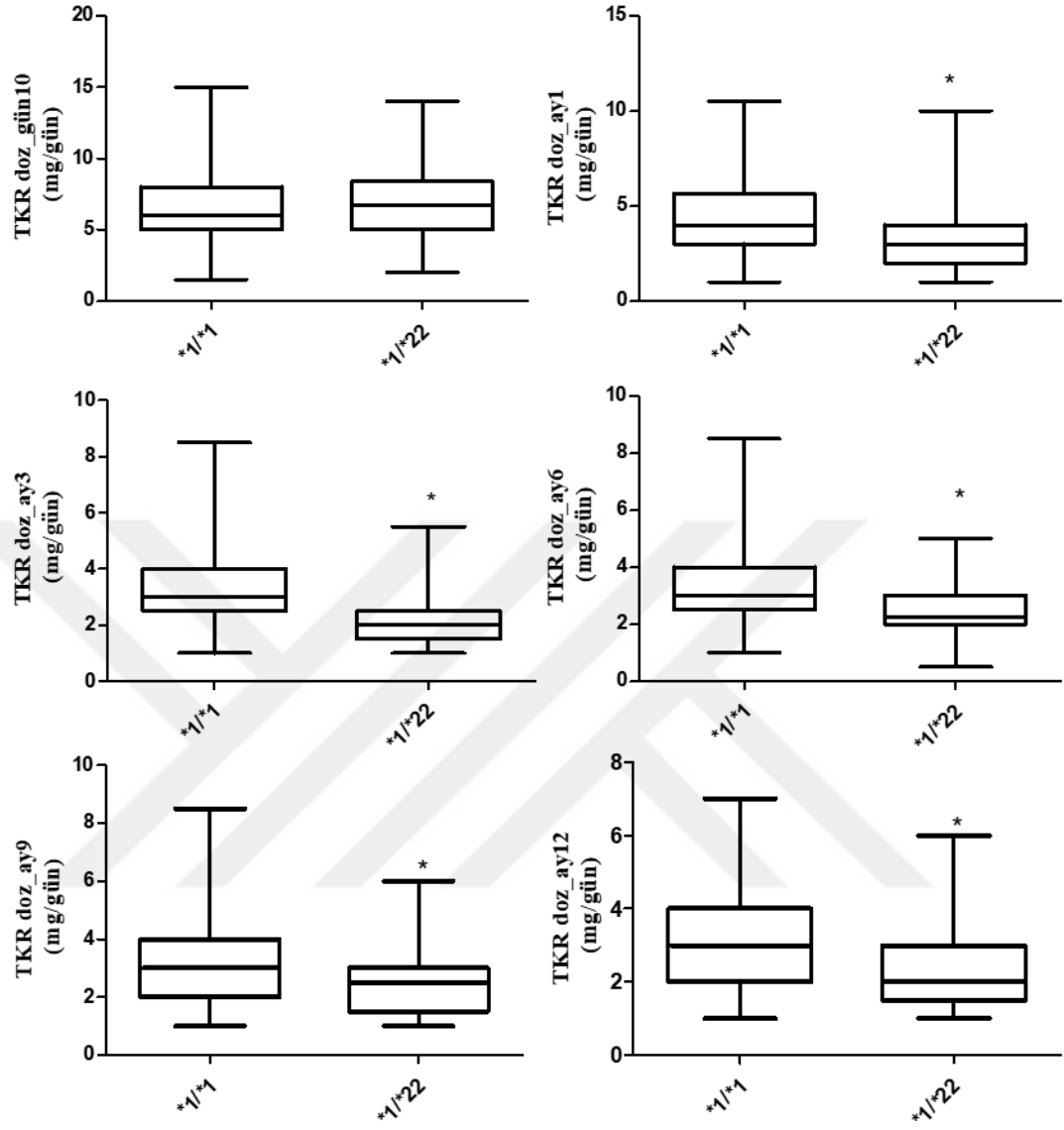
3.3.3. *CYP3A4* Geni rs35599367, Genotip Sonuçları ve Hastaların Kullandıkları Günlük TKR Dozlarının İlişkisi

Hastaların nakil sonrası, 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları TKR dozları *CYP3A4*1/*1* genotipe sahip hastalar ve *CYP3A4*22* aleli taşıyan hasta grupları arasında kıyaslanmıştır. Yapılan *Mann-Whitney U* testi analiz sonuçları Çizelge 3.8.'te sunulmuştur. Analiz sonuçlarına göre nakil sonrası 10. günde *CYP3A4*1/*1* genotipe sahip hastalar ve *CYP3A4*22* aleli taşıyan hasta grupları arasında kullanılan TKR dozları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p=0,891$). Ancak, *CYP3A4*1/*1* ve *CYP3A4*22* aleli taşıyan genotip gruplarının 1., 3., 6., 9. ve 12. ayda kullandıkları TKR dozları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterdiği tespit edilmiştir.

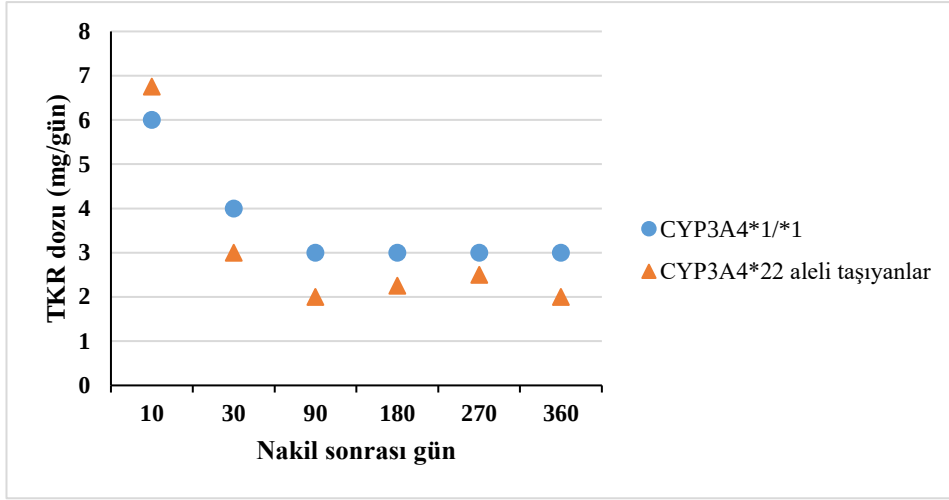
Çizelge 3.8. *CYP3A4*22* genetik polimorfizmi ve hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları günlük TKR dozlarının ilişkisi

Nakil sonrası zaman	Günlük TKR dozu (mg/gün)		<i>p</i>
	<i>CYP3A4*1/*1</i> genotipe sahip hastalar N=270	<i>CYP3A4*22</i> aleli taşıyan hastalar N=32	
Gün 10	6,00 (5,00-8,00)	6,75 (5,00-8,37)	<i>p</i> =0,891
Ay 1	4,00 (3,00-5,63)	3,00 (2,00-4,00)	<i>p</i> =0,021
Ay 3	3,00 (2,50-4,00)	2,00 (1,50-2,50)	<i>p</i> <0,0001
Ay 6	3,00 (2,50-4,00)	2,25 (2,00-3,00)	<i>p</i> =0,002
Ay 9	3,00 (2,00-4,00)	2,50 (1,50-3,00)	<i>p</i> =0,001
Ay 12	3,00 (2,00-4,00)	2,00 (1,50-3,00)	<i>p</i> =0,011
Toplam	3,50 (2,50-5,00)	2,50 (2,00-4,00)	<i>p</i> <0,0001

Çizelge 3.8.'de kullanılan TKR dozları ortanca (çeyrekler arası dağılım genişliği) olarak sunulmuştur. Hastaların kullandıkları TKR dozları incelendiğinde, nakil sonrası 10. günde gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmezken, 1. aydan itibaren 12 ay boyunca *CYP3A4*1/*1* genotipe sahip hastalar, *CYP3A4*22* aleli taşıyan hastalardan anlamlı olarak daha yüksek TKR dozlarına ihtiyaç duymuştur. Şekil 3.13. ve Şekil 3.14. farklı zaman dilimlerinde *CYP3A4*1/*1* genotipe sahip hastaların ve *CYP3A4*22* aleli taşıyan hastaların kullandıkları TKR dozlarını göstermektedir.



Şekil 3.13. *CYP3A4**1/*1 genotipe sahip hastalar ve *CYP3A4**22 aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları günlük TKR dozlarının saplı kutu grafiği ile gösterimi (* p<0,05 vs *1/*1).



Şekil 3.14. *CYP3A4*1/*1* genotipe sahip hastalar ve *CYP3A4*22* aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları ortalanca TKR doz değerlerinin dağılım grafiği ile gösterimi.

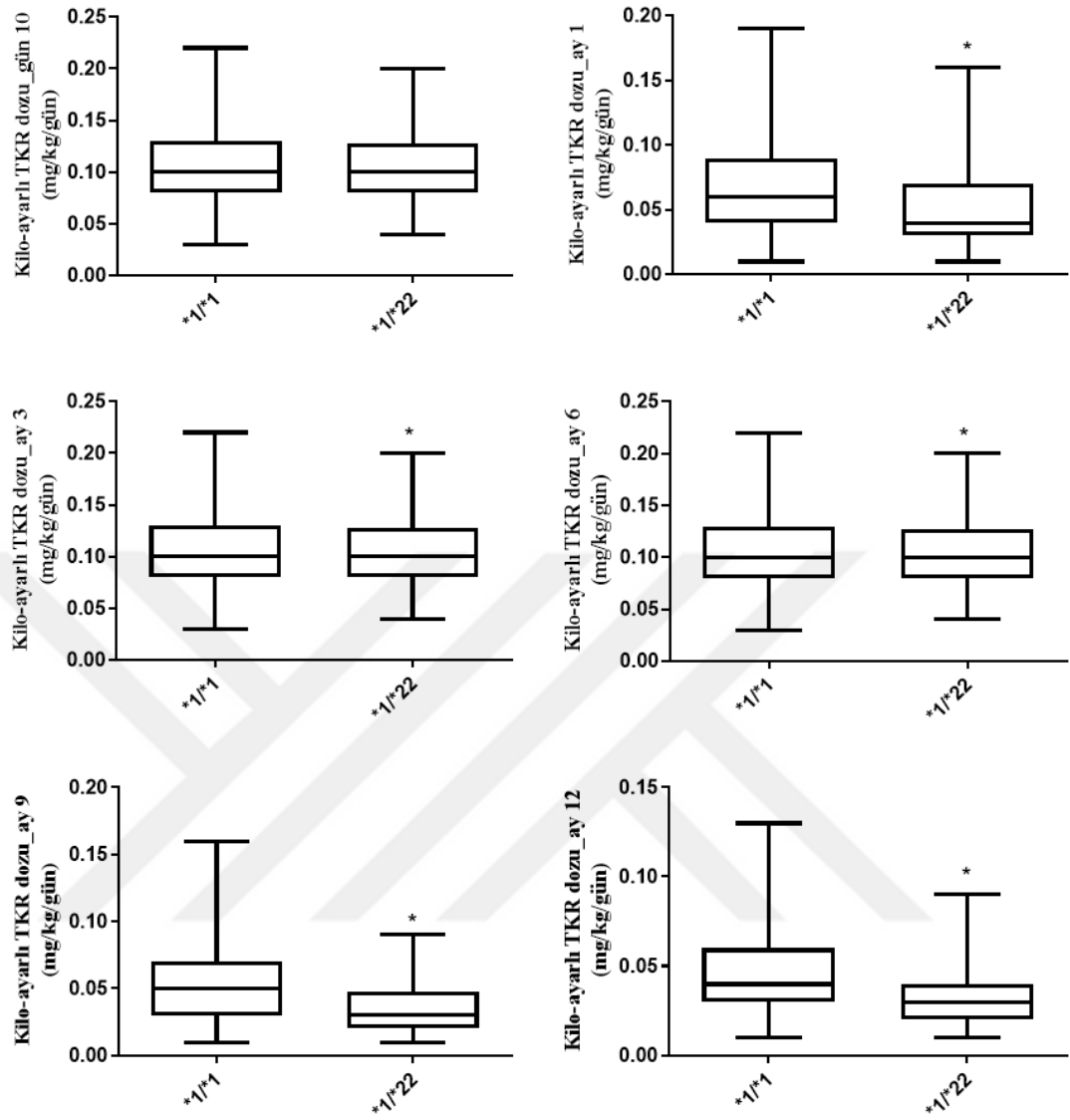
3.3.4. *CYP3A4* Geni rs35599367, Genotip Sonuçları ve Kilo-Ayarlı TKR Dozlarının İlişkisi

Hastaların nakil sonrası, 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları kilo-ayarlı TKR dozları *CYP3A4*1/*1* ve *CYP3A4*22* aleli taşıyan hasta grupları arasında kıyaslanmıştır. Yapılan *Mann-Whitney U* testi analiz sonuçları Çizelge 3.9'da sunulmuştur. Analiz sonuçlarına göre nakil sonrası 10. günde *CYP3A4*1/*1* ve *CYP3A4*22* aleli taşıyan grupları arasında kullanılan kilo ayarlı günlük TKR dozları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p=0,882$). Ancak, *CYP3A4*1/*1* ve *CYP3A4*22* aleli taşıyan genotip gruplarının 1., 3., 6., 9. ve 12. ayda kullandıkları kilo-ayarlı TKR dozları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterdiği tespit edilmiştir.

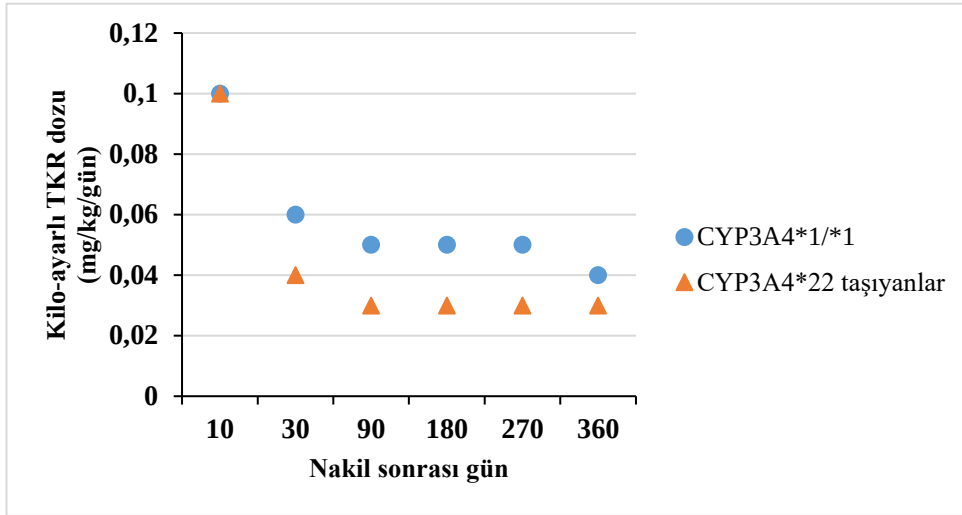
Çizelge 3.9. *CYP3A4*22* genetik polimorfizmi ve hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylardaki kilo ayarlı günlük TKR dozlarının ilişkisi

Nakil sonrası zaman	Günlük TKR dozu (mg/kg/gün)		<i>p</i>
	<i>CYP3A4*1/*1</i> genotipe sahip hastalar N=270	<i>CYP3A4*22</i> aleli taşıyan hastalar N=32	
Gün 10	0,10 (0,08-0,13)	0,10 (0,08-0,13)	<i>p</i> =0,882
Ay 1	0,06 (0,04-0,09)	0,04 (0,03-0,07)	<i>p</i> =0,014
Ay 3	0,05 (0,03-0,07)	0,03 (0,02-0,04)	<i>p</i> =0,002
Ay 6	0,05 (0,04-0,07)	0,03 (0,03-0,04)	<i>p</i> =0,002
Ay 9	0,05 (0,03-0,07)	0,03 (0,02-0,05)	<i>p</i> =0,001
Ay 12	0,04 (0,03-0,06)	0,03 (0,02-0,04)	<i>p</i> =0,013
Toplam	0,05 (0,04-0,08)	0,04 (0,03-0,08)	<i>p</i> <0,0001

Çizelge 3.9.'da kilo-ayarlı TKR dozları ortanca (çeyrekler arası dağılım genişliği) olarak sunulmuştur. Kilo-ayarlı TKR doz ihtiyacı, *CYP3A4*1/*1* genotipe sahip hastalar ve *CYP3A4*22* aleli taşıyanlar arasında kıyaslandığında doz ihtiyaçlarının 10. günde benzer olduğu görülmüştür. Nakil sonrası birinci aydan itibaren ise *CYP3A4*1/*1* genotipe sahip hastalar, *CYP3A4*22* aleli taşıyanlar ile kıyaslandığında kilo-ayarlı TKR dozlarının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ve bu durum nakil sonrası ilk yıl devam etmektedir. Şekil 3.15. ve Şekil 3.16. farklı zaman dilimlerinde *CYP3A4*1/*1* genotipe sahip hastaların ve *CYP3A4*22* aleli taşıyan hastaların kilo-ayarlı TKR dozlarını göstermektedir.



Şekil 3.15. *CYP3A4**1/*1 genotipe sahip hastalar ve *CYP3A4**22 aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları kilo-ayarlı günlük TKR dozlarının saplı kutu grafiği ile gösterimi (* p<0,05 vs*1/*1).



Şekil 3.16. *CYP3A4*1/*1* genotipe sahip hastalar ve *CYP3A4*22* aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları ortalanca kilo-ayarlı TKR doz değerlerinin dağılım grafiği ile gösterimi.

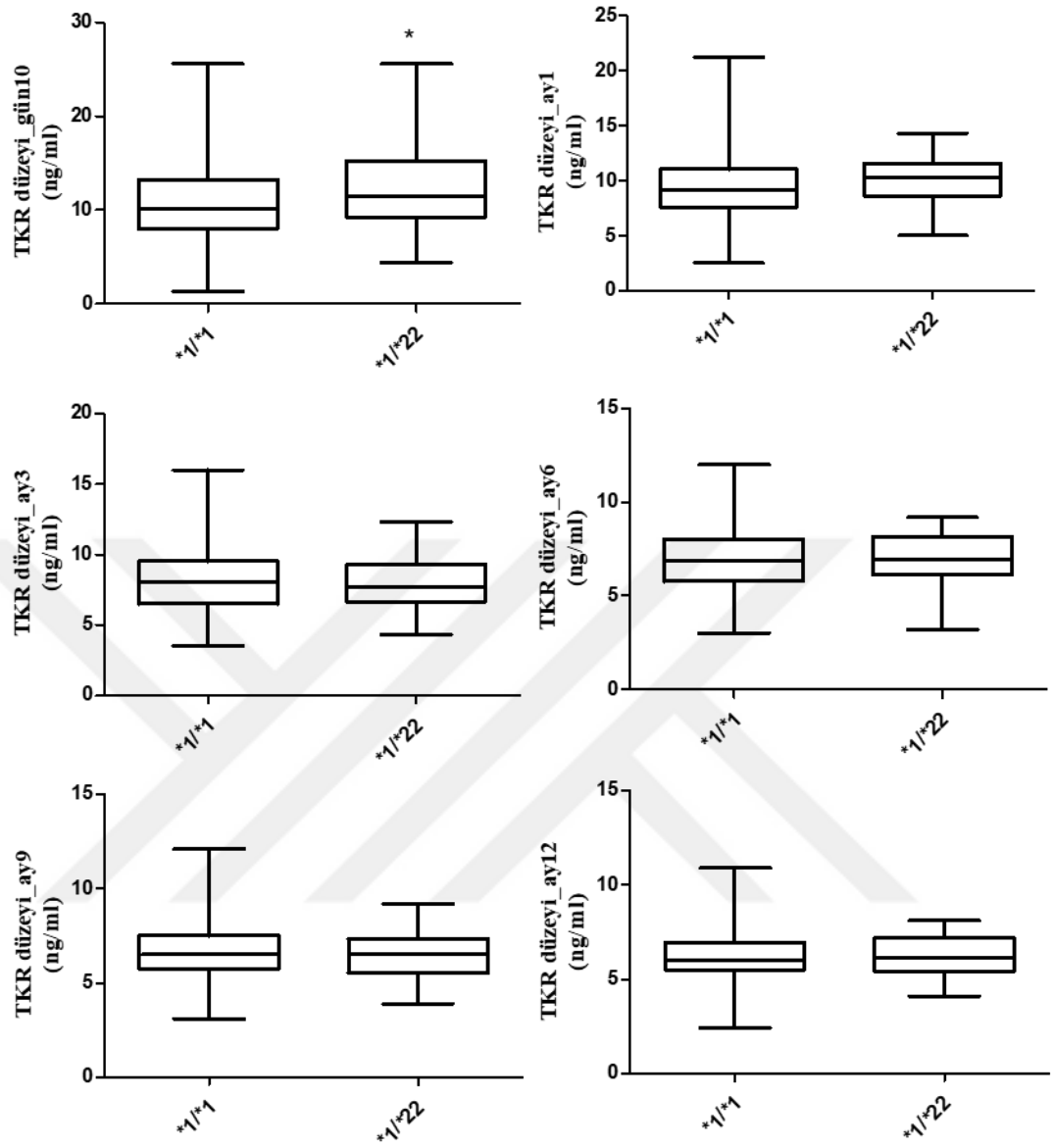
3.3.5. *CYP3A4* Geni rs35599367, Genotip Sonuçları ve Kan TKR Düzeylerinin İlişkisi

Hastaların nakil sonrası 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda ölçülen kan TKR düzeyleri *CYP3A4*1/*1* ve *CYP3A4*22* aleli taşıyan hasta grupları arasında kıyaslanmıştır. Yapılan *Mann-Whitney U* testi analiz sonuçları Çizelge 3.10.'da sunulmuştur. Analiz sonuçlarına göre, nakil sonrası 10. gün ölçülen TKR düzeyleri *CYP3A4*1/*1* ve *CYP3A4*22* aleli taşıyan hasta grupları arasında anlamlı farklılık göstermiştir ($p=0,021$). *CYP3A4*1/*1* ve *CYP3A4*22* aleli taşıyan genotip gruplarının 1., 3., 6., 9. ve 12. ayda ölçülen TKR düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir.

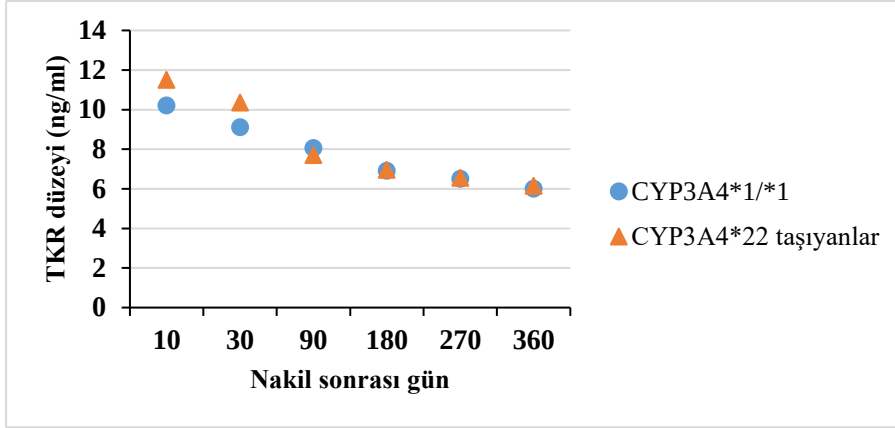
Çizelge 3.10. *CYP3A4*22* genetik polimorfizmi ve hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda ölçülen TKR düzeylerinin ilişkisi

Nakil sonrası zaman	Kan TKR düzeyi (ng/ml)		<i>p</i>
	<i>CYP3A4*1/*1</i> genotipe sahip hastalar N=270	<i>CYP3A4*22</i> aleli taşıyan hastalar N=32	
Gün 10	10,20 (8,00-13,25)	11,50 (9,28-15,28)	<i>p</i> =0,021
Ay 1	9,10 (7,60-11,03)	10,35 (8,63-11,35)	<i>p</i> =0,135
Ay 3	8,05 (6,50-9,53)	7,70 (6,68-7,70)	<i>p</i> =0,581
Ay 6	6,90 (5,77-8,00)	6,95 (6,13-8,13)	<i>p</i> =0,711
Ay 9	6,50 (5,75-7,50)	6,55 (5,23-7,35)	<i>p</i> =0,803
Ay 12	6,00 (5,50-6,93)	6,15 (5,40-7,20)	<i>p</i> =0,999
Toplam	7,40 (6,00-9,20)	7,50 (6,10-9,67)	<i>p</i> =0,294

Çizelge 3.10.'da TKR düzeyleri ortanca (çeyrekler arası dağılım genişliği) olarak sunulmuştur. *CYP3A4*1/*1* genotipe sahip hastalar, *CYP3A4*22* aleli taşıyan hastalar ile kıyaslandığında nakil sonrası erken dönemde (10. gün) daha düşük TKR düzeylerine maruz kalmaktadır. *CYP3A4*1/*1* genotipe sahip hastalarda düşük TKR düzeyleri nakil sonrası ilk 12 ay devam etse de 10. gün sonrasında anlamlılık ortadan kalkmaktadır. Şekil 3.17. ve şekil 3.18. farklı zaman dilimlerinde *CYP3A4*1/*1* genotipe sahip hastaların ve *CYP3A4*22* aleli taşıyan hastaların kan TKR düzeylerini göstermektedir.



Şekil 3.17. *CYP3A4**1/*1 genotipe sahip hastalar ve *CYP3A4**22 aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda ölçülen TKR düzeylerinin saplı kutu grafiği ile gösterimi. (* p<0,05 vs *1/*1).



Şekil 3.18. *CYP3A4*1/*1* genotipe sahip hastalar ve *CYP3A4*22* aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda TKR düzeyi ortanca değerlerinin dağılım grafiği ile gösterimi.

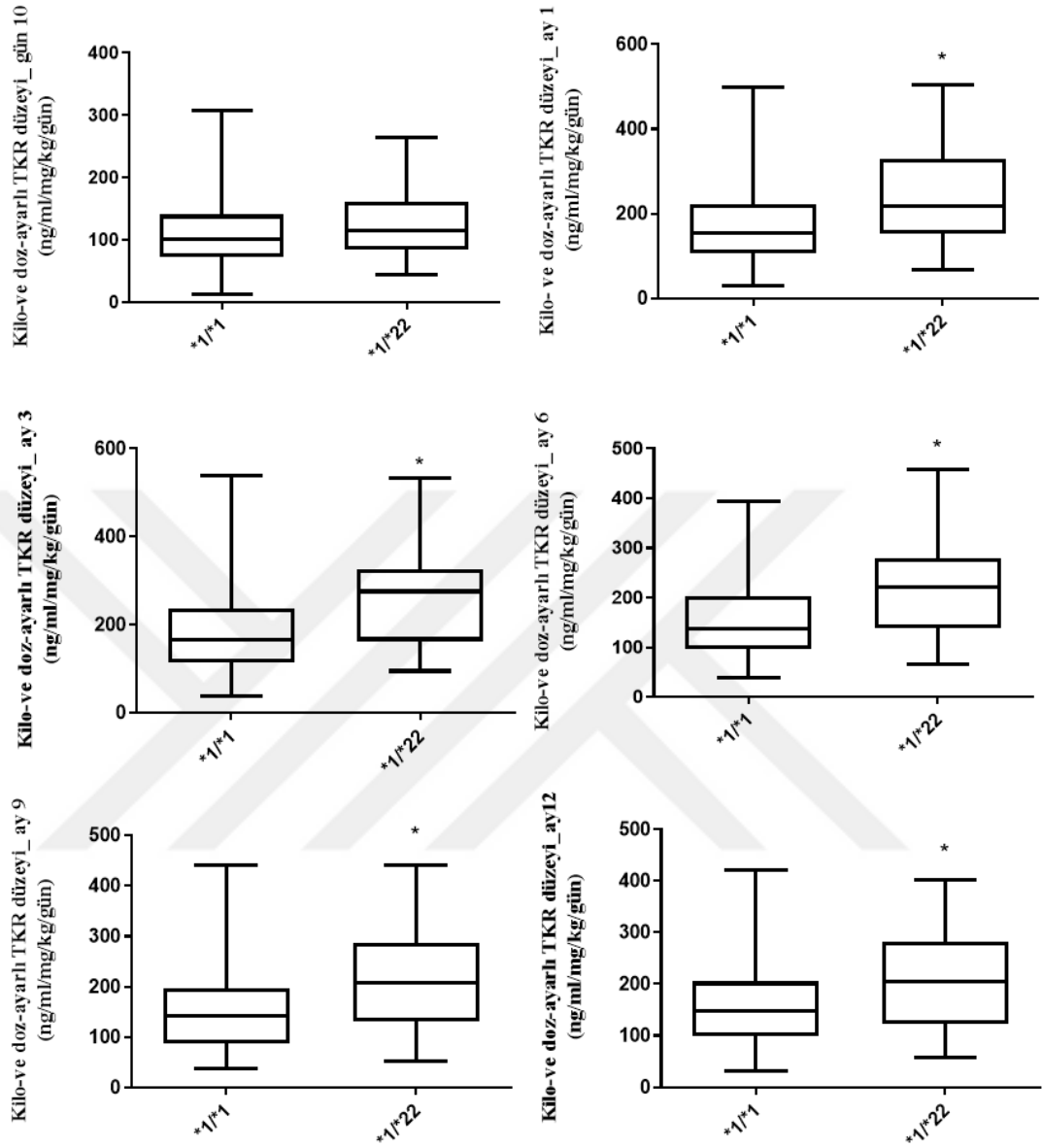
3.3.6. *CYP3A4* Geni rs35599367, Genotip Sonuçları, Kilo- ve Doz-Ayarlı Kan TKR Düzeylerinin İlişkisi

Hastaların nakil sonrası, 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda ölçülen kilo- ve doz-ayarlı kan TKR düzeyleri; *CYP3A4*1/*1* ve *CYP3A4*22* aleli taşıyan hasta grupları arasında kıyaslanmıştır. Yapılan *Mann-Whitney U* testi analiz sonuçları Çizelge 3.11.'de sunulmuştur. Analiz sonuçlarına göre, nakil sonrası 10. gün ölçülen kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeyleri *CYP3A4*1/*1* ve *CYP3A4*22* aleli taşıyan hasta grupları arasında anlamlı farklılık göstermemiştir ($p=0,107$). *CYP3A4*1/*1* ve *CYP3A4*22* aleli taşıyan genotip gruplarının 1., 3., 6., 9. ve 12. ayda ölçülen TKR düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir.

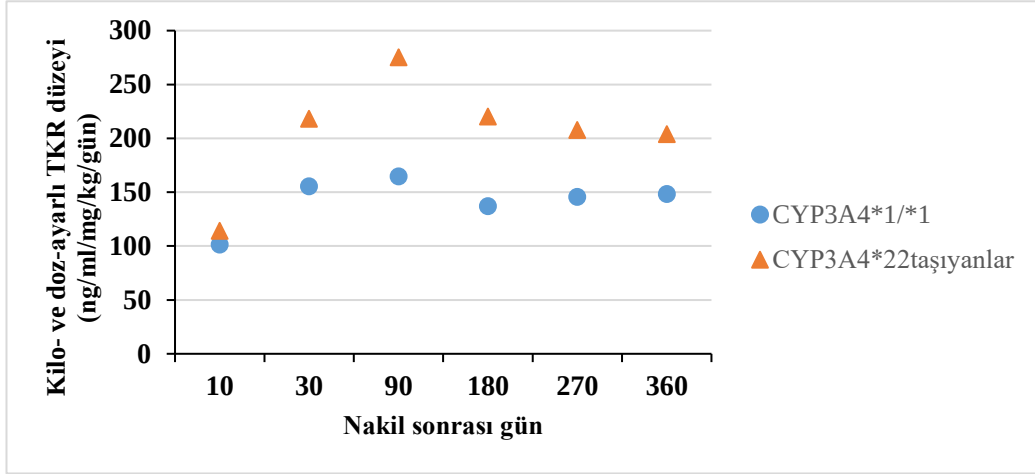
Çizelge 3.11. *CYP3A4*22* genetik polimorfizmi ve hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylardaki kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeylerinin ilişkisi

Nakil sonrası gün	Kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeyi (ng/ml/(mg/kg/gün))		<i>p</i>
	<i>CYP3A4*1/*1</i> genotipe sahip hastalar N=270	<i>CYP3A4*22</i> aleli taşıyan hastalar N=32	
Gün 10	101,4 (73,46-140,5)	114,2 (83,65-160,7)	<i>p</i> =0,101
Ay 1	155,4 (104,9-223,5)	218,0 (152,9-356,6)	<i>p</i> =0,001
Ay 3	164,6 (113,2-237,0)	275,2 (162,3-326,2)	<i>p</i> =0,0004
Ay 6	136,8 (96,25-202,7)	220,1 (138,0-280,3)	<i>p</i> <0,0001
Ay 9	141,7 (87,8-196,7)	207,8 (132,4-287,3)	<i>p</i> =0,002
Ay 12	147,4 (98,00-204,6)	204,0 (112,7-281,8)	<i>p</i> =0,007
Toplam	139,5 (92,41-203,9)	205,0 (119,0-283,8)	<i>p</i> <0,0001

Çizelge 3.11.'de doz ve kilo ayarlı TKR düzeyleri ortanca (çeyrekler arası dağılım genişliği) olarak sunulmuştur. *CYP3A4*1/*1* genotipe sahip hastalar, *CYP3A4*1/*22* genotipe sahip hastalar ile karşılaştırıldığında kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeylerinin nakil sonrası 12 ay boyunca anlamlı olarak daha düşük seyrettiği tespit edilmiştir (*p*<0,0001). Şekil 3.19. ve şekil 3.20. farklı zaman dilimlerinde *CYP3A4*1/*1* genotipe sahip hastaların ve *CYP3A4*22* aleli taşıyan hastaların kilo- ve doz-ayarlı kan TKR düzeylerini göstermektedir.



Şekil 3.19. *CYP3A4**1/*1 genotipe sahip hastalar ve *CYP3A4**22 aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeylerinin saplı kutu grafiği ile gösterimi. (* p<0,05 vs *1/*1).



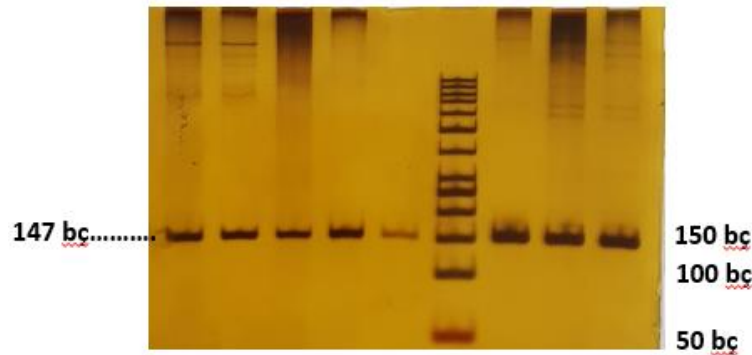
Şekil 3.20. CYP3A4*1/*1 genotipe sahip hastalar ve CYP3A4*22 aleli taşıyan hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylardaki kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeyi ortanca değerlerinin dağılım grafiği ile gösterimi.

3.4. Sitokrom P450 Oksidoredüktaz (POR) Geni, rs1057868, POR*28 Polimorfizmine Ait Bulgular

3.4.1. POR Geni, rs1057868, PZR ve RPUP Ürünlerinin Tespit Edilmesi

3.3.1.1. POR Geni, rs1057868, PZR Ürünlerinin Tespit Edilmesi

POR*28 polimorfizminin tespit edilmesine yönelik çalışmalarda PZR ürünlerine ait şekil 3.21'deki jel görüntüsü elde edilmiştir. Bu görüntüde PZR ürünlerinin ayırt edilmesinde 50 baz çiftlik marker kullanılmıştır. PZR ürünü 147 baz çifti olarak görüntülenmiştir.



Şekil 3.21. Bazı hastalara ait POR*28 polimorfizmi için elde edilen PZR ürünün poliakrilamid jel elektroforez görüntüsü.

3.3.1.2. *POR* Geni, rs1057868, RPUP Ürünlerinin Tespit Edilmesi

RPUP reaksiyonu sonrasında elde edilen ürünlere ait aşağıdaki jel görüntüsü elde edilmiştir (Şekil 3.22.). RPUP reaksiyon sonuçlarına göre; *1/*1 genotipine sahip bireyler, 147 bç uzunluğunda 1 bant şeklinde, *1/*28 genotipine sahip bireyler 147-99-48 bç uzunluğunda 3 bant şeklinde ve *28/*28 genotipine sahip bireyler 99-48 bç uzunluğunda 2 bant şeklinde görüntülenmiştir. Şekil 3.22.'de bazı hastalara ait *POR**28 polimorfizmi için elde edilen RPUP ürünlerinin ve 50 baz çiftlik markerin uygulandığı poliakrilamid jel elektroforez görüntüsü sunulmuştur.

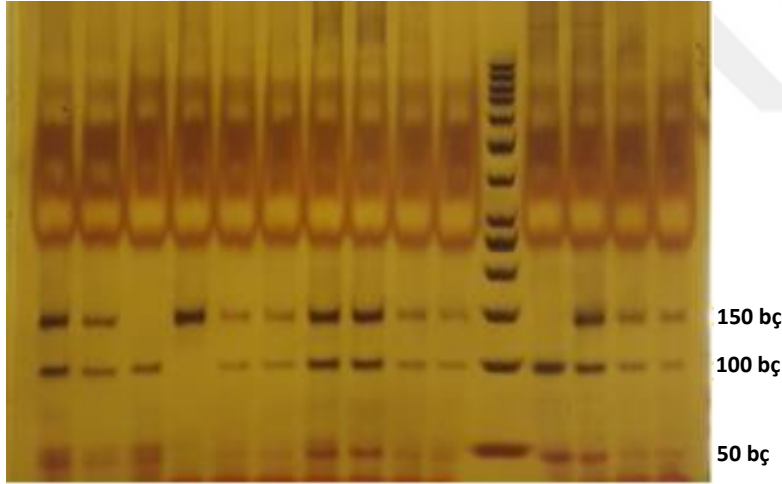
PZR ürünü: 147 baz çifti

RPUP ürünü:

CC, *1/*1: 99-48 bç

TT, *28/*28: 147 bç

CT, *1/*28: 147-99-48 bç

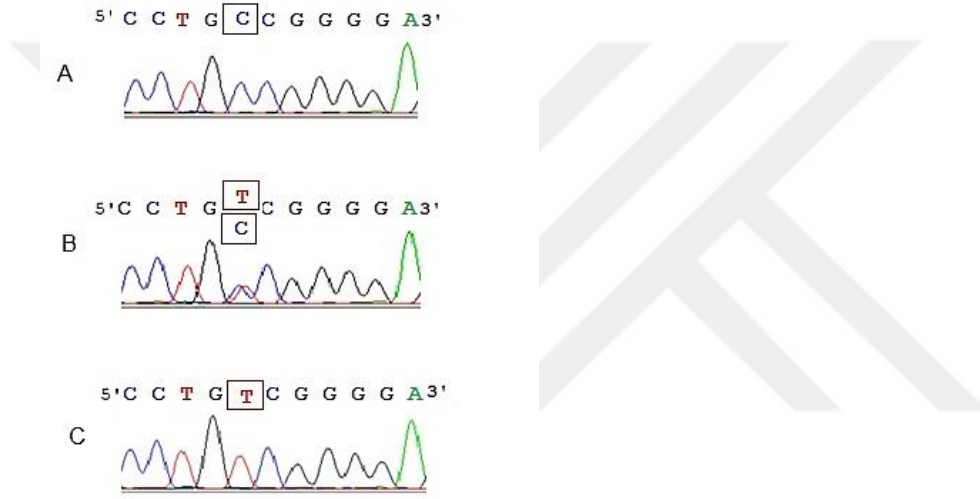


Şekil 3.22. Bazı hastalara ait *POR**28 polimorfizmi için elde edilen RPUP ürünlerinin poliakrilamid jel elektroforez görüntüsü.

Şekil 3.21. ve şekil 3.22.'de, PZR ve RPUP ürünleri sunulan *POR**28 polimorfizminin (rs1057868) PZR-RPUP yöntemi ile tespit edilmesi dünyada ilk defa tasarladığımız primerler ve optimize ettiğimiz yöntem ile gerçekleştirilmiştir. Hedeflenen bölgenin amplifikasyonun ve yöntemin doğruluğunun teyit edilmesi tam dizi analizi yöntemi ile (Applied Biosystems 3730xl DNA analyzer, USA)

gerçekleştirilmiştir. Heterozigot, mutant ve yabancı tip genotipe sahip olduğu PZR-RPUP ile laboratuvarımızda tespit edilen hastalara ait DNA örneklerinin tam dizi analizi (Applied Biosystems 3730xl DNA analyzer, USA) yapılmıştır.

Tam dizi analizi sonuçları, beklendiği gibi 1508. konumda C>T değişimi olduğunu ve kurulan PZR-RPUP yönteminin geçerliliğini kanıtlamıştır. Buna göre 1508. konumda *1/*1 genotipe sahip bireyler C, *1/*28 genotipe sahip bireyler C ve T, *28/*28 genotipe sahip bireyler ise T taşımaktadır. Şekil 3.23'te, yabancı tip, heterozigot ve mutant genotipe sahip bireylerin tam dizi analizi sonuçları sunulmuştur.



Şekil 3.23. Bazı hastalara ait *POR**28 polimorfizmi tam dizi analiz sonuçlarına ait bir görüntü.

A: *POR**1/*1, B: *POR**1/*28, C: *POR**28/*28 genotiplerini göstermektedir.

3.4.2. *POR* Geni, rs1057868, Genotip-Alel Frekansları ve Hardy-Weinberg Dengesi Sonuçları

Çalışmadaki hasta sayılarının Hardy-Weinberg dengesi test edilmiş, genotip ve alel frekansları hesaplanmıştır. Gerçekleştirilen Hardy-Weinberg dengesi testlerinin değerlendirilmesinde ki-kare testi uygulanmıştır. *POR* geni için yapılan Hardy-Weinberg dengesi testleri sonuçları Çizelge 3.12.'de sunulmuştur. *POR* geni için, gözlenen değerler ile beklenen değerlerin birbirine uygun olduğu ve Hardy-Weinberg dengesinde oldukları tespit edilmiştir ($p>0,05$).

Çizelge 3.12. *POR*28* genetik polimorfizmi genotip ve alel frekans, Hardy-Weinberg dengesi testi sonuçları

Gen bölgesi	Genotip	Gözlenen (%)	Beklenen	Allel frekansı (%)	χ^2	<i>p</i>
<i>POR*28</i>	*1/*1	151 (50)	144,6	*1: 418 (69,21) *28: 186 (30,79)	2,95	0,09
	*1/*28	116 (38,41)	128,7			
	*28/*28	35 (11,59)	28,6			
Toplam		302	302			

3.4.3. *POR* Geni, rs1057868, Genotip Sonuçları ve Hastaların Kullandıkları Günlük TKR Dozlarının İlişkisi

Hastaların nakil sonrası, 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları TKR dozları; *POR*1/*1*, *POR*1/*28*, *POR*28/*28* genotiplere sahip hasta grupları arasında kıyaslanmıştır. *Kruskal-Wallis* testi analiz sonuçları Çizelge 3.13.'te sunulmuştur. Analiz sonuçlarına göre, nakil sonrası 10. gün ve birinci ayda üç genotip grubu arasında kullanılan TKR dozları arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (sırayla; $p=0,559$, $p=0,412$). Ancak, 3, 6, 9 ve 12. aylarda kullanılan günlük TKR dozları *POR*28* genotipleri arasında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı bir farklılık olduğu tespit edilmiştir. Gruplar arası fark çıkan zaman aralıklarında, Dunn's test yapılarak, farklılıkların hangi genotip grupları arasında olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 3.13. *POR*28* genetik polimorfizmi ve hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları günlük TKR dozlarının ilişkisi

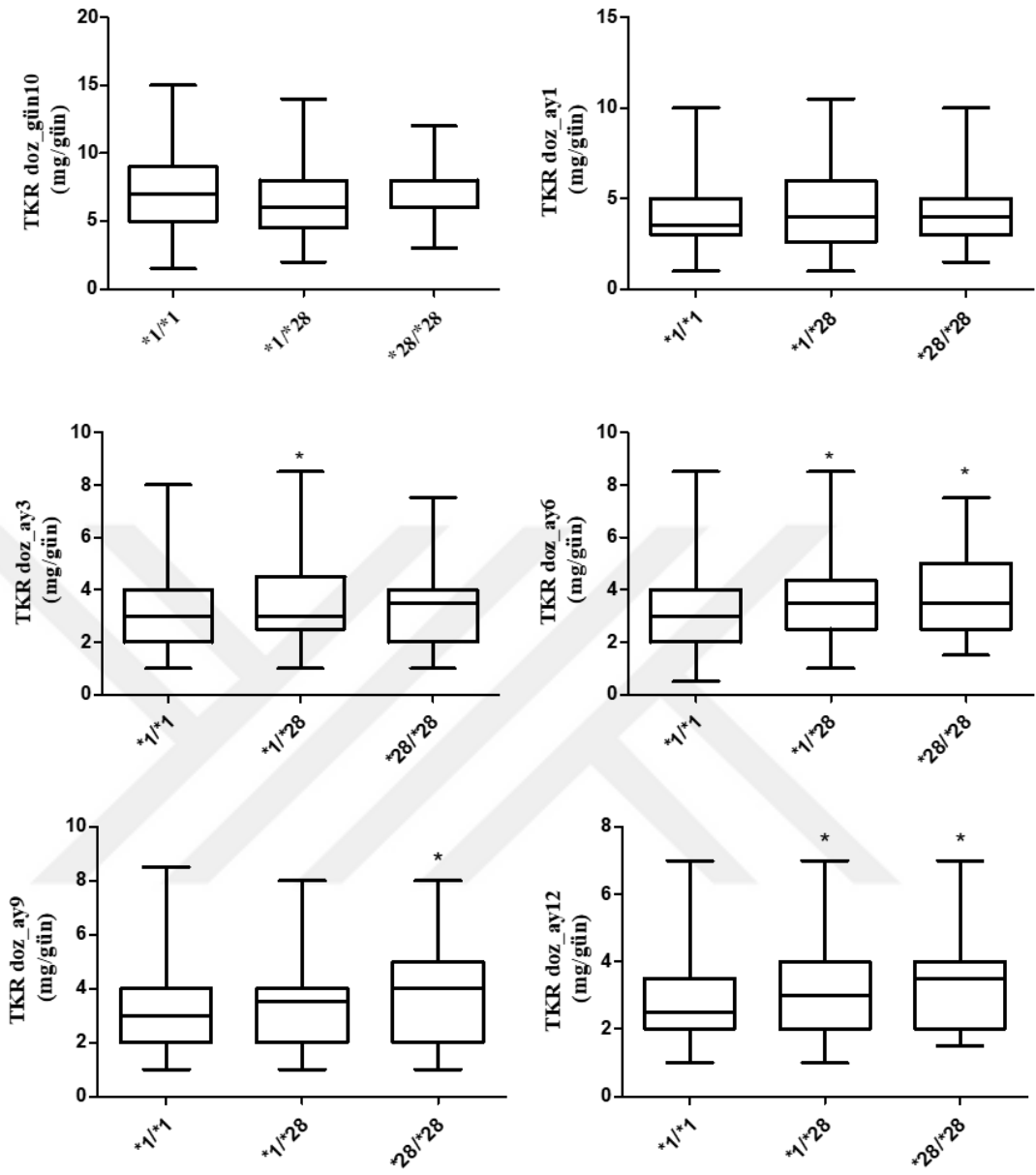
Nakil sonrası zaman	Günlük TKR dozu (mg/gün)			p
	<i>POR*1/*1</i> N=151	<i>POR*1/*28</i> N=116	<i>POR*28/*28</i> N=35	
Gün 10	7,00 (5,00-9,00)	6,00 (4,50-8,00)	6,00 (6,00-8,00)	p=0,559
Ay 1	3,50 (3,00-5,00)	4,00 (2,63-6,00)	4,00 (3,00-5,00)	p=0,412
Ay 3	3,00 (2,00-4,00) ^a	3,00 (2,50-4,50) ^a	3,50 (2,00-4,00)	p=0,016
Ay 6	3,00 (2,00-4,00) ^a	3,50 (2,50-4,36) ^a	3,50 (2,50-5,00)	p=0,015
Ay 9	3,00 (2,00-4,00) ^b	3,50 (2,00-4,00)	4,00 (2,00-5,00) ^b	p=0,036
Ay 12	2,50 (2,00-3,50) ^c	3,00 (2,00-4,00) ^c	3,50 (2,00-4,00) ^c	p=0,027
Toplam	3,00 (2,00-5,00) ^c	4,00 (2,50-5,50) ^c	4,00 (2,50-5,00) ^c	p<0,0001

^a p<0,05, *POR*1/*1* ve *POR*1/*28* genotiplerinin karşılaştırılması

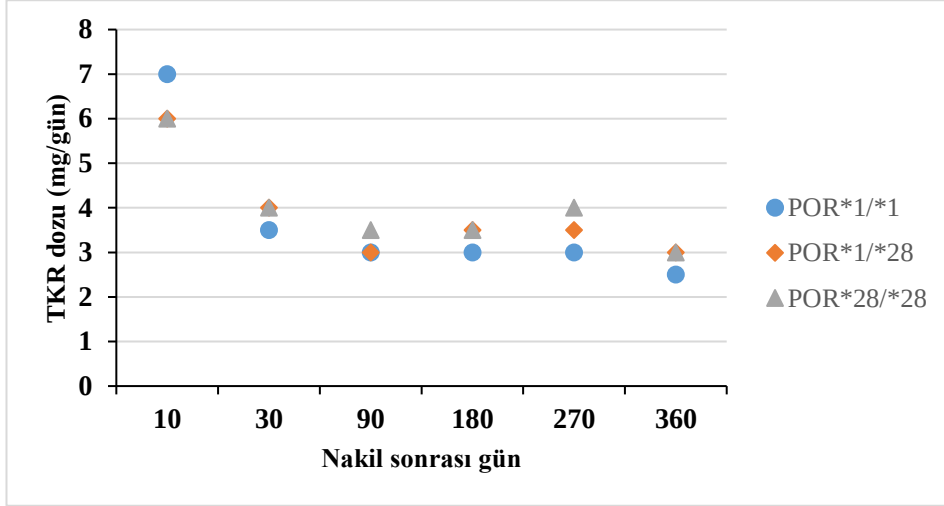
^b p<0,05, *POR*1/*1* ve *POR*28/*28* genotiplerinin karşılaştırılması

^c p<0,05, sırayla; *POR*1/*1* genotipe sahip hastaların, *POR*1/*28* ve *POR*28/*28* genotipleri ile karşılaştırılması

Çizelge 3.13.'de kullanılan TKR dozları ortanca (çeyrekler arası dağılım genişliği) olarak sunulmuştur. Hastaların kullandıkları ortanca TKR dozları incelendiğinde, nakil sonrası 10. günde ve birinci ayda gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmezken, 3. aydan itibaren 12 ay boyunca *POR*28* polimorfizmine bağlı olarak grupların kullandıkları TKR dozları arasında fark olduğu tespit edilmiştir. Şekil 3.24. ve şekil 3.25. farklı zaman dilimlerinde *POR*1/*1*, *POR*1/*28* ve *POR*28/*28* genotiplere sahip hastaların kullandıkları TKR dozlarını göstermektedir.



Şekil 3.24. *POR*1/*1*, *POR*1/*28* ve *POR*28/*28* genotipe sahip hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları günlük TKR dozlarının saplı kutu grafiği ile gösterimi. (*p<0,05 vs **1/*1*).



Şekil 3.25. *POR*1/*1*, *POR*1/*28* ve *POR*28/*28* genotipe sahip hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları ortalanca TKR doz değerlerinin dağılım grafiği ile gösterimi.

3.4.4. *POR* Geni rs1057868, Genotip Sonuçları ve Kilo-Ayarlı TKR Dozlarının İlişkisi

Hastaların nakil sonrası, 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kilo-ayarlı TKR dozları; *POR*1/*1*, *POR*1/*28*, *POR*28/*28* genotiplere sahip hasta grupları arasında kıyaslanmıştır. *Kruskal-Wallis* testi analiz sonuçları Çizelge 3.14.'te sunulmuştur. Analiz sonuçlarına göre, nakil sonrası 10. gün ve birinci ayda üç genotip grubu arasında kullandıkları kilo-ayarlı TKR dozları arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p=0,762$, $p=0,179$). Ancak, 3, 6, 9 ve 12. aylarda kullanılan kilo ayarlı günlük TKR dozları *POR*28* genotipleri arasında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı bir farklılık olduğu tespit edilmiştir. Gruplar arası fark çıkan zaman aralıklarında *Dunn's* test yapılarak, farklılıkların hangi genotip grupları arasında olduğu tespit edilmiştir.

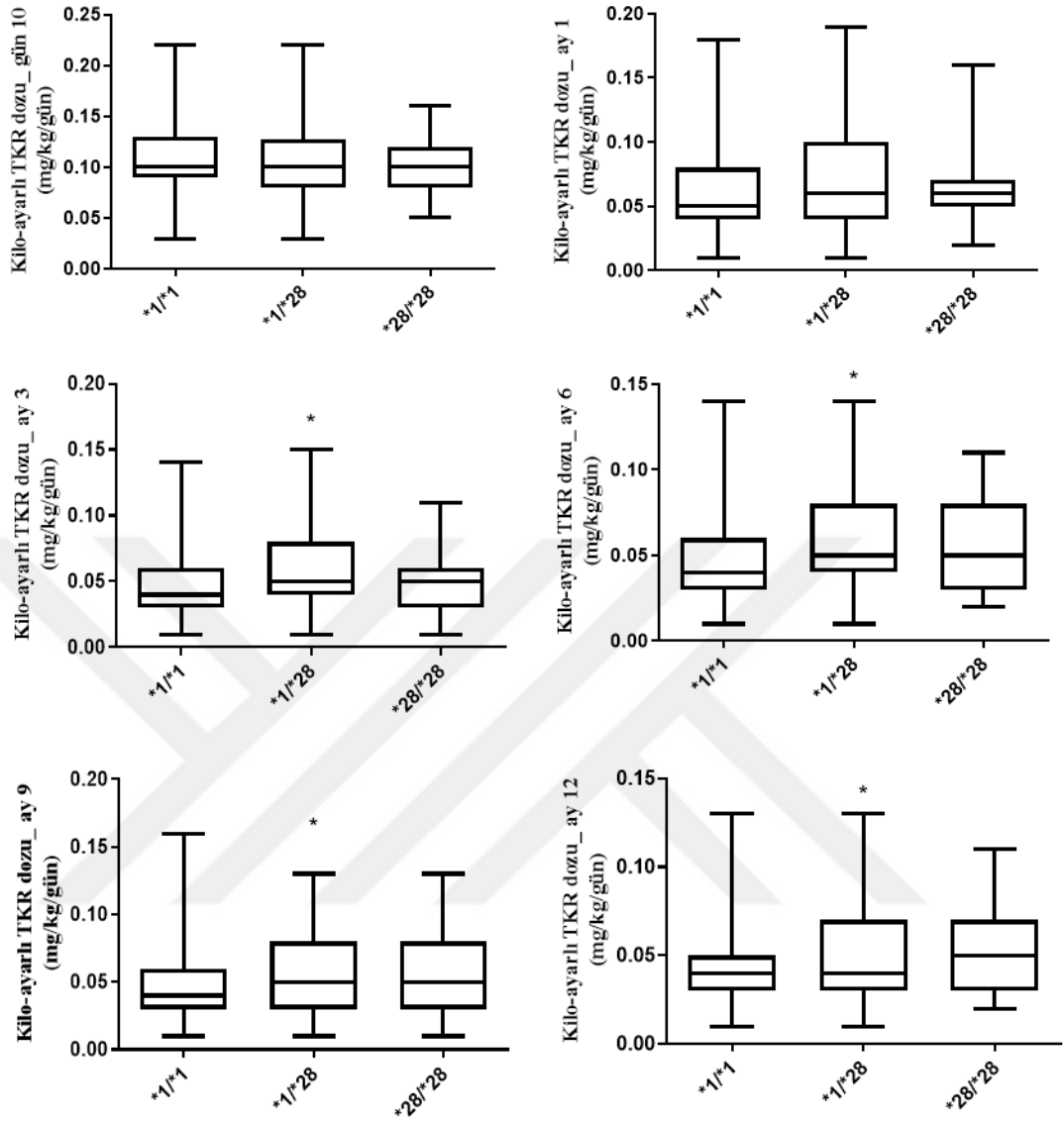
Çizelge 3.14. *POR*28* genetik polimorfizmi ve hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları kilo-ayarlı TKR dozlarının ilişkisi

	Kilo ayarlı günlük TKR dozu (mg/kg/gün)			<i>p</i>
	<i>POR*1/*1</i> N=151	<i>POR*1/*28</i> N=116	<i>POR*28/*28</i> N=35	
Gün 10	0,10 (0,09-0,13)	0,10 (0,08-0,13)	0,10 (0,08-0,12)	<i>p</i> =0,762
Ay 1	0,05 (0,04-0,08)	0,06 (0,04-0,10)	0,06 (0,05-0,07)	<i>p</i> =0,179
Ay 3	0,04 (0,03-0,06) ^a	0,05 (0,04-0,08) ^a	0,05 (0,03-0,06)	<i>p</i> =0,003
Ay 6	0,04 (0,03-0,06) ^a	0,05 (0,04-0,08) ^a	0,05 (0,03-0,08)	<i>p</i> =0,014
Ay 9	0,04 (0,03-0,06) ^a	0,05 (0,03-0,08) ^a	0,05 (0,03-0,08)	<i>p</i> =0,037
Ay 12	0,04 (0,03-0,05) ^a	0,04 (0,03-0,07) ^a	0,05 (0,03-0,07)	<i>p</i> =0,019
Toplam	0,05 (0,03-0,08) ^b	0,06 (0,04-0,09) ^b	0,06 (0,04-0,08) ^b	<i>p</i> <0,0001

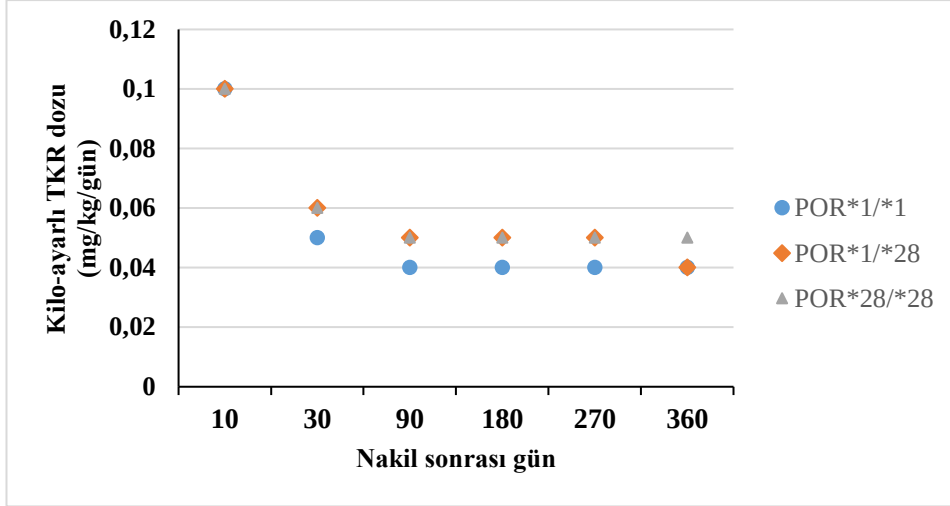
a *p*<0,05, *POR*1/*1* ve *POR*1/*28* genotiplerinin karşılaştırılması

b *p*<0,05, sırayla; *POR*1/*1* genotipe sahip hastaların, *POR*1/*28* ve *POR*28/*28* genotipleri ile karşılaştırılması

Çizelge 3.14.'de kullanılan kilo-ayarlı TKR dozları ortanca (çeyrekler arası dağılım genişliği) olarak sunulmuştur. Hastaların kullandıkları ortanca TKR dozları incelendiğinde, nakil sonrası 10. günde ve birinci ayda gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmezken, 3. aydan itibaren 12 ay boyunca *POR*28* polimorfizmine bağlı olarak grupların kullandıkları kilo-ayarlı TKR dozları arasında fark olduğu tespit edilmiştir. Şekil 3.26. ve Şekil 3.27. farklı zaman dilimlerinde *POR*1/*1*, *POR*1/*28* ve *POR*28/*28* genotiplere sahip hastaların kullandıkları kilo-ayarlı TKR dozlarını göstermektedir.



Şekil 3.26. *POR*1/*1*, *POR*1/*28* ve *POR*28/*28* genotipe sahip hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları kilo-ayarlı TKR dozlarının saplı kutu grafiği ile gösterimi. (* $p < 0,05$ vs **1/*1*).



Şekil 3.27. *POR*1/*1*, *POR*1/*28* ve *POR*28/*28* genotipe sahip hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları ortalama kilo-ayarlı TKR doz değerlerinin dağılım grafiği ile gösterimi.

3.4.5. *POR* Geni rs1057868, Genotip Sonuçları ve Kan TKR Düzeylerinin İlişkisi

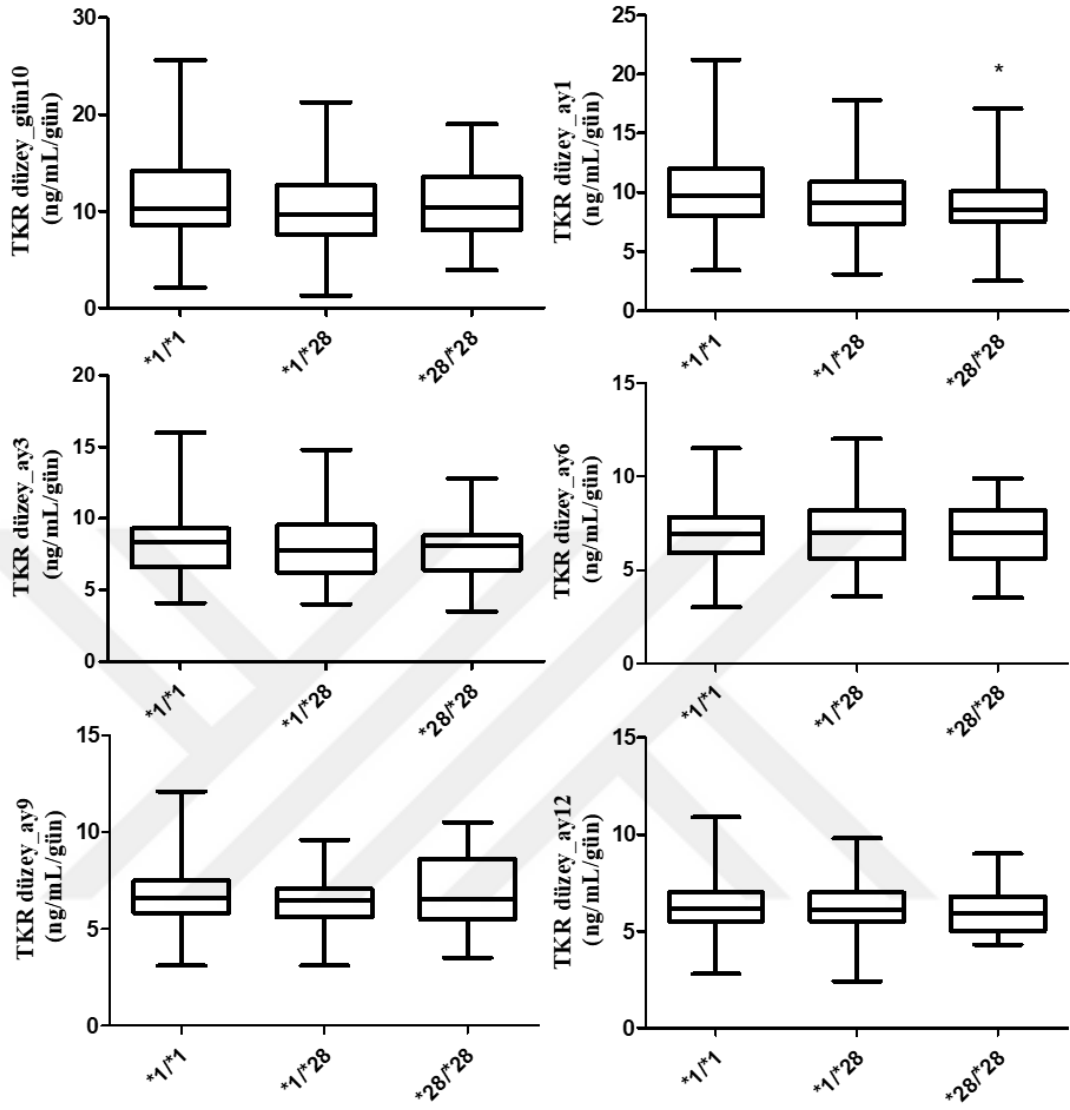
Hastaların nakil sonrası 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda ölçülen kan TKR düzeyleri *POR*1/*1*, *POR*1/*28*, *POR*28/*28* genotiplere sahip hasta grupları arasında kıyaslanmıştır. *Kruskal-Wallis* testi analiz sonuçları Çizelge 3.15.'te sunulmuştur. Analiz sonuçlarına göre, nakil sonrası birinci ayda üç genotip grubu arasında ölçülen kan TKR düzeyleri arasında anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p=0,016$). Nakil sonrası 10. gün, 3, 6, 9 ve 12. aylarda ölçülen kan TKR düzeyleri *POR*28* genotipleri arasında kıyaslandığında gruplar arasında anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir. Gruplar arası fark çıkan zaman aralıklarında, Dunn's test yapılarak, farklılıkların hangi genotip grupları arasında olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 3.15. *POR*28* genetik polimorfizmi ve nakilsonrası 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda ölçülen kan TKR düzeylerinin ilişkisi

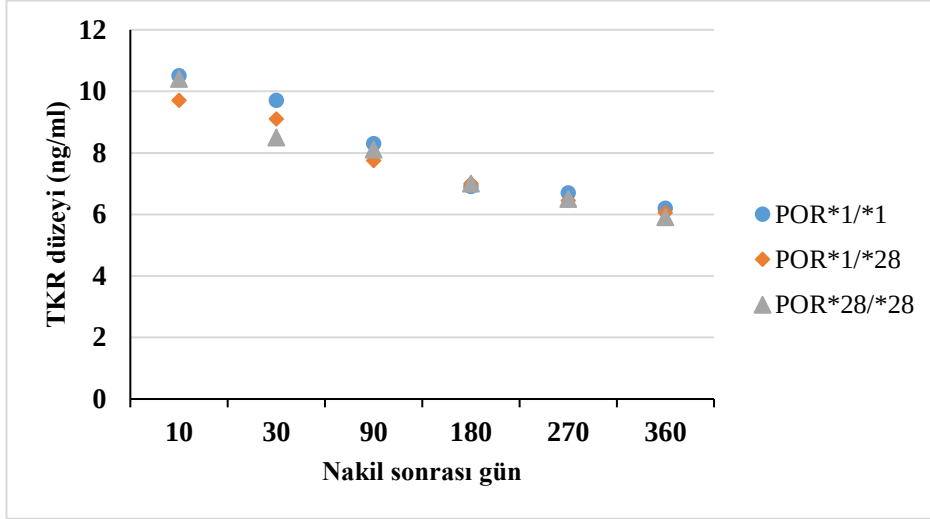
Nakil sonrası zaman	Kan TKR düzeyi (ng/ml)			<i>p</i>
	<i>POR*1/*1</i> N=151	<i>POR*1/*28</i> N=116	<i>POR*28/*28</i> N=35	
Gün 10	10,30 (8,60-14,10)	9,70(7,53-12,68)	10,40 (8,00-13,50)	p=0,070
Ay 1	9,70 (8,00-12,00) ^a	9,10 (7,33-10,88) ^a	8,50 (7,50-10,10) ^a	p=0,016
Ay 3	8,30 (6,60-9,30)	7,75 (6,23-9,55)	8,10 (6,40-8,80)	p=0,377
Ay 6	6,90 (5,90-7,80)	7,00 (5,60-8,18)	7,00 (5,60-8,20)	p=0,734
Ay 9	6,60 (5,80-7,50)	6,45 (5,60-7,07)	6,50 (5,50-8,60)	p=0,736
Ay 12	6,20 (5,50-7,00)	6,10 (5,50-7,00)	5,90 (5,00-6,80)	p=0,606
Toplam	7,50 (6,10-9,50) ^a	7,20 (6,00-9,10) ^a	7,65 (5,80-9,20) ^a	p=0,042

^a p<0,05, sırayla; *POR*1/*1* genotipe sahip hastaların, *POR*1/*28* ve *POR*28/*28* genotipleri ile karşılaştırılması

Çizelge 3.15.'de ölçülen kan TKR düzeyleri ortanca (çeyrekler arası dağılım genişliği) olarak sunulmuştur. Kan TKR düzeyleri incelendiğinde, nakil sonrası 10. günde ve birinci ayda gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülürken, 3. aydan itibaren 12 ay boyunca *POR*28* polimorfizmine bağlı olarak grupların kan TKR düzeyleri arasında fark olmadığı tespit edilmiştir. Şekil 3.28. ve Şekil 3.29. farklı zaman dilimlerinde *POR*1/*1*, *POR*1/*28* ve *POR*28/*28* genotiplere sahip hastaların kan TKR düzeylerini göstermektedir.



Şekil 3.28. *POR**1/*1, *POR**1/*28 ve *POR**28/*28 genotipe sahip hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kan TKR düzeylerinin saplı kutu grafiği ile gösterimi (* $p < 0,05$ vs *1/*1).



Şekil 3.29. *POR*1/*1*, *POR*1/*28* ve *POR*28/*28* genotipe sahip hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda ölçülen ortalanca kan TKR düzeylerinin dağılım grafiği ile gösterimi.

3.4.6. *POR* Geni rs1057868, Genotip Sonuçları, Kilo- ve doz-ayarlı Kan TKR Düzeylerinin İlişkisi

Hastaların nakil sonrası 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda ölçülen kilo- ve doz-ayarlı kan TKR düzeyleri; *POR*1/*1*, *POR*1/*28*, *POR*28/*28* genotiplere sahip hasta grupları arasında kıyaslanmıştır. Yapılan *Kruskal-Wallis* testi analiz sonuçları Çizelge 3.16.'da sunulmuştur. Analiz sonuçlarına göre, nakil sonrası 10. gün ve 9. ayda ölçülen kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeyleri üç genotip grubu arasında anlamlı farklılık göstermemiştir ($p=0,399$, $p=0,074$). Ancak, 3, 6, ve 12. aylarda ölçülen kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeyleri *POR*28* genotipleri arasında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı bir farklılık olduğu tespit edilmiştir. Gruplar arası fark çıkan zaman aralıklarında, *Dunn's* test yapılarak, farklılıkların hangi genotip grupları arasında olduğu tespit edilmiştir.

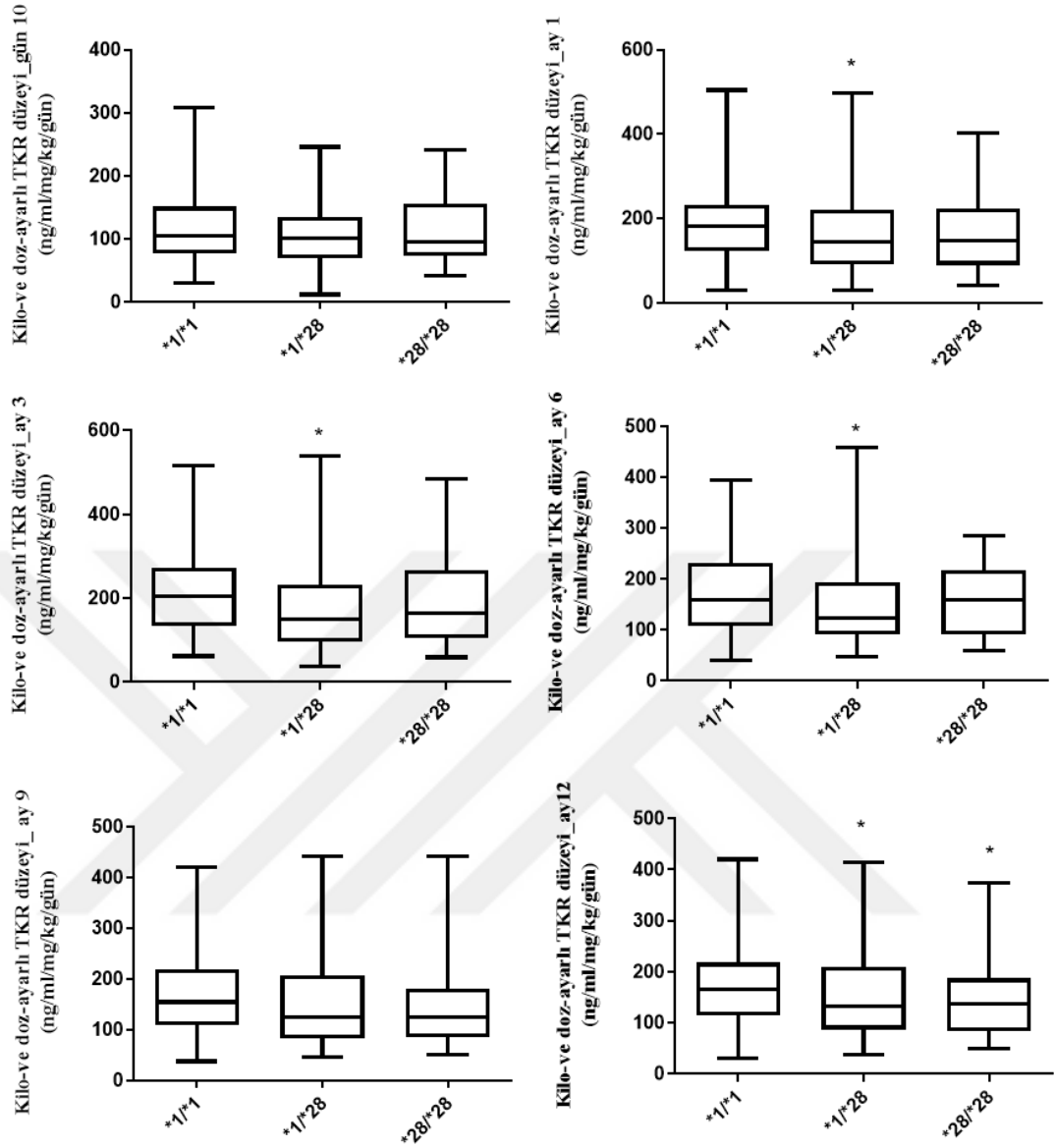
Çizelge 3.16. *POR*28* genetik polimorfizmi ve nakil sonrası 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylardaki kilo- ve doz-ayarlı kan TKR düzeylerinin ilişkisi

Nakil sonrası zaman	Kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeyi ng/ml/(mg/kg/gün)			<i>p</i>
	<i>POR*1/*1</i> N=151	<i>POR*1/*28</i> N=116	<i>POR*28/*28</i> N=35	
Gün 10	105,6 (77,24-151,1)	101,7 (70,31-134,0)	96,12 (73,00-156,6)	<i>p</i> =0,399
Ay 1	180,8 (121,5-233,0) ^a	144,6 (92,44-221,2) ^a	146,0 (89,58-223,5)	<i>p</i> =0,009
Ay 3	203,3 (134,2-272,6) ^a	148,8 (97,40-231,1) ^a	163,4 (105,1-265,7)	<i>p</i> =0,001
Ay 6	158,2 (107,7-232,4) ^a	123,2 (90,32-194,1) ^a	158,7 (90,0-217,6)	<i>p</i> =0,025
Ay 9	154,4 (108,3-218,6)	124,5 (82,49-206,2)	123,9 (84,50-180,0)	<i>p</i> =0,074
Ay 12	165,9 (113,7-217,6) ^b	132,5 (89,16-209,7) ^b	135,9 (82,80-186,7) ^b	<i>p</i> =0,028
Toplam	157,9 (107,6-224,0) ^b	124,3 (87,55-194,1) ^b	136,1 (84,73-206,4) ^b	<i>p</i> <0,0001

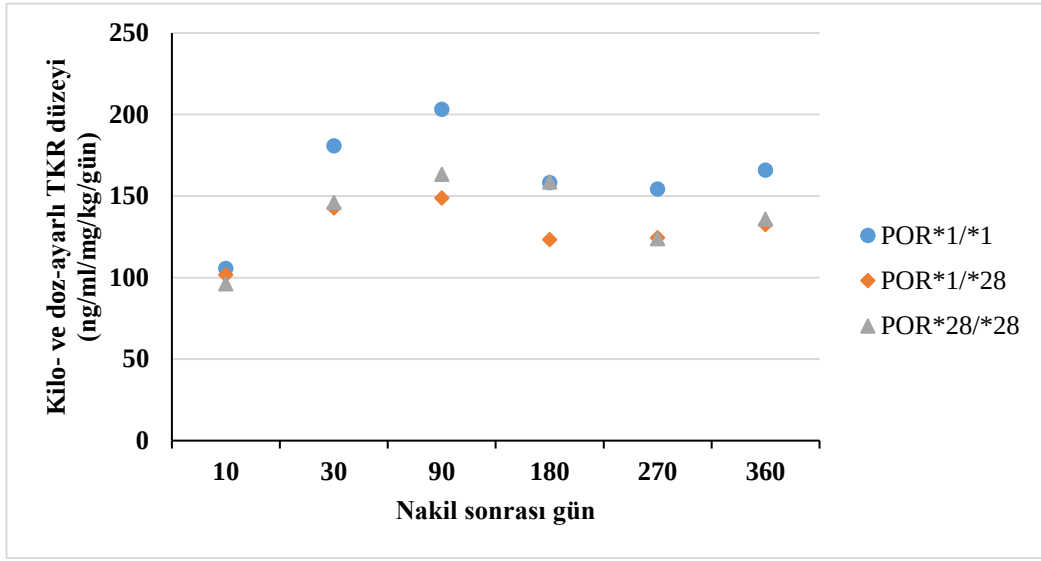
^a *p*<0,05, *POR*1/*1* ve *POR*1/*28* genotiplerinin karşılaştırılması

^b *p*<0,05, sırayla; *POR*1/*1* genotipe sahip hastaların, *POR*1/*28* ve *POR*28/*28* genotipleri ile karşılaştırılması

Çizelge 3.16.'de kilo- ve doz-ayarlı kan TKR düzeyleri ortanca (çeyrekler arası dağılım genişliği) olarak sunulmuştur. Kan TKR düzeyleri incelendiğinde, nakil sonrası 10. günde ve 9. ayda gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. Nakil sonrası 3, 6 ve 12. Aylarda ise *POR*28* polimorfizmine bağlı olarak grupların kilo- ve doz-ayarlı kan TKR düzeyleri arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir. Şekil 3.30. ve Şekil 3.31. farklı zaman dilimlerinde *POR*1/*1*, *POR*1/*28* ve *POR*28/*28* genotiplere sahip hastaların kilo- ve doz-ayarlı kan TKR düzeylerini göstermektedir.



Şekil 3.30. *POR*1/*1*, *POR*1/*28* ve *POR*28/*28* genotipe sahip hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeylerinin saplı kutu grafiği ile gösterimi (* $p < 0,05$ vs *1/*1).



Şekil 3.31. *POR*1/*1*, *POR*1/*28* ve *POR*28/*28* genotipe sahip hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kilo- ve doz-ayarlı ortanca kan TKR düzeylerinin dağılım grafiği ile gösterimi.

3.5. *CYP3A5* Geni, rs776746, *CYP3A4* Geni rs35599367 ve *POR* Geni, rs1057868 Genotip Dağılımı Kombinasyon Analizlerine Ait Bulgular

*CYP3A5**3, *CYP3A4**22 ve *POR**28 polimorfizm kombinasyon grupları, Çizelge 3.17.'de sunulmuştur. Literatürde verilen bilgiler ve polimorfizmlerinin tek başına yapılan analizlerinde elde edilen sonuçlara göre gruplar şekillendirilmiş, olası gruplar: yavaş, orta ve hızlı metabolize eden genotiplere sahip hastalar bir araya getirilerek şekillendirilmiştir. *CYP3A5**3, *CYP3A4**22 ve *POR**28 polimorfizmlerinin kombinasyonlarına göre bireylerin metabolizma durumlarına ait genotip sınıflandırılması Çizelge 3.17.'de sunulmuştur.

Çizelge 3.17. *CYP3A5**3, *CYP3A4**22 ve *POR**28 genotip kombinasyon sınıflandırılması

GENOTİP	METABOLİZMA DURUMU			
	YAVAŞ N=30	ORTA-1 N=228	ORTA-2 N=9	HIZLI N=33
<i>CYP3A5</i>	*3/*3	*3/*3	*1	*1
<i>CYP3A4</i>	*22	*1/*1	*1/*1	*1/*1
<i>POR</i>	*1/*1 ve *28	*1/*1 ve *28	*1/*1	*28

3.5.1. CYP3A5 Geni, rs776746, CYP3A4 Geni rs35599367 ve POR Geni, rs1057868 Kombinasyon Genotip Sonuçları ve Hastaların Kullandıkları Günlük TKR Dozlarının İlişkisi

Hastaların nakil sonrası 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları TKR dozları kombine edilmiş CYP3A5*3, CYP3A4*22 ve POR*28 genotip grupları arasında kıyaslanmıştır. Yapılan *Kruskal-Wallis* testi analiz sonuçları Çizelge 3.18.'de sunulmuştur. Analiz sonuçlarına göre, nakil sonrası 10. günde hasta grupları arasında kullanılan TKR dozları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p=0,331$). Ancak, farklı genotip gruplarının 1., 3., 6., 9. ve 12. ayda kullandıkları TKR dozları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Gruplar arası fark çıkan zaman aralıklarında, Dunn's test yapılarak, farklılıkların hangi genotip grupları arasında olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 3.18. CYP3A5*3, POR*28, CYP3A4*22 genetik polimorfizmi ve hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları günlük TKR dozlarının ilişkisi

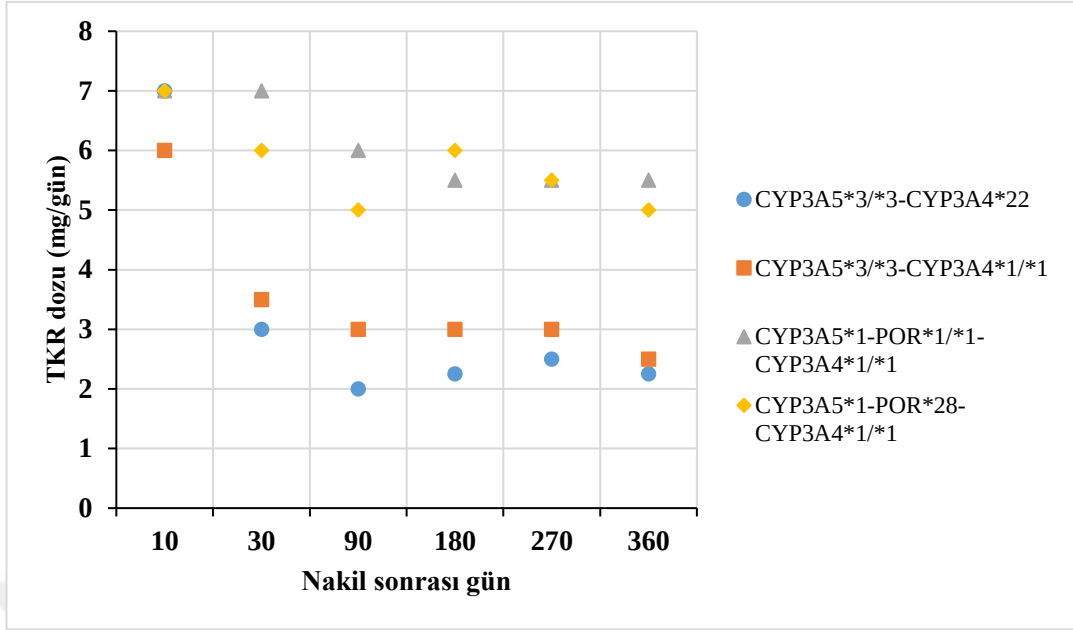
Nakil Sonrası Zaman	Toplam Hasta Grubu			Günlük TKR dozu (mg/gün) (Ortanca)				p ^d
	Ortanca	Standart sapma	Çeyrekler arası dağılım (%25-75)	CYP3A5 *3/*3	CYP3A5 *3/*3	CYP3A5*1	CYP3A5*1	
				CYP3A4*22	CYP3A4 *1/*1	POR*1/*1	POR*28	
				Yavaş	Orta-1	Orta-2	Hızlı	
Gün 10	6,50	2,55	2,0-8,0	7,00	6,00	7,00	7,00	0,331
Ay 1	4,00	2,07	3,0-5,0	3,00 ^{b, c}	3,50 ^{b, c}	7,00 ^c	6,00 ^b	0,0001
Ay 3	3,00	1,58	2,0-4,0	2,00 ^{a, b, c}	3,00 ^{a, b, c}	6,00 ^c	5,00 ^b	0,0001
Ay 6	3,00	1,54	2,0-4,0	2,25 ^{a, b, c}	3,00 ^{a, b, c}	5,50 ^c	6,00 ^b	0,0001
Ay 9	3,00	1,51	2,0-4,0	2,50 ^{a, b, c}	3,00 ^{a, b, c}	5,50 ^c	5,50 ^b	0,0001
Ay 12	3,00	1,41	2,0-4,0	2,25 ^{b, c}	2,50 ^{b, c}	5,50 ^c	5,00 ^b	0,0001
Toplam				2,50 ^{a, b, c}	3,00 ^{a, b, c}	6,00 ^c	5,75 ^b	0,0001

^a $p<0,05$, CYP3A5 *3/*3; CYP3A4*1/*1 ve CYP3A4*22 aleli taşıyanların karşılaştırılması

^b $p<0,05$, sırayla; CYP3A5*3/*3, CYP3A4*1/*1 ve CYP3A4*22 aleli taşıyanlar ile, CYP3A5*1 ve POR*28 aleli taşıyanların karşılaştırılması

^c $p<0,05$, sırayla; CYP3A5*3/*3, CYP3A4*1/*1 ve CYP3A4*22 aleli taşıyanlar ile, CYP3A5*1 aleli taşıyan ve POR*1/*1 genotipe sahip hastaların karşılaştırılması

^d tüm genotip grupları için *post-hoc* test ile çoklu karşılaştırma gerçekleştirilmiştir



Şekil 3.32. *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22* ve *POR*28* genotip gruplarının 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları ortalanca TKR dozlarının dağılım grafiği ile gösterimi.

3.5.2. *CYP3A5* Geni, rs776746, *CYP3A4* Geni rs35599367 ve *POR* Geni, rs1057868 Kombinasyon Genotip Sonuçları ve Hastaların Kan TKR Düzeylerinin İlişkisi

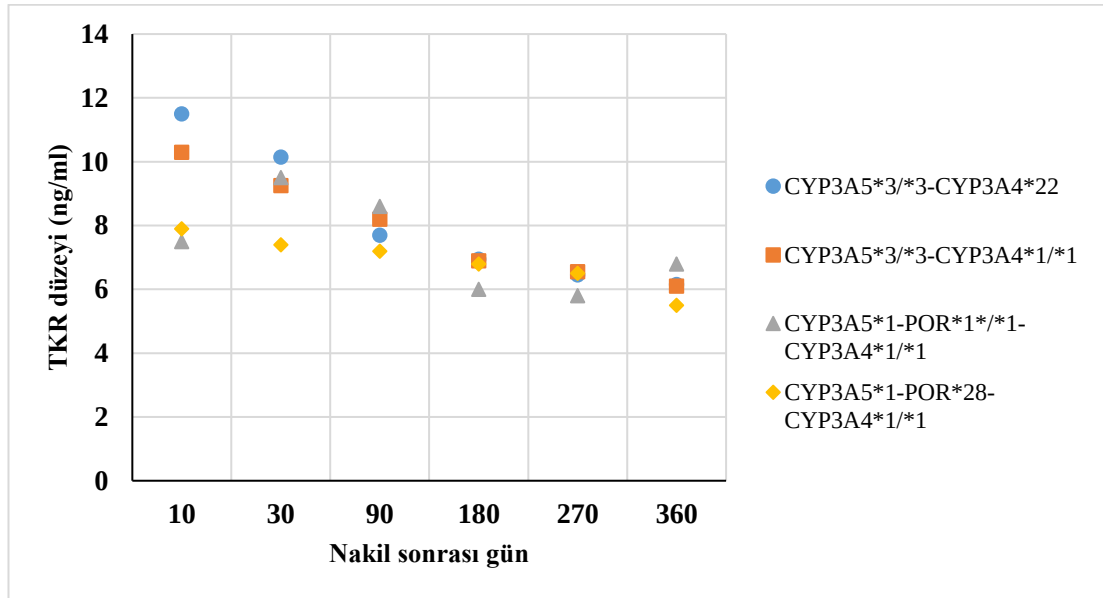
Hastaların nakil sonrası; 10. gün, 1., 3., 6., 9. ve 12. ayda ölçülen kan TKR düzeyleri; kombine edilmiş *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22* ve *POR*28* genotip grupları arasında kıyaslanmıştır. Yapılan *Kruskal-Wallis* testi analiz sonuçları Çizelge 3.19.'da sunulmuştur. Analiz sonuçlarına göre, nakil sonrası 10. günde ve 1. ayda hasta grupları arasında TKR düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($p=0,000$ ve $0,034$). Ancak, farklı genotip gruplarının 3. ay, 6. ay, 9. ay ve 12. ayda ölçülen TKR düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir. Gruplar arası fark çıkan zaman aralıklarında, Dunn's test yapılarak, farklılıkların hangi genotip grupları arasında olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 3.19. CYP3A5*3, POR*28, CYP3A4*22 genetik polimorfizmi ve hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kan TKR düzeylerinin ilişkisi

Nakil Sonrası Zaman	Toplam Hasta Grubu			TKR düzeyi (ng/ml) (Ortanca)				p ^b
	Ortanca	Standart sapma	Çeyrekler arası dağılım (%25-75)	CYP3A5*3/*3	CYP3A5*3/*3	CYP3A5*1	CYP3A5*1	
				CYP3A4*22	CYP3A4*1/*1	POR*1/*1	POR*28	
				Yavaş	Orta-1	Orta-2	Hızlı	
Gün10	10,20	4,31	8,0-13,7	11,50 ^a	10,30 ^a	7,50	7,90 ^a	0,0001
Ay1	9,20	2,95	7,6-11,1	10,15 ^a	9,25 ^a	9,50	7,40 ^a	0,034
Ay3	8,00	2,23	6,5-9,3	7,70	8,20	8,60	7,20	0,35
Ay6	6,90	1,56	5,8-7,9	6,95	6,90	6,00	6,80	0,631
Ay9	6,50	1,50	5,6-7,5	6,45	6,55	5,80	6,50	0,341
Ay12	6,00	1,29	5,5-6,9	6,15	6,10	6,80	5,50	0,061
Toplam				7,50 ^a	7,50 ^a	7,10	6,60 ^a	p<0,001

^a p<0,05, sırayla; CYP3A5*3/*3, CYP3A4*1/*1 ve CYP3A4*22 aleli taşıyanlar ile, CYP3A5*1 ve POR*28 aleli taşıyanların karşılaştırılması

^b tüm genotip grupları için *post-hoc* test ile çoklu karşılaştırma gerçekleştirilmiştir



Şekil 3.33. CYP3A5*3, CYP3A4*22 ve POR*28 genotip gruplarının 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları ortalama TKR düzeylerinin dağılım grafiği ile gösterimi.

3.5.3. CYP3A5 Geni, rs776746, CYP3A4 Geni rs35599367 ve POR Geni, rs1057868 Kombinasyon Genotip Sonuçları ve Hastaların Kilo- ve Doz-Ayarlı TKR Düzeylerinin İlişkisi

Hastaların nakil sonrası 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda ölçülen kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeyleri; kombine edilmiş CYP3A5*3, CYP3A4*22 ve POR*28 genotip grupları arasında kıyaslanmıştır. Yapılan *Kruskal-Wallis* testi analiz sonuçları Çizelge 3.20.'de sunulmuştur. Analiz sonuçlarına göre, nakil sonrası 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda hasta grupları arasında kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($p=0,0001$). Gruplar arası fark çıkan zaman aralıklarında, Dunn's test yapılarak, farklılıkların hangi genotip grupları arasında olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 3.20. CYP3A5*3, POR*28, CYP3A4*22 genetik polimorfizmi ve hastaların 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeylerinin ilişkisi

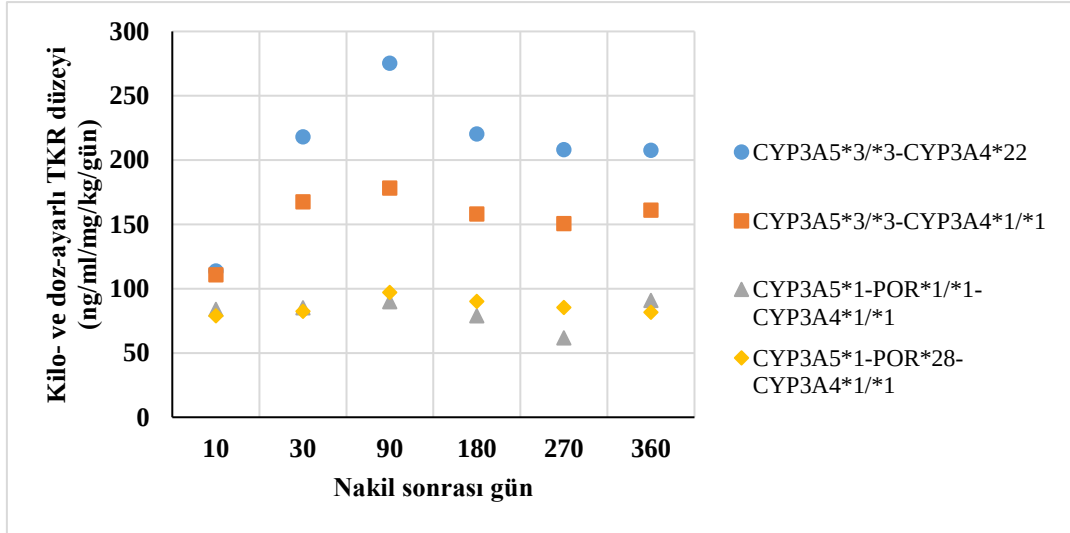
Nakil Sonrası Zaman	Toplam Hasta Grubu			Doz ve kilo ayarlı TKR düzeyi (ng/ml/mg/kg/gün) (Ortanca)				p^d
	Ortanca	Standart sapma	Çeyrekler arası dağılım (25-75)	CYP3A5*3/*3	CYP3A5*3/*3	CYP3A5*1	CYP3A5*1	
				CYP3A4*22	CYP3A4*1/*1	POR*1/*1	POR*28	
				Yavaş	Orta-1	Orta-2	Hızlı	
Gün 10	102,30	56,44	75,8-14,6	113,64 ^{b c}	110,55 ^{b c}	83,75 ^c	78,73 ^b	0,0001
Ay1	160,55	91,82	108,2-230,4	217,98 ^{b c}	167,47 ^{b c}	85,05 ^c	82,25 ^b	0,0001
Ay3	169,93	105,49	118,3-236,5	275,15 ^{a b c}	178,02 ^{a b c}	89,68 ^d	96,90 ^b	0,0001
Ay6	146,70	82,28	99,0-217,6	220,05 ^{a b c}	157,87 ^{a b c}	78,75 ^c	90,00 ^b	0,0001
Ay9	145,90	90,35	89,1-212,3	207,84 ^{a b c}	150,40 ^{a b c}	61,47 ^c	85,17 ^b	0,0001
Ay12	151,80	82,15	151,8-212,0	207,50 ^{a b c}	160,80 ^{a b c}	90,72 ^c	81,62 ^b	0,0001
Toplam				206,5 ^{a b c}	154,4 ^{a b c}	82,36 ^c	82,80 ^b	0,0001

^a $p<0,05$, CYP3A5 *3/*3; CYP3A4*1/*1 ve CYP3A4*22 aleli taşıyanların karşılaştırılması

^b $p<0,05$, sırayla; CYP3A5*3/*3, CYP3A4*1/*1 ve CYP3A4*22 aleli taşıyanlar ile, CYP3A5*1 ve POR*28 aleli taşıyanların karşılaştırılması

^c $p<0,05$, sırayla; CYP3A5*3/*3, CYP3A4*1/*1 ve CYP3A4*22 aleli taşıyanlar ile, CYP3A5*1 aleli taşıyan ve POR*1/*1 genotipe sahip hastaların karşılaştırılması

^d tüm genotip grupları için *post-hoc* test ile çoklu karşılaştırma gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.34. CYP3A5*3, CYP3A4*22 ve POR*28 kombinasyon genotip gruplarının 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylar kilo- ve doz-ayarlı ortalama TKR düzeylerinin dağılım grafiği ile gösterimi.

3.5.4. CYP3A5 Geni, rs776746, CYP3A4 Geni rs35599367 ve POR Geni, rs1057868 Kombinasyon Genotip Sonuçları ve Kan TKR Düzeyi Terapötik Aralıkta Kalan/Kalmayan Hastaların Oranlarının İlişkisi

Hastaların nakil sonrası 10. gün, 1., 3., 6., 9. ve 12. ayda ölçülen kan TKR düzeyleri kombine edilmiş CYP3A5*3, CYP3A4*22 ve POR*28 genotip grupları arasında terapötik aralıkta kalan hasta sayısı ve yüzdeleri temel alınarak kıyaslanmıştır. Yapılan Ki-kare testi analiz sonuçları Çizelge 3.21., Çizelge 3.22. ve 3.23'te sunulmuştur. Analiz sonuçlarına göre, nakil sonrası 10. günde ve 1. ayda genotip grupları arasında TKR düzeyleri terapötik aralıkta kalma yüzdeleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir (10. gün ve 1. ay sırasıyla $p=0,0003$ ve $0,0001$). Ancak, farklı genotip gruplarının 3. aydan itibaren terapötik aralıkta kalma oranları arasındaki bu farklılık ortadan kalkmıştır. Farklı genotip gruplarındaki kişi sayıları ki-kare testine olanak verecek şekilde metabolizma durumlarına göre bir araya getirilerek analizler gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.21. *CYP3A5*3, POR*28, CYP3A4*22* kombinasyon genotip grupları ve hastaların 10. gün TKR düzeylerinin terapötik aralıkta kalma oranlarının ilişkisi

Gün10-TKR düzeyine göre	Genotip				p
	Yavaş N=30 (%)	Orta N=228 (%)	Hızlı N=44 (%)	Toplam N=302 (%)	
TKR düzey >10 ng/ml olan hastalar	21 (70,00)	127 (55,70)	13 (29,54)	161 (53,31)	p=0,0003
TKR düzey 5-10 ng/ml hastalar	7 (23,30)	93 (40,78)	24 (54,54)	124 (41,05)	
TKR düzey <5ng/ml hastalar	2 (6,67)	8 (3,51)	7 (15,90)	17 (5,62)	

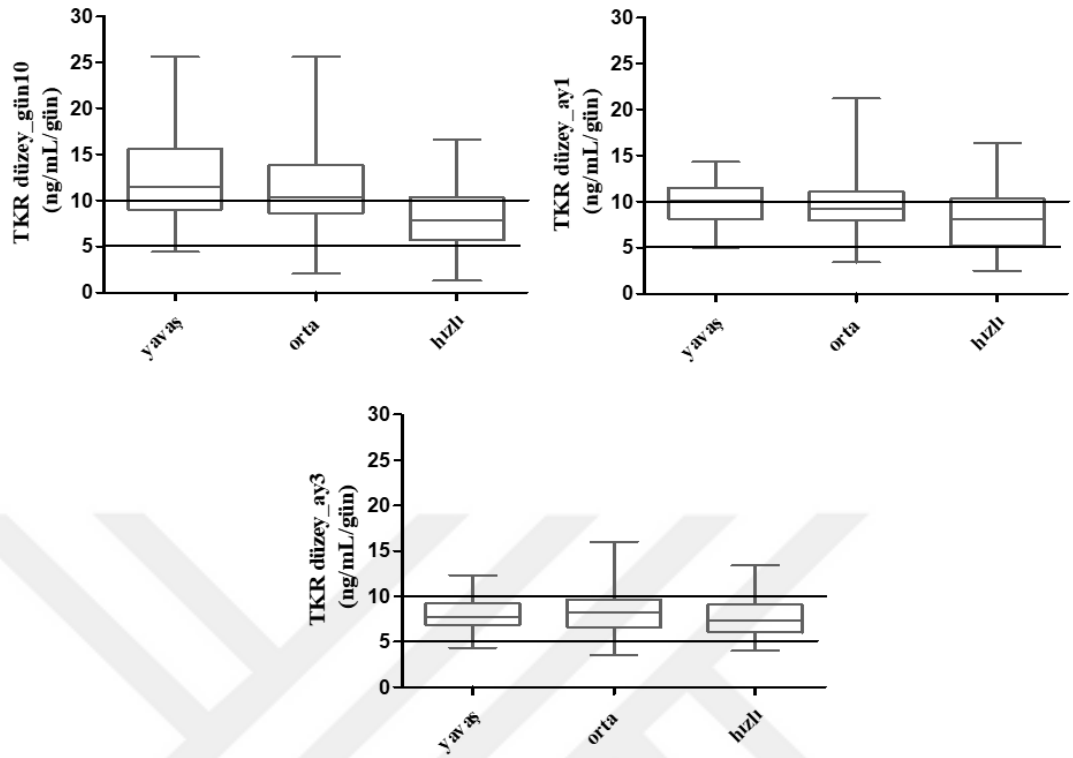
Çizelge 3.22. *CYP3A5*3, POR*28, CYP3A4*22* kombinasyon genotip grupları ve hastaların 1. ay TKR düzeylerinin terapötik aralıkta kalma oranlarının ilişkisi

Ay 1-TKR düzeyine göre	Genotip				p
	Yavaş N=30 (%)	Orta N=228 (%)	Hızlı N=44 (%)	Toplam N=302 (%)	
TKR düzey >10 ng/ml hastalar	16 (53,30)	93 (40,79)	12 (27,27)	121 (40,06)	p=0,0001
TKR düzey 5-10 ng/ml hastalar	14 (46,67)	127 (55,70)	23 (52,57)	164 (54,30)	
TKR düzey <5ng/ml hastalar	0 (0)	8 (3,51)	9 (20,45)	17 (5,62)	

Çizelge 3.23. *CYP3A5*3, POR*28, CYP3A4*22* kombinasyon genotip grupları ve hastaların 3. ay TKR düzeylerinin terapötik aralıkta kalma oranlarının ilişkisi

Ay3_TKR düzeyine göre	Genotip				p
	Yavaş N=30 (%)	Orta N=228 (%)	Hızlı N=44 (%)	Toplam N=302 (%)	
TKR düzey >10 ng/ml hastalar	2 (6,67)	45 (19,74)	8 (18,18)	55 (18,21)	p=0,3148
TKR düzey 5-10 ng/ml hastalar	25 (83,33)	169 (74,12)	35 (79,54)	229 (75,82)	
TKR düzey <5ng/ml hastalar	3 (10,00)	14 (6,14)	1 (2,27)	18 (5,96)	

Şekil 3.35. farklı zaman dilimlerinde *CYP3A5*3, POR*28, CYP3A4*22* kombinasyon genotip gruplarının kan TKR düzeylerini göstermektedir.



Şekil 3.35. *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22* ve *POR*28* kombinasyon genotip gruplarının 10. gün; 1. ay, 3. ay TKR düzeylerinin saplı kutu grafiği ile gösterimi.

Nakil sonrası erken dönemde 10. gün ve 1. ayda, yavaş metabolize eden genotipe hastaların sırayla %70 ve %53,30'u supratherapötik düzeylerde TKR'a maruz kalmaktadır. Yapılan lojistik regresyon analizinde, nakil sonrası 10. günde supratherapötik düzeylerde TKR'a maruz kalma olasılığı yavaş metabolize eden hastalarda, hızlı metabolize eden hastalara göre anlamlı olarak daha yüksektir ($p=0,000$). Benzer şekilde orta düzeyde metabolize eden hastaların da supratherapötik düzeylerde TKR'a maruz kalma olasılığı, hızlı metabolize edenlere göre anlamlı olarak daha yüksektir ($p=0,001$). Analiz sonuçları, Çizelge 3.24 ve Çizelge 3.25.'te sunulmuştur. Nakil sonrası birinci ayda da supratherapötik düzeylerde TKR'a maruz kalma riski yavaş metabolize eden hastalarda, hızlı metabolize eden hastalara göre anlamlı olarak daha yüksektir. Ancak orta düzeyde metabolize eden hastaların supratherapötik düzeylerde TKR'a maruz kalma oranları, hızlı metabolize edenlere göre daha yüksek olmasına rağmen anlamlı değildir.

Çizelge 3.24. CYP3A5*3, POR*28, CYP3A4*22 kombinasyon genotip grupları ve hastaların nakil sonrası 10. gün supratherapötik düzeylerde TKR’a maruz kalma durumlarının ilişkisi

Bağımsız değişken	β	s.h.	OO	p	95% GA	
					En düşük	En yüksek
Yavaş	1,883	0,531	6,576	0,000	2,323	18,616
Orta	1,265	0,375	3,544	0,001	1,698	7,396

β : kısmi lojistik regresyon katsayısı

s.h: standart hata

OO: Olasılıklar oranı

GA: güven aralığı

Çizelge 3.25. CYP3A5*3, POR*28, CYP3A4*22 kombinasyon genotip grupları ve hastaların nakil sonrası 1. ay supratherapötik düzeylerde TKR’a maruz kalma durumlarının ilişkisi

Bağımsız değişken	β	s.h.	OO	p	95% GA	
					En düşük	En yüksek
Yavaş	0,663	0,507	3,221	0,021	1,192	8,701
Orta	1,170	0,376	1,941	0,078	0,929	4,056

β : kısmi lojistik regresyon katsayısı

s.h: standart hata

OO: Olasılıklar oranı

GA: güven aralığı

Nakil sonrası erken dönemde 10. gün ve 1. ayda, hızlı metabolize eden genotipe sahip hastaların sırayla %15,90 ve %20,45’i subterapötik düzeylerde TKR’a maruz kalmaktadır. Yapılan ki-kare testinde subterapötik konsantrasyonlara maruziyet ile genotipler arasında anlamlı bir farklılık olmasına rağmen yapılan lojistik regresyon analizinde 10. günde hızlı veya orta metabolize eden genotipe sahip hastalar yavaş metabolize edenler ile kıyaslandığında anlamlı bir olasılık bulunmamıştır (ki-kare testi $p=0,003$). Nakil sonrası birinci ayda hızlı metabolize edenler yavaş metabolize eden genotipe sahip hastalar ile kıyaslandığında subterapötik düzeyde TKR’a maruz kalma oranları daha yüksek çıkmıştır (ki-kare testi $p=0,001$).

Çizelge 3.26. CYP3A5*3, POR*28, CYP3A4*22 kombinasyon genotip grupları ve hastaların nakil sonrası 10. gün subterapötik düzeylerde TKR’a maruz kalma durumlarının ilişkisi

Bağımsız değişken	β	s.h.	OO	p	95% GA	
					En düşük	En yüksek
Orta	0,675	0,816	0,509	0,408	0,103	2,518
Hızlı	1,103	0,841	2,800	0,221	0,539	14,553

β : kısmi lojistik regresyon katsayısı

s.h: standart hata

OO: Olasılıklar oranı

GA: güven aralığı

Çizelge 3.27. CYP3A5*3, POR*28, CYP3A4*22 kombinasyon genotip grupları ve hastaların nakil sonrası 1. ay subterapötik düzeylerde TKR’a maruz kalma durumlarının ilişkisi

Bağımsız değişken	β	s.h.	OO	p	95% GA	
					En düşük	En yüksek
Orta	0,053	1,079	1,055	0,961	0,127	8,738
Hızlı	2,068	1,084	7,909	0,057	0,994	66,246

β : kısmi lojistik regresyon katsayısı

s.h: standart hata

OO: Olasılıklar oranı

GA: güven aralığı

3.5.5. CYP3A5 Geni, rs776746, CYP3A4 Geni rs35599367 ve POR Geni, rs1057868 Kombinasyon Genotip Sonuçları ve Subterapötik Kan TKR Düzeyi ile Akut Rejeksiyon Arasındaki İlişki

Hastaların nakil sonrası erken dönemde farklı metabolizma kapasitesine sahip genotiplere bağlı olarak, farklı TKR düzeylerine maruziyeti ile akut rejeksiyon yaşayan hastalar arasındaki ilişki ki-kare testi ile analiz edilmiştir. Bu analize ait sonuçlar Çizelge 3.28.’de sunulmuştur. Düşük TKR düzeyine maruz kalan hastalar ile akut rejeksiyon arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Akut rejeksiyon, tanısı uzman hekim tarafından hastanın klinik durumu izlenerek, tanı kriterlerine göre konulmuştur (Solez ve ark., 2008). Bu hastaların hiçbirinde greft kaybı yaşanmamıştır.

Çizelge 3.28. Subterapötik TKR düzeylerine maruz kalan hastalar ile akut rejeksiyon arasındaki ilişki

TKR düzeyine göre hastalar	Akut rejeksiyon yaşamayan hastalar N (%)	Akut rejeksiyon tecrübe eden hastalar N (%)	Toplam N	p
TKR düzeyi >5ng/ml olan hastalar	274 (96,1)	11 (3,9)	285	
TKR düzeyi <5ng/ml olan hastalar	14 (82,4)	3 (17,6)	17	p=0,037

Yapılan lojistik regresyon analizine ait sonuçlar, Çizelge 3.29.'da sunulmuştur. Bu sonuçlara göre subterapötik TKR düzeylerine maruz kalan hastaların, akut rejeksiyon tecrübe etme olasılığı, 5 ng/ml'nin üzerinde TKR düzeylerine maruz kalan hastalardan anlamlı olarak daha yüksektir. Akut rejeksiyon ile ilişkisi olabilecek diğer değişkenlerin (indüksiyon tedavisi, donör tipi, gecikmiş greft fonksiyonu, kreatinin düzeyleri ve eGFR'nin) de olası etkisi kontrol edilmiştir. Yapılan ki-kare ve *Mann-Whitney U* testinde bu değişkenlerden sadece glomerüler filtrasyon hızı ile akut rejeksiyon arasında bir ilişki olduğu tespit edilmiştir. Rejeksiyon gelişmeyen hastalarda glomerüler filtrasyon hızı, rejeksiyona giren hastalara göre daha yüksektir (rejeksiyon olmayan grup eGFR=62,08, rejeksiyon olan grup eGFR=38,55, p=0,001). Bu nedenle, regresyon analizine bağımsız değişken olarak dahil edilmiştir. Glomerüler filtrasyon hızının akut rejeksiyon tecrübe etme olasılığını anlamlı olarak değiştirmedığı tespit edilmiştir.

Çizelge 3.29. Subterapötik TKR düzeylerine maruz kalan hastalar ile akut rejeksiyon tecrübe etmeleri arasındaki ilişki

Bağımsız değişken	β	s.h.	OO	p	95% GA	
					En düşük	En yüksek
Subterapötik konstanrasyona maruz kalan hastalar	1,799	0,726	6,043	0,013	1,455	17,167
eGFR	0,04	0,005	1,004	0,403	0,994	1,015

β : kısmi lojistik regresyon katsayısı

s.h: standart hata

OO: Olasılıklar oranı

GA: güven aralığı

3.5.6. CYP3A5 Geni, rs776746, CYP3A4 Geni rs35599367 ve POR Geni, rs1057868 Kombinasyon Genotip Sonuçları ve Supraterapötik Kan TKR Düzeyi ile Gecikmiş Greft Fonksiyonu Arasındaki İlişki

Hastaların nakil sonrası erken dönemde farklı metabolizma kapasitesine sahip genotiplere bağlı olarak, farklı TKR düzeylerine maruziyeti ile gecikmiş greft fonksiyonu gösteren hastalar arasındaki ilişki ki-kare testi ile analiz edilmiştir. Bu analize ait sonuçlar Çizelge 3.30.'da sunulmuştur. Supraterapötik TKR düzeyine maruz kalan hastalar ile gecikmiş greft fonksiyonu arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Gecikmiş greft fonksiyonu ve değişken kreatinin düzeyleri, kalsinörin inhibitör toksisitesinin birer göstergesi olarak kabul edilmiştir.

Çizelge 3.30. Supraterapötik TKR düzeylerine maruz kalan hastalar ile gecikmiş greft fonksiyonu arasındaki ilişki

TKR düzeyine göre hastalar	Gecikmiş greft fonksiyonu göstermeyen hastalar (%)	Gecikmiş greft fonksiyonu gösteren hastalar (%)	Toplam	<i>p</i>
TKR düzey >10ng/ml olan hastalar	143 (88,8)	18 (11,2)	161	
TKR düzey <10ng/ml olan hastalar	135 (95,7)	6 (4,3)	141	<i>p</i> =0,026

Yapılan lojistik regresyon analizine ait sonuçlar, Çizelge 3.31.'da sunulmuştur. Bu sonuçlara göre supraterapötik TKR düzeylerine maruz kalan hastaların, gecikmiş greft fonksiyonu tecrübe etme olasılığı, 10 ng/ml'nin altında TKR düzeylerine maruz kalan hastalardan anlamlı olarak daha yüksektir. Gecikmiş greft fonksiyonu ile ilişkisi olabilecek diğer değişkenlerin (indüksiyon tedavisi, verici tipi, kreatinin düzeyleri ve eGFR'nin) de olası etkisi kontrol edilmiştir. Yapılan ki-kare ve *Mann-Whitney U* testinde bu değişkenlerden verici tipi ve eGFR ile gecikmiş greft fonksiyonu arasında bir ilişki olduğu tespit edilmiştir. Canlı veya kadavra vericiden nakil yapılmış hastalar ile gecikmiş greft fonksiyonu arasında anlamlı bir ilişki olduğu tespit edilmiştir ($X^2=4,152$, *p*=0,042). Gecikmiş greft fonksiyonu göstermeyen hastaların glomerüler filtrasyon hızı, gecikmiş greft fonksiyonu gösteren hastalara göre daha yüksektir (gecikmiş greft fonksiyonu göstermeyen grup eGFR=62,08, gecikmiş greft fonksiyonu gösteren grup eGFR=48,59, *p*=0,002). Bu iki değişken, regresyon analizine bağımsız

değişken olarak dâhil edildiklerinde, eGFR ve verici tipinin de gecikmiş greft fonksiyonu tecrübe etme olasılığını anlamlı olarak değiştirdiği tespit edilmiştir.

Çizelge 3.31. Supraterapötik TKR düzeylerine maruz kalan hastalar ile gecikmiş greft fonksiyonu tecrübe etmeleri arasındaki ilişki

Bağımsız değişken	β	s.h.	OO	p	95% GA	
					En düşük	En yüksek
Supraterapötik konstanrasyona maruz kalan hastalar	1,732	0,565	5,653	0,002	1,866	17,125
eGFR	-0,032	0,001	0,969	0,006	0,969	0,991
Verici tipi	0,961	0,487	2,614	0,048	1,006	6,792

β : kısmi lojistik regresyon katsayısı

s.h: standart hata

OO: Olasılıklar oranı

GA: güven aralığı

4.TARTIŞMA

TKR, böbrek nakil operasyonunu takiben akut rejeksiyon profilaksisinde kullanılan, immunosüpresif tedavide ilk seçenek olarak görülen ilaç etken maddesidir (Kidney Disease: Improving Global Outcomes Transplant Work, 2009). Ancak, TKR'un dar bir terapötik indekse sahip olması ve bireyler arası doz ihtiyacı ve ilaç düzeyleri bakımından geniş bir çeşitlilik göstermesi klinikte kullanımını oldukça zorlaştırmakta ve bireyler arasındaki bu çeşitlilik ilaç düzeyi izlemine zorunlu hale getirmektedir (Tang ve ark., 2016). Ancak ne yazık ki, bazı hastalar TİDİ yapılmasına rağmen yüksek ya da düşük TKR düzeylerine maruz kalmakta ve buna bağlı olarak istenmeyen etkileri tecrübe etmektedir. TİDİ, nakil sonrası en kritik dönem olan ilk günlerde, bireysel doz ayarlanması için yetersiz kalmaktadır.

4.1. CYP3A5*3 Polimorfizmine Ait Bulguların Değerlendirilmesi

TKR, CYP3A enzimleri tarafından aktif ve inaktif metabolitlerine metabolize edilmektedir. CYP3A5 enzimi, CYP3A4 ile karşılaştırıldığında 2 kat intrinsik TKR klirensine sahiptir (Dai ve ark., 2006). Hepatik CYP3A5 ekspresyonu yapan hastalarda TKR'un %60'ı CYP3A5 aracılığı ile metabolize edilmektedir (Jun ve ark., 2009; Press ve ark., 2009). CYP3A5*3 polimorfizmi, CYP3A5 geni 6986. konumdaki bir pürin nükleotidi olan adeninin diğer bir pürin olan guanine olan baz değişikliğidir. Bu değişiklik, mRNA'da farklılığa neden olmakta ve sonuç olarak fonksiyonel olmayan CYP3A5 proteini oluşmaktadır (Roy ve ark., 2005). CYP3A5 geninde tanımlanmış bu değişiklik (CYP3A5*3 polimorfizmi) birçok popülasyonda dominant olarak görülmektedir. Benzer durum, Türk popülasyonunun dahil olduğu beyaz ırk için de geçerlidir. CYP3A5*3 aleli Avrupa kökenli beyaz ırkta %85-95 oranında görülmektedir (Zhou ve ark., 2017).

Çalışmamıza dahil edilen bireylerin sayılarının CYP3A5*3 polimorfizmi için Hardy-Weinberg dengesi test edilmiş, genotip ve alel frekansları hesaplanmıştır.

CYP3A5 geni için yapılan Hardy-Weinberg dengesi testleri sonuçları Çizelge 3.2.'de sunulmuştur. *CYP3A5* geni için gözlenen değerler ile beklenen değerlerin birbirine uygun olduğu ve Hardy-Weinberg dengesinde oldukları tespit edilmiştir ($X^2=0,26$, $p=0,61$). Elde edilen alel frekansları beyaz ırkta yapılan diğer çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur (*CYP3A5**3 aleli: 0,94, *CYP3A5**1 aleli: 0,06) (Elens ve ark., 2014). Araştırmamızda bulunan alel frekansları ise *CYP3A5**3 aleli için 0,93, *CYP3A5**1 aleli için ise 0,07 olarak hesaplanmıştır.

Hastaların demografik ve klinik verileri (yaş, kilo, vücut kitle indeksi, gecikmiş greft fonksiyonu, cinsiyet, hastanede kalma süresi, nakil öncesi renal replasman tedavisi, indüksiyon tedavisi alma durumu, steroid dozu) *CYP3A5**1 aleli taşıyan hastalar, *CYP3A5**3/*3 genotipe sahip hastalar arasında karşılaştırılmıştır. Bu parametrelerden, *CYP3A5**1 aleli taşıyan hastaların daha fazla gecikmiş greft fonksiyonu gösterdiği tespit edilmiştir ($p=0,029$), ancak bu durum hastanın rejeksiyona girmesi ile ilişki bulunmamıştır ($p=0,369$).

4.1.1 *CYP3A5* Geni rs776746, Genotip Sonuçları ve Hastaların Kullandıkları TKR Dozlarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Hastaların nakil sonrasında kullandıkları TKR dozları incelendiğinde, nakil sonrası 10. günde gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmezken, 1. aydan itibaren 12 ay boyunca tüm zaman aralıklarında *CYP3A5**1 aleli taşıyan hastalar, *CYP3A5**3/*3 genotipe sahip hastalardan yaklaşık 2 kat daha yüksek TKR dozlarına ihtiyaç duymuştur. Böbrek nakilli hastalarda, beyaz ırkta, farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalarda da bulgularımızı destekler şekilde hedef TKR düzeylerine ulaşabilmek üzere *CYP3A5**1 aleli taşıyan hastaların daha yüksek TKR dozlarına ihtiyaç duydukları tespit edilmiştir (Kuypers ve ark., 2014; Lloberas ve ark., 2017). Nakil sonrası 10. günde hastaların TKR dozları arasında anlamlı bir fark bulunmaması doz ayarlamasının henüz terapötik ilaç düzeyi izlemine göre yapılamadığını, TKR dozunun konvansiyonel yöntemlere göre belirlendiğini ve dozlamamanın metabolizma durumu ve *CYP3A5* genotipinden etkilenebileceğini düşündürmektedir.

Bulgularımızla benzer şekilde, kalp, akciğer, böbrek nakil hastalarında gerçekleştirilen çalışmalarda da fonksiyonel olmayan *CYP3A5**3 aleli taşıyan hastaların terapötik aralığa ulaşmak için, *CYP3A5**1 aleli taşıyan hastalardan %50 daha düşük TKR dozlarına ihtiyaç duydukları tespit edilmiştir (Staatz ve ark., 2010a, 2010b). Araştırmamızda da benzer şekilde, hastalar toplamda değerlendirildiğinde *CYP3A5* ekspresyonu yapan hastaların doz ihtiyacı, *CYP3A5**3 aleli taşıyanlardan %100 daha fazla bulunmuştur ($p<0,0001$). Farklı zaman dilimlerinden nakil sonrası 1. ayda iki genotip grubu arasındaki fark en yüksek düzeye ulaşmıştır. *CYP3A5**1 aleli taşıyanlar ile *CYP3A5**3/*3 genotipe sahip hastaların kullandıkları TKR dozları karşılaştırıldığında, *CYP3A5**1 aleli taşıyan hastaların *CYP3A5**3/*3 genotipe sahip hastalarda %133,3 daha yüksek TKR dozu kullandıkları tespit edilmiştir (Çizelge 3.3., $p<0,0001$).

4.1.2. *CYP3A5* Geni rs776746, Genotip Sonuçları ve Kilo-ayarlı TKR dozlarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Hastaların kullandıkları kilo-ayarlı TKR dozları incelendiğinde, nakil sonrası 10. günde gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmemektedir ($p=0,765$). Nakil sonrası 1. aydan itibaren 12 ay boyunca tüm zaman aralıklarında *CYP3A5**1 aleli taşıyan hastaların, *CYP3A5**3/*3 genotipe sahip hastalardan anlamlı olarak daha yüksek TKR dozlarına ihtiyaç duydukları tespit edilmiştir (Çizelge 3.4.). Bu bulgu, operasyonu takiben klinikte TKR doz ayarlanmasının kilo-temelli olarak yapıldığını düşündürmektedir. Genotip grupları arasındaki bu fark özellikle nakil sonrası 1, 3, 6 ve 9. aylarda en yüksek düzeye ulaşmaktadır. *CYP3A5**1 aleli taşıyanlar *CYP3A5**3/*3 genotipe sahip hastalar ile kıyaslandığında; 1, 3, 6 ve 9. aylarda %100 daha yüksek kilo-ayarlı TKR dozuna ihtiyaç duymaktadır. Bulgularımızı destekler sonuçlar farklı çalışma ekipleri tarafından da bulunmuştur. Kuypers ve arkadaşları, ve De Jonge ve arkadaşlarının; beyaz ırkta böbrek nakil hastalarında yaptıkları çalışmalarda da *CYP3A5* ekspresyonu yapan ve yapmayan hasta grupları arasındaki kilo-ayarlı doz ihtiyacı farklılığının nakil sonrası ilk bir yıl devam ettiğini tespit etmişlerdir (de Jonge ve ark., 2011; Kuypers ve ark., 2014).

4.1.3. CYP3A5 Geni rs776746, Genotip Sonuçları ve Ölçülen Kan TKR Düzeylerine Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Hastaların nakil sonrası, 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda ölçülen kan TKR düzeyleri *CYP3A5**3/*3 genotipe sahip olan ve *CYP3A5**1 aleli taşıyan hasta grupları arasında kıyaslanmıştır. Buna göre *CYP3A5**1 aleli taşıyan hastalar, *CYP3A5**3/*3 genotipe sahip bireylere göre nakil sonrası erken dönemde (ilk bir ay) daha düşük TKR düzeylerine maruz kalmaktadır. İleri zamandaki ölçümlerde de aynı durum görülmekle beraber iki grup arasında anlamlı fark 3. aydan itibaren kaybolmaktadır (Çizelge 3.5.). Nakil sonrası TKR tedavisine başlandıktan 90 gün sonra, farklı genotip gruplarındaki hastaların benzer TKR düzeylerine maruz kaldığı tespit edilmiştir. Bu bulgular ışığında transplantasyonu takiben kan TKR konsantrasyon verilerinin elde edilmesiyle hastaların kan TKR düzeylerinin terapötik aralıkta kalmasının sağlanabildiği anlaşılmaktadır.

Kullanılan TKR dozları ve düzeyleri incelendiğinde; hastaların nakil sonrası 10. günde kullandıkları TKR dozları benzer olmasına rağmen (*CYP3A**3/*3 TKR dozu=6,00; *CYP3A5**1 aleli taşıyanlar=7,00; $p=0,156$) *CYP3A5* ekspresyonu yapan hastalarda; TKR düzeyleri, yapmayanlara göre daha düşüktür. *CYP3A5**1 aleli taşıyan hastalar, erken dönemde anlamlı olarak daha düşük TKR düzeylerine maruz kalmaktadırlar (*CYP3A**3/*3 TKR düzeyi=10,40; *CYP3A5**1 aleli taşıyanlar=7,90; $p<0,0001$).

4.1.4. CYP3A5 Geni rs776746, Genotip Sonuçları, Kilo- ve Doz-ayarlı Kan TKR Düzeylerine Ait Bulguların Değerlendirilmesi

*CYP3A5**1 aleli taşıyan hastalar ilk bir yıl boyunca *CYP3A5**3/*3 genotipe sahip hastalardan yaklaşık 2 kat yüksek günlük TKR dozu kullanmalarına rağmen, TKR ilaç düzeyleri *CYP3A5* eksprese eden hastalardan daha düşük seyretmektedir. Benzer şekilde; kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeyleri de 12 ay boyunca, gün10, ay1, ay3, ay6, ay9 ve ay12'de, *CYP3A5**1 aleli taşıyan hastalarda anlamlı olarak daha düşük seyretmektedir. Nakil sonrası tüm zaman aralıkları bir arada değerlendirildiğinde

CYP3A5 ekspresyonu yapan (*CYP3A5*1* aleli taşıyan) hastalar, *CYP3A5*3/*3* genotipe sahip hastalar ile karşılaştırıldığında kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeylerinin %47,26 daha düşük olduğu tespit edilmiştir ($p<0,0001$). Lloberas ve arkadaşlarının, beyaz ırkta yaptıkları çalışmada da benzer şekilde doz-ayarlı TKR düzeylerinin nakil sonrası ilk yıl *CYP3A5*3/*3* genotipe sahip hastalarda anlamlı olarak daha yüksek seyrettiğini tespit etmişlerdir.

Janoot ve arkadaşlarının kalp nakil hastalarında gerçekleştirdikleri bir çalışmada, hastaların nakil sonrası ilk yıl TKR doz ve kan düzeyleri incelenmiştir. Çalışmamız ile benzer şekilde, *CYP3A5*1* aleli taşıyan hastaların doz ihtiyaçlarının 2,2-2,6 kat daha fazla olduğu, kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeylerinin ise *CYP3A5*3/*3* genotipe sahip hastalar ile karşılaştırıldığında tüm zaman aralıklarında anlamlı olarak daha düşük seyrettiği tespit edilmiştir (Lesche ve ark., 2014). Bu sonuç, CYP3A5 aktivitesindeki fonksiyonel defekt nedeniyle, düşük TKR dozlarının, CYP3A5 ekspresyonu yapanlar ile benzer TKR düzeylerine ulaşmak için yeterli olduğunu düşündürmektedir. Bu sonuç, *CYP3A5*3/*3* genotipe sahip hastalar için, düşük TKR dozlarının CYP3A5 ekspresyonu yapan hastalar ile benzer ilaç düzeylerine ulaşmaları için yeterli olduğunu düşündürmektedir.

Elde edilen bu bulgular *CYP3A5*3* polimorfizminin TKR ilaç düzeyi ve doz ihtiyacını etkileyen önemli bir genetik faktör olduğunu düşündürmektedir. Çalışmamızda CYP3A5 ekspresyonu yapmayan hastalar, en az bir adet fonksiyonel *CYP3A5*1* aleli taşıyan hastalar ile karşılaştırıldığında, benzer terapötik TKR düzeylerine ulaşmaları için yaklaşık %50 daha düşük TKR dozunun yeterli olduğu tespit edilmiştir. Bulgularımız Thervet ve arkadaşlarının yaptığı prospektif çalışma ile de desteklenmektedir. Standart kilo-ayarlı TKR dozu ve CYP3A5 genotip-temelli TKR dozu ayarlanmış hasta grupları karşılaştırıldığında, genotip-ayarlı doz alan hastaların terapötik aralıkta yer alma oranlarının daha yüksek olduğu görülmüştür (Thervet ve ark., 2010). Bu durum CYP3A5 genotipinin TKR doz ihtiyaçları üzerine önemli etkisi olduğunu desteklemektedir.

CYP3A5 ekspresyonu yapanlar tüm zaman aralıklarında *CYP3A5**3/*3 genotipe sahip hastalardan daha düşük kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeylerine sahiptir.

*CYP3A5**3 polimorfizminin TKR doz ihtiyaçlarını etkilemiş, kilo-ayarlı TKR dozları incelendiğinde, *CYP3A5* ekspresyonu yapmayan hastaların doz ihtiyaçlarının anlamlı olarak daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

CYP3A5 ekspresyonu yapan hastalarda doz ihtiyacı nakil sonrası ilk yıl, *CYP3A5* ekspresyonu yapamayan hastalara göre 2 kat dah fazladır.

4.2. *CYP3A4* Geni, rs35599367, *CYP3A422 Polimorfizmine Ait Bulguların Değerlendirilmesi**

Çalışmamıza dahil edilen bireylerin sayılarının *CYP3A4**22 polimorfizmi (rs35599367, C>T) için Hardy-Weinberg dengesi test edilmiş genotip ve alel frekansları hesaplanmıştır. *CYP3A4* geni için yapılan Hardy-Weinberg dengesi testleri sonuçları Çizelge 3.7.'de sunulmuştur. *CYP3A4* geni, *22 polimorfizmi için gözlenen değerler ile beklenen değerlerin birbirine uygun olduğu ve Hardy-Weinberg dengesinde oldukları tespit edilmiştir ($X^2=0,95$, $p=0,33$). Elde edilen alel frekansları beyaz ırkta yapılan diğer çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur (*CYP3A4**1 aleli:0,91, *CYP3A4**22 aleli:0,09) (Lloberas ve ark., 2017). Çalışmamızda bulunan alel frekansları ise; *CYP3A4**1 aleli için, 0,95; *CYP3A4**22 aleli için ise 0,05 olarak hesaplanmıştır.

Hastaların demografik ve klinik verileri (yaş, kilo, vücut kitle indeksi, gecikmiş greft fonksiyonu, cinsiyet, hastanede kalma süresi, nakil öncesi renal replasman tedavisi, indüksiyon tedavisi alma durumu, steroid dozu) *CYP3A4**1/*1 genotipe sahip hastalar, *CYP3A4**22 aleli taşıyan hastalar arasında karşılaştırılmıştır. Bu parametrelerden sadece cinsiyetin *CYP3A4**1/*1 genotipe sahip hastalar, *CYP3A4**22 aleli taşıyan hastalar arasında farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($p=0,023$). Ancak yapılan regresyon analizinde cinsiyet bağımsız değişkeninin, TKR ilaç düzeyi ve doz ihtiyacı çeşitliliğini açıklamada anlamlı bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir.

4.2.1. CYP3A4 Geni rs35599367, Genotip Sonuçları ve Hastaların Kullandıkları Günlük TKR Dozlarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Hastaların kullandıkları TKR dozları incelendiğinde, nakil sonrası 10. günde gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmezken ($p=0,891$), 1. aydan itibaren 12 ay boyunca *CYP3A4**1/*1 genotipe sahip hastalar, *CYP3A4**22 aleli taşıyan hastalardan anlamlı olarak daha yüksek TKR dozlarına ihtiyaç duymuştur (Çizelge 3.8.). Hollanda popülasyonunda yapılan bir çalışmada da bulgularımızı destekler sonuçlar elde edilmiştir. Böbrek nakil hastalarında gerçekleştirilen çalışmada, hedef TKR terapötik düzeylerine ulaşmak için, *CYP3A4**1/*22 genotipe sahip hastaların, *CYP3A4**1/*1 genotipe sahip hastalardan %33 daha düşük TKR dozlarına ihtiyaç duyduklarını göstermişlerdir (Elens,Bouamar ve ark., 2011). Çalışmamızda da benzer şekilde, nakil sonrası ilk yılda; *CYP3A4**1/*22 genotipe sahip hastaların, *CYP3A4**1/*1 genotipe sahip hastalardan %28,57 daha düşük TKR dozlarını kullandığı tespit edilmiştir.

*CYP3A4**22 polimorfizmi (rs35599367, C>T) ilk defa Wang ve arkadaşları tarafından, altıncı intron üzerinde, 15389. pozisyonda sitozinden timine olan değişim şeklinde tanımlanmıştır. Bu çalışmada, *CYP3A4**22 polimorfizminin, mRNA ekspresyonunu ve sonuç olarak karaciğer enzim aktivitesini düşürdüğü tespit edilmiştir (Kurzawski ve ark., 2014; Wang ve ark., 2011).

Çalışmamızda da bu bulguyu destekler sonuçlar elde edilmiştir, *CYP3A4**1/*22 genotipe sahip hastaların, enzim aktivitesindeki azalmaya bağlı olarak; *CYP3A4**1/*1 genotipe sahip hastalardan %28,57 daha düşük TKR dozları ile hedef terapötik konsatrasyonlara ulaştıkları tespit edilmiştir. Beyaz ırkta Fransız popülasyonunda yapılan bir çalışmada da varyant *22 aleli taşıyan hastaların *CYP3A4**1/*1 genotipe sahip hastalardan %30 daha düşük TKR dozlarına ihtiyaç duydukları tespit edilmiştir (Pallet ve ark., 2015).

4.2.2. CYP3A4 Geni rs35599367, Genotip Sonuçları ve Kilo-Ayarlı TKR dozlarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Kilo-ayarlı TKR doz ihtiyacı *CYP3A4*1/*1* genotipe sahip hastalar ve *CYP3A4*22* aleli taşıyanlar arasında kıyaslandığında, hastaların kilo-ayarlı TKR dozlarının 10. günde benzer olduğu görülmüştür ($p=0,882$). Nakil sonrası birinci aydan itibaren ise *CYP3A4*1/*1* genotipe sahip hastaların, *CYP3A4*22* aleli taşıyanlar ile kıyaslandığında kilo-ayarlı TKR doz ihtiyaçlarının anlamlı olarak daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ve bu durum nakil sonrası ilk yıl devam etmektedir (Çizelge 3.9.). Hastalar nakil sonrası ilk yıl, tüm zaman aralıklarındaki kilo-ayarlı TKR dozları birarada değerlendirildiğinde, kilo-ayarlı TKR doz ihtiyacının *CYP3A4*1/1* genotipe sahip hastalarda, **22* aleli taşıyanlardan %25 daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0,0001$). Bu fark özellikle nakil sonrası 3, 6 ve 9. aylarda en yüksek düzeye ulaşmaktadır. *CYP3A4*1/*1* genotipe sahip hastalar, *CYP3A4*22* aleli taşıyanlar ile kıyaslandığında 3, 6 ve 9. aylarda %66,67 daha yüksek kilo-ayarlı TKR dozlarına ihtiyaç duymaktadır.

4.2.3. CYP3A4 Geni rs35599367, Genotip Sonuçları ve Kan TKR Düzeylerine Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Hastaların nakil sonrası, 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda ölçülen kan TKR düzeyleri *CYP3A4*1/*1* ve *CYP3A4*22* aleli taşıyan hasta grupları arasında kıyaslanmıştır. Analiz sonuçlarına göre, nakil sonrası 10. gün ölçülen TKR düzeyleri *CYP3A4*1/*1* ve *CYP3A4*22* aleli taşıyan hasta grupları arasında anlamlı farklılık göstermiştir ($p=0,021$). *CYP3A4*1/*1* genotipe sahip hastalar, *CYP3A4*22* aleli taşıyan hastalardan anlamlı olarak daha düşük TKR düzeylerine maruz kalmaktadır. İki grup arasındaki anlamlı fark 1. aydan itibaren kaybolmakta, iki genotip grubundaki hastalar da benzer TKR düzeylerine maruz kalmaktadır (Çizelge 3.10.).

Hastaların kan TKR düzeyleri, nakil sonrası ilk yıl tüm zaman aralıkları biraraya getirilerek değerlendirildiğinde, *CYP3A4*1/*1* genotipe sahip hastalar, *CYP3A4*22* aleli taşıyan hastalardan daha düşük TKR düzeylerine maruz kalmalarına rağmen bu iki genotip grubu arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p=0,294$).

Hastaların kullandıkları TKR dozları ve kan TKR düzeyleri beraber incelendiğinde; nakil sonrası 10. günde kullanılan TKR dozları benzerdir (*CYP3A4*1/*1* TKR dozu=6,00; *CYP3A4*22* aleli taşıyanlar=6,75; $p=0,891$). Ancak benzer TKR dozlarına rağmen, *CYP3A4*1/*1* genotipe sahip hastalar; *CYP3A4*22* aleli taşıyan hastalar ile karşılaştırıldığında TKR düzeyleri, %11,30 daha düşüktür. *CYP3A4*1/*1* genotipe sahip hastalar erken dönemde anlamlı olarak daha düşük TKR düzeylerine maruz kalmaktadırlar (*CYP3A4*1/*1* TKR düzeyi=10,20; *CYP3A4*22* aleli taşıyanlar=11,50; $p=0,021$). Bu bulgular, TKR doz ve düzey çeşitliliğini açıklamada *CYP3A4*22* polimorfizminin beyaz ırktaki önemini vurgulamaktadır.

4.2.4. CYP3A4 Geni rs35599367, Genotip Sonuçları, Kilo- ve Doz-Ayarlı Kan TKR Düzeylerine Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Hastaların nakil sonrası 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda ölçülen kilo- ve doz-ayarlı kan TKR düzeyleri; *CYP3A4*1/*1* ve *CYP3A4*22* aleli taşıyan hasta grupları arasında kıyaslanmıştır. Analiz sonuçlarına göre, nakil sonrası 10. gün ölçülen kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeyleri *CYP3A4*1/*1* ve *CYP3A4*22* aleli taşıyan hasta grupları arasında anlamlı farklılık göstermemiştir ($p=0,107$). *CYP3A4*1/*1* ve *CYP3A4*22* aleli taşıyan genotip gruplarının 1., 3., 6., 9. ve 12. aylarda ölçülen TKR düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir (Çizelge3.11.).

Tüm zaman aralıkları bir arada değerlendirildiğinde *CYP3A4*1/*1* genotipe sahip hastalar, *CYP3A4*22* aleli taşıyan hastalar ile karşılaştırıldığında kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeylerinin %31,95 daha düşük olduğu tespit edilmiştir ($p<0,0001$). Hastaların nakil sonrası 90.günde TKR doz ihtiyacının artmış olduğu görülmektedir, bu durum genotip grupları arasında anlamlı bir fark olmasa da doz ihtiyacındaki bu artışın kullanılan steroid dozu farkından ileri gelebileceğini düşündürmektedir. (*CYP3A4*22* genotipe sahip grup; steroid dozu: 6,75 (4,00-16,00), *CYP3A4*1/*1*: 4,00 (4,00-16,00, $p=0,42$)).

Kurzawski ve arkadaşlarının, beyaz ırkta böbrek nakil hastalarında gerçekleştirdikleri çalışmada, *CYP3A4**22 polimorfizminin kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeylerini etkilediğini göstermektedir. Çalışmamız ile benzer şekilde, *CYP3A4**22 aleli taşıyan hastaların nakil sonrası birinci aydan itibaren daha yüksek kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeylerine sahip olduğu, ancak bu farklılığın sadece nakil sonrası 3. ayda anlamlı düzeyde olduğu tespit edilmiştir (Kurzawski ve ark., 2014).

4.3. *POR* Geni, rs1057868, *POR28 Polimorfizmine Ait Bulguların Değerlendirilmesi**

Çalışmamıza dahil edilen bireylerin sayılarının *POR**28 polimorfizmi (rs1057868) için Hardy-Weinberg dengesi test edilmiş genotip ve alel frekansları hesaplanmıştır. *POR* geni için yapılan Hardy-Weinberg dengesi testleri sonuçları Çizelge 3.12.'de sunulmuştur. *POR* geni için, gözlenen değerler ile beklenen değerlerin birbirine uygun olduğu ve Hardy-Weinberg dengesinde oldukları tespit edilmiştir ($X^2=2,95$, $p=0,09$). Elde edilen alel frekansları beyaz ırkta yapılan diğer çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur (*POR**1 aleli: 0,70, *POR**28 aleli: 0,30) (Jannot ve ark., 2016). Çalışmamızda bulunan alel frekansları; *POR**1 aleli için 0,69, *POR**28 aleli için ise 0,31 olarak bulunmuştur.

Hastaların demografik ve klinik verileri (yaş, kilo, vücut kitle indeksi, gecikmiş greft fonksiyonu, cinsiyet, hastanede kalma süresi, nakil öncesi renal replasman tedavisi, indüksiyon tedavisi alma durumu, steroid dozu) *POR**1/*1, *POR**1/28 ve *POR**28/*28 genotipe sahip hastalar arasında karşılaştırılmıştır. Bu parametrelerden hiçbir genotip grupları arasında farklılık göstermemiştir.

4.3.1. *POR* Geni, rs1057868, Genotip Sonuçları ve Hastaların Kullandıkları Günlük TKR Dozlarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi

POR geni *CYP3A* enzimlerine elektron transferi görevi nedeniyle, TKR metabolizmasında özellikle üzerinde durulan ve bireyler arası metabolizma

farklılıklarında rolü olduğu düşünölen bir gendir (Elens ve ark., 2014). Mikrozo­mal CYP enzimleri oksidasyon reaksiyonlarını katalizleyen, elektron transfer zincirinde terminal enzimlerdir. Sitokrom P450 oksidoredöktaz (POR), NADPH'tan CYP450 enzimlerine elektron transferinden sorumludur. Tüm mikrozo­mal P450 enzimleri, katalitik aktivitelerini göstermek için POR'a ihtiyaç duymaktadırlar (Elens ve ark., 2014; J. J. Zhang ve ark., 2015). *POR* geni üzerinde tanımlanmış, *POR**28 polimorfizmi, POR'un elektron transferi aktivitesini artıran fonksiyonel etkisi olan bir polimorfizmdir (Elens,Sombogaard ve ark., 2013). Bu nedenle de CYP3A enzim aktivitesini artırabileceğı düşünölmektedir.

Klinik olarak değeriendirildiğinde, *POR**28 polimorfizminin TKR ilaç düzeyi ve doz ihtiyacındaki çeşitliliğı açıklamada etkisi olabileceğı ve *POR**28 aleli taşıyan bireylerin daha hızlı TKR metabolizmasında rolü olabileceğı düşünölmektedir (Jannot ve ark., 2016). De Jonge ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada *POR**28 aleli ile CYP3A5 aktivitesini ilişkili bulmuş, böbrek nakil hastalarında en az bir adet *POR**28 aleli taşıyan ve CYP3A5 ekspresyonu yapan hastaların daha düşük TKR düzeylerine maruz kaldıklarını bulmuşlardır (de Jonge ve ark., 2011). Elens ve arkadaşları, en az bir *POR**28 aleli taşıyan ve CYP3A5 ekspresyonu yapan hastaların TKR doz ihtiyaçlarının nakil sonrası ilk yıl *POR**1/*1 genotipe sahip bireylerden daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir (Elens ve ark., 2014). Çalışmamızda da benzer şekilde, *POR**28 aleli taşıyan hastaların, kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeyleri daha düşük seyretmekte ve daha yüksek TKR dozlarına ihtiyaç duymaktadırlar.

Hastaların nakil sonrası ilk yıl kullandıkları TKR dozları *POR**1/*1, *POR**1/*28, *POR**28/*28 genotiplere sahip hasta grupları arasında kıyaslanmıştır (Çizelge 3.13.). Analiz sonuçlarına göre, nakil sonrası 10. gün ve birinci ayda üç genotip grubu arasında kullanılan TKR dozları arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (sırayla; p=0,559, p=0,412). Ancak; 3, 6, 9 ve 12. aylarda kullanılan günlük TKR dozları *POR**28 genotipleri arasında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı bir farklılık olduğu tespit edilmiştir. *POR**1/*1 genotipe sahip hastalar, hedef

TKR terapötik düzeylerine ulaşmak için, *POR*28* aleli taşıyan hastalardan daha düşük TKR dozlarına ihtiyaç duymuştur. Hastaların kullandıkları günlük TKR dozları nakil sonrası ilk yıl, tüm zaman aralıkları biraraya getirilerek değerlendirildiğinde *POR*1/*1* genotipe sahip hastaların, *POR*1/*28* ve *POR*28/*28* genotipe sahip hastalardan %25 daha düşük TKR dozlarını kullandığı tespit edilmiştir ($p<0,0001$).

4.3.2. *POR* Geni rs1057868, Genotip Sonuçları ve Kilo-Ayarlı TKR dozlarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Hastaların nakil sonrası 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kilo-ayarlı TKR dozları *POR*1/*1*, *POR*1/*28*, *POR*28/*28* genotiplere sahip hasta grupları arasında kıyaslanmıştır. Analiz sonuçları Çizelge 3.14.'te sunulmuştur. Analiz sonuçlarına göre, nakil sonrası 10. gün ve birinci ayda üç genotip grubu arasında kullandıkları kilo-ayarlı TKR dozları arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (sırasıyla $p=0,762$, $p=0,179$). Ancak, 3, 6, 9 ve 12. aylarda kullanılan kilo ayarlı günlük TKR dozları *POR*28* genotipleri arasında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı bir farklılık olduğu tespit edilmiştir. Kullanılan kilo-ayarlı günlük TKR dozları, 3, 6, 9 ve 12. aylarda incelendiğinde benzer terapötik hedef düzeylere ulaşmak için, *POR*1/*1* genotipe sahip hastaların; *POR*1/*28* genotipe sahip hastalardan anlamlı olarak daha düşük TKR dozlarına ihtiyaç duydukları tespit edilmiştir. Nakil sonrası ilk yıl kullanılan kilo-ayarlı TKR dozları incelendiğinde, en az bir *POR*28* aleli taşıyan hastaların, *POR*1/*1* genotipe sahip hastalardan %20 daha yüksek kilo-ayarlı TKR dozlarına ihtiyaç duydukları tespit edilmiştir. De Jonge ve arkadaşları da beyaz ırkta, böbrek nakil hastalarında yaptıkları çalışmada, en az bir *POR*28* aleli taşıyan hastaların TKR doz ihtiyacının *POR*1/*1* genotipe sahip hastalardan %25 daha fazla olduğunu bulmuşlardır (de Jonge ve ark., 2011).

4.3.3. *POR* Geni rs1057868, Genotip Sonuçları ve Kan TKR Düzeylerine Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Hastaların nakil sonrası 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda ölçülen kan TKR düzeyleri *POR*1/*1*, *POR*1/*28*, *POR*28/*28* genotiplere sahip hasta grupları

arasında kıyaslanmıştır. Analiz sonuçları Çizelge 3.15.'te sunulmuştur. Analiz sonuçlarına göre nakil sonrası; 10. gün, 3, 6, 9 ve 12. aylarda ölçülen kan TKR düzeyleri *POR*28* genotipleri arasında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir. Nakil sonrası birinci ayda üç genotip grubu arasında ölçülen kan TKR düzeyleri arasında anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p=0,016$). Bu bulguya göre, en az bir adet *POR*28* aleli taşıyan hastaların, *POR*1/*1* genotipe sahip hastalara göre daha düşük TKR düzeylerine maruz kaldığı tespit edilmiştir. Tüm zaman aralıkları bir arada değerlendirildiğinde, nakil sonrası ilk yıl, ölçülen TKR düzeyleri incelendiğinde, *POR*1/*28* genotipe sahip hastaların, *POR*1/*1* genotipe sahip hastalardan daha düşük TKR düzeylerine maruz kaldığı tespit edilmiştir. Ancak, *POR*28/*28* genotipe sahip hastalar, *POR*1/*1* genotipe sahip hastalardan daha yüksek TKR düzeylerine sahiptir. Bu durum, henüz genotipe bağlı olarak doz ayarlamasının yapılamadığı 10. gündeki TKR düzeylerindeki farklılığın etkisi ile açıklanabileceği gibi, analizde kullanılan TKR düzeyinin kilo- veya doz- ayarlı olamamasının da etkisi olabileceği düşünülmektedir.

4.3.4. *POR* Geni rs1057868, Genotip Sonuçları, Kilo- ve Doz-Ayarlı Kan TKR Düzeylerine Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Hastaların nakil sonrası 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda ölçülen kilo- ve doz-ayarlı kan TKR düzeyleri *POR*1/*1*, *POR*1/*28*, *POR*28/*28* genotiplere sahip hasta grupları arasında kıyaslanmıştır. Analiz sonuçları Çizelge 3.16.'da sunulmuştur. Analiz sonuçlarına göre, nakil sonrası 10. gün ölçülen kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeyleri üç genotip grubu arasında anlamlı farklılık göstermemiştir ($p=0,399$). Ancak, 3, 6, ve 12. aylarda ölçülen kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeyleri *POR*28* genotipleri arasında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı bir farklılık olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgulara göre, *POR*28* aleli taşıyan hastaların *POR*1/*1* genotipe sahip hastalardan daha düşük kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeylerine sahip oldukları tespit edilmiştir. Benzer sonuçlar, beyaz ırkta, Hollanda popülasyonunda, 49 böbrek nakil hastası üzerinde yapılan çalışmada da elde edilmiştir, en az bir *POR*28* varyant aleli taşıyan hastaların, *POR*1/*1* genotipe sahip hastalardan %16,9 daha düşük doz-ayarlı TKR düzeylerine sahip oldukları bulunmuştur (Elens ve ark., 2014).

Çalışmamızda, *POR**1/*1 genotipe sahip hastalar ile karşılaştırıldıklarında heterozigot *POR**1/*28 genotipe sahip hastaların %21,28, mutant *POR**28/*28 genotipe sahip hastaların ise %13,80 daha düşük kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeylerine sahip oldukları tespit edilmiştir.

4.4. *CYP3A5* Geni, rs776746, *CYP3A4* Geni rs35599367 ve *POR* Geni, rs1057868 Genotip Dağılımı Kombinasyon Analizlerine Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Bu çalışma ile ilk defa *CYP3A5*, *CYP3A4* ve *POR* genotiplerine bağlı olarak, bu kadar geniş bir Türk çalışma popülasyonuna ulaşarak, 8 olası genotip grubu oluşturulmuştur. Bu genotipler; yavaştan hızlı metabolize etme durumuna göre sırasıyla şu şekilde gruplandırılmıştır. *CYP3A5**3/*3, *POR**1/*1, *CYP3A4**22; *CYP3A5**3/*3, *POR**1/*1, *CYP3A4**1/*1; *CYP3A5**3/*3, *POR**28, *CYP3A4**22; *CYP3A5**3/*3, *POR**28, *CYP3A4**1/*1; *CYP3A5**1, *POR**1/*1, *CYP3A4**22; *CYP3A5**1, *POR**1/*1, *CYP3A4**1/*1; *CYP3A5**1, *POR**28, *CYP3A4**22; *CYP3A5**1, *POR**28, *CYP3A4**1/*1.

Ancak yapılacak istatistiksel analizlerin gücünün artırılması amacıyla bu gruplar arasında genetik olarak benzer metabolizma durumundaki genotip grupları bir araya getirilmiş, genotip grubundaki kişi sayısının yetersiz olması durumunda ise analizlere dahil edilmemiştir. *CYP3A5**3, *CYP3A4**22 ve *POR**28 polimorfizm kombinasyon grupları, Çizelge 3.17.'de sunulmuştur. Literatürde verilen bilgiler ve polimorfizmlerinin tek başına yapılan analizlerinde elde edilen sonuçlara göre gruplar: yavaş, orta ve hızlı metabolize eden genotiplere sahip hastalar bir araya getirilerek şekillendirilmiştir.

Gerçekleştirdiğimiz bu çalışmada *CYP3A5*, *CYP3A4* ve *POR* genlerindeki polimorfizmlerin bağımsız olarak, bireyler arası TKR düzey ve doz çeşitliliği ile ilişkilendirilebileceği 4.1., 4.2. ve 4.3. bölümlerde açıklanmıştır. Bilindiği üzere, ilacın metabolizma durumunun sadece tek bir değişken ile açıklanması mümkün değildir. Bu nedenle bu çeşitlilikte etkisi olabilecek olası demografik, klinik ve 3 farklı genetik

parametre yanında bu 3 genotipin kombinasyon etkisinin bu çeşitliliği açıklamada daha etkin bir rolü olabileceği düşünülmektedir. Hastaların demografik ve klinik verileri (yaş, kilo, vücut kitle indeksi, gecikmiş greft fonksiyonu, cinsiyet, hastanede kalma süresi, nakil öncesi renal replasman tedavisi, indüksiyon tedavisi alma durumu, steroid dozu) kombinasyon sonucu elde edilen genotip grupları arasında karşılaştırılmıştır. Bu parametrelerden hiçbirisi, genotip grupları arasında farklılık göstermemiştir.

4.4.1. CYP3A5 Geni, rs776746, CYP3A4 Geni rs35599367 ve POR Geni, rs1057868 Kombinasyon Genotip Sonuçları ve Hastaların Kullandıkları Günlük TKR Dozlarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Hastaların nakil sonrası 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda kullandıkları TKR dozları kombine edilmiş CYP3A5*3, CYP3A4*22 ve POR*28 genotip grupları arasında kıyaslanmıştır. Analiz sonuçları Çizelge 3.18.'de sunulmuştur. Analiz sonuçlarına göre, nakil sonrası 10. günde hasta grupları arasında kullanılan TKR dozları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p=0,331$). Ancak, farklı genotip gruplarının 1., 3., 6., 9. ve 12. aylarda kullandıkları TKR dozları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Bulgulara göre, nakil sonrası 1. aydan itibaren hızlı metabolize eden genotipe sahip bireyler ile yavaş metabolize eden bireyler arasında yaklaşık 2 kat TKR doz farkı tespit edilmiştir. Nakil sonrası 1. aydan itibaren 12 ay boyunca tüm zaman aralıklarında hızlı metabolize eden genotipe sahip hastalar (CYP3A5*1, CYP3A4*1/*1 ve POR*28), yavaş metabolize eden genotipe sahip hastalardan (CYP3A5*3/*3 ve CYP3A4*22) anlamlı olarak daha yüksek TKR dozlarına ihtiyaç duymuştur (Çizelge 3.18.).

İki grup arasındaki bu fark özellikle nakil sonrası 3, 6, 9 ve 12. aylarda en yüksek düzeye ulaşmaktadır (hızlı metabolize eden genotipe sahip bireyler 2 ile 2,67 kat arasında TKR doz ihtiyacı artışı göstermektedir). Nakil sonrası 6. ayda yavaş ve hızlı metabolize eden genotipe sahip gruplar arasındaki fark en yüksek düzeye ulaşmaktadır, hızlı metabolize eden genotipe sahip bireyler hedef TKR düzeylerine ulaşmak için yavaş metabolize edenlerden %166,67 daha yüksek TKR dozlarına

ihtiyaç duymaktadır. Benzer sonuçlar, beyaz ırkta, 298 böbrek nakil hastasında yapılan çalışmada da elde edilmiştir, hızlı metabolize eden genotipe sahip bireyler (CYP3A5*1, POR*28), yavaş metabolize eden genotipe sahip bireylerden (CYP3A5*3/*3, CYP3A4*22) yaklaşık 2 kat daha yüksek TKR dozlarına ihtiyaç duymuşlardır (Kuypers ve ark., 2014). Nakil sonrası ilk yıl kullanılan TKR dozları birarada incelendiğinde, hızlı metabolize eden genotipe sahip hastaların yavaş metabolize eden genotipe sahip hastalardan daha yüksek TKR dozlarına ihtiyaç duydukları tespit edilmiştir. Genotip grupları arasındaki farklılıklar tek tek incelendiğinde, CYP3A5 ekspresyonu yapmayan iki grup arasında en az bir CYP3A4*22 aleli taşıyan hastaların TKR doz ihtiyacının, nakil sonrası 1. aydan itibaren sürekli daha düşük seyretmekte olduğu tespit edilmiştir. Bu iki genotip grubu arasındaki anlamlı farklılık nakil sonrası ilk yıl için tüm zaman aralıkları bir arada değerlendirildiğinde de varlığını korumaktadır. Bu bulgu, CYP3A5 ekspresyonu yapmayan hastalarda, en az bir adet CYP3A4*22 aleli taşımanın hastaların TKR doz ihtiyaçlarını etkileyebileceğini düşündürmektedir.

Beklenildiği gibi CYP3A5, eksprese eden ve etmeyen hasta grupları arasındaki doz ihtiyacı farkı, nakil sonrası 1. aydan itibaren görülmektedir. Ancak, yapılan analizlerde, CYP3A5 ekspresyonu yapan genotip grupları arasında, POR*28 aleli taşımanın doz ihtiyacı üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir.

4.4.2. CYP3A5 Geni, rs776746, CYP3A4 Geni rs35599367 ve POR Geni, rs1057868 Kombinasyon Genotip Sonuçları ve Hastaların Kan TKR Düzeylerine Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Hastaların nakil sonrası 10. gün, 1., 3., 6., 9. ve 12. aylarda ölçülen kan TKR düzeyleri; kombine edilmiş CYP3A5*3, CYP3A4*22 ve POR*28 genotip grupları arasında kıyaslanmıştır. Analiz sonuçları Çizelge 3.19.'da sunulmuştur. Analiz sonuçlarına göre, nakil sonrası 10. günde ve 1. ayda yavaş, orta ve hızlı genotip grupları arasında TKR düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir (p=0,0001 ve 0,034). Ancak, farklı genotip gruplarının 3. ay, 6. ay, 9. ay ve 12. ayda ölçülen TKR düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir.

Bu durum klinisyenlerin, transplantasyonu takiben çok hassas kan TKR konsantrasyonunu kontrol ederek hastaların kan TKR düzeylerinin terapötik aralıkta kalmasını sağlayabileceklerini düşündürmektedir. Farklı genotip grupları arasındaki TKR düzeyleri, nakil sonrası 10. günde incelendiğinde hızlı ve yavaş metabolize eden genotiplere sahip hasta grupları arasındaki farkın en yüksek düzeyde olduğu tespit edilmiştir. Nakil sonrası 10. günde TKR düzeyleri incelendiğinde; CYP3A5 ekspresyonu yapmayan ve CYP3A4*22 aleli taşıyan bireyler ile CYP3A5 ekspresyonu yapan ve POR*28 aleli taşıyan hızlı metabolize eden genotiplere sahip hasta grupları arasındaki farkın en yüksek düzeyde olduğu tespit edilmiştir. Nakil sonrası 1. ayda, bu genotip grupları arasındaki TKR düzey farkı azalmakta, nakil sonrası 90. günden itibaren ise, maruz kalınan TKR düzeyleri arasındaki fark kaybolmaktadır ($p=0,35$). Nakil sonrası ilk yıl, tüm zaman aralıkları birarada değerlendirildiğinde de CYP3A5 ekspresyonu yapan ve POR*28 aleli taşıyan hastaların, CYP3A4*22 aleli varlığından bağımsız olarak, CYP3A5 ekspresyonu yapmayan hastalardan anlamlı olarak daha düşük TKR düzeylerine maruz kaldıkları tespit edilmiştir ($p<0,0001$).

Kullanılan TKR dozları ve düzeyleri incelendiğinde hastaların nakil sonrası 10. günde kullandıkları TKR dozları benzer olmasına rağmen ($p=0,331$) farklı genotiplere sahip hastalar arasındaki kan TKR düzeyleri farklıdır. Nakil sonrası 10. günde; CYP3A5 ekspresyonu yapan ve POR*28 aleli taşıyan hastaların TKR düzeyleri, CYP3A5 ekspresyonu yapmayan, yavaş ve orta düzeyde metabolize eden genotipe sahip hastalara göre anlamlı olarak daha düşüktür.

4.4.3. CYP3A5 Geni, rs776746, CYP3A4 Geni rs35599367 ve POR Geni, rs1057868 Kombinasyon Genotip Sonuçları ve Hastaların Kilo- ve Doz-Ayarlı TKR Düzeylerine Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Hastaların nakil sonrası 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda ölçülen kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeyleri kombine edilmiş CYP3A5*3, CYP3A4*22 ve POR*28 genotip grupları arasında kıyaslanmıştır. Analiz sonuçları Çizelge 3.19.'de sunulmuştur. Analiz sonuçlarına göre, nakil sonrası 10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylarda hasta grupları arasında kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeyleri arasında da anlamlı bir farklılık olduğu

tespit edilmiştir ($p=0,0001$). Yapılan bu analiz ile farklı metabolizma kapasitesine sahip genotip grupları arasında, TKR düzeyleri arasındaki anlamlı farklılığın, doz ve kilonun olası etkisi ortadan kaldırıldığında da devam ettiği tespit edilmiştir. Bu bulgura göre, nakil sonrası ilk yıl kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeyleri incelendiğinde, CYP3A5 ekspresyonu yapan ve *POR*28* aleli taşıyan hastaların, CYP3A5 ekspresyonu yapmayan hastalardan anlamlı olarak daha düşük kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeylerine sahip olduğu tespit edilmiştir. *CYP3A5*1* ve *POR*28* aleli taşıyan hastalar, *CYP3A5*3*3* ve *CYP3A4*22* aleli taşıyan hastalar ile karşılaştırıldığında, yaklaşık %60 daha düşük TKR düzeylerine maruz kaldıkları bulunmuştur ($p<00001$). Benzer şekilde, nakil sonrası ilk yıl için, kullanılan kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeyleri, CYP3A5 ekspresyonu yapmayan hastalar arasında incelendiğinde, *CYP3A4*22* aleli taşıyan ve *CYP3A4*1*1* genotipe sahip hasta grupları arasında da TKR düzeyleri bakımından anlamlı bir farklılık olduğu tespit edilmiştir. CYP3A5 ekspresyonu yapmayan ve *CYP3A4*22* aleli taşıyan hastalar, CYP3A5 ekspresyonu yapmayan ve *CYP3A4*1*1* genotipe sahip hastalardan yaklaşık %25 daha düşük TKR düzeylerine maruz kalmaktadır. Nakil sonrası kullanılan TKR dozu ve maruz kalınan TKR düzeylerinde olduğu gibi, kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeyleri CYP3A5 ekspresyonu yapan hasta grupları arasında incelendiğinde *POR*28* aleli taşımanın CYP3A5 eksprese eden hastalarda anlamlı TKR düzey farklılığına neden olmadığını göstermiştir.

De Jonge ve arkadaşları, beyaz ırkta böbrek nakil hastalarında yaptıkları çalışmada, CYP3A5 eksprese eden hastalarda, *POR*28* aleli taşıyanların *POR*1*1* genotipe sahip hastalardan anlamlı olarak daha düşük doz ayarlı TKR düzeylerine maruz kaldığını ve bu etkinin CYP3A5 eksprese etmeyen hastalarda gözlenmediğini tespit etmiştir (de Jonge ve ark., 2012; de Jonge ve ark., 2011). Benzer şekilde Elens ve arkadaşları da beyaz ırkta böbrek nakil hastalarında yaptıkları çalışmada, CYP3A5 eksprese eden hastalarda, *POR*28* aleli taşıyanların *POR*1*1* genotipe sahip hastalardan anlamlı olarak daha düşük doz-ayarlı TKR düzeylerine maruz kaldığını tespit etmiştir. Ancak bu etkinin sadece tüm zaman aralıkları birarada değerlendirildiğinde elde edildiğini, çalışma süresince ayrı zaman aralıklarında bu farklılığın mevcut olmadığını rapor etmiştir (Elens ve ark., 2014). Bu çalışmalardan

farklı olarak, Lunde ve arkadaşları, TKR tedavisindeki böbrek nakil hastalarında, *POR*28* aleli taşıyan hastaların, *POR*1/*1* genotipe sahip hastalardan %15 daha düşük doz-ayarlı TKR düzeylerine maruz kaldığını tespit etmiştir. Bu farklılığın, CYP3A5 eksprese eden ve etmeyen alt gruplarında bulunmadığını vurgulamıştır (Lunde ve ark., 2014).

Çalışmamızda da benzer şekilde, *POR*28* aleli taşıyan hastaların kilo- ve doz-ayarlı TKR düzeyleri *POR*1/*1* genotipe sahip hastalardan anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur. Bu anlamlı fark, nakil sonrası ilk yıl birarada değerlendirildiğinde mevcut olduğu gibi, çalışma içindeki tüm zaman aralıklarında da ayrı ayrı varlığını korumuştur. Ancak, Lunde ve arkadaşlarının çalışmasında da elde edildiği gibi CYP3A5 alt grupları arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Çalışmalar arasındaki bu değişkenlik, beyaz ırkta *CYP3A5*1* aleli taşıyan hasta sayısının az olması veya çalışma tasarımlarındaki farklılık ile açıklanabileceği düşünülmektedir.

CYP3A5 enzimi TKR'un oksidatif metabolizmasından sorumlu başlıca izoenzimdir (Kamdem ve ark., 2005). Ancak yapılan bazı *in vitro* çalışmalar CYP3A4 enziminin de TKR metabolizmasında rolü olabileceğini ortaya koymuştur (Dai ve ark., 2006). TKR metabolizmasında CYP3A4 enziminin rolü olması, *CYP3A4* geni, intron 6 polimorfizminin de TKR doz ihtiyacı ve kan TKR düzey çeşitliliği üzerinde etkisi olabileceğini düşündürmektedir. Bu düşünceleri destekler bulgular çalışmamızda da ortaya konulmuştur; CYP3A5 ekspresyonu yapmayan hastalarda bireyler arası TKR düzey çeşitliliğinde *CYP3A4*22* polimorfizminin anlamlı etkisi olduğu tespit edilmiştir. TKR kullanımında, *CYP3A5*3* genotip temelli dozlamamanın önemi farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalar ve bu tez çalışması kapsamında da elde edilen sonuçlar ile kanıtlanmıştır (Kuypers ve ark., 2014). CYP3A5 genotip temelli TKR dozlaması CPIC kılavuzlarında da yer almaktadır (Birdwell ve ark., 2015). Ancak, Türk popülasyonun da dâhil olduğu beyaz ırkta CYP3A5 ekspresyonu yapmayan, *CYP3A5*3/*3* genotipe sahip bireylerin oranı %85-95 civarlarındadır ve çalışmalar göstermektedir ki CYP3A5 ekspresyonu yapmayan bireyler arasında da TKR doz

ihtiyacı değişmektedir (Zhou ve ark., 2017). Bu çıkarıma ait bulgular, Çizelge 3.18. ve Çizelge 3.20.'de sunulmuştur. Sunulan bu bulgular ışığında, *CYP3A5*3* polimorfizmi ile açıklanmayan bireyler arası TKR doz ihtiyacı ve TKR düzey çeşitliliğini açıklamada *CYP3A4*22* polimorfizminin de rolü olduğu ortaya konulmuştur.

4.4.4. *CYP3A5* Geni, rs776746, *CYP3A4* Geni rs35599367 ve *POR* Geni, rs1057868 Kombinasyon Genotip Sonuçları ve Kan TKR Düzeyi Terapötik Aralıkta Kalan/Kalmayan Hastaların Oranlarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Hastaların nakil sonrası 10. gün, 1. ay, 3. ay, 6. ay, 9. ay ve 12. ayda ölçülen kan TKR düzeyleri, kombine edilmiş *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22* ve *POR*28* genotip grupları arasında terapötik aralıkta kalan hasta sayı ve yüzdeleri temel alınarak kıyaslanmıştır. Yapılan analiz sonuçları Çizelge 3.20., Çizelge 3.21. ve 3.22.'de sunulmuştur. Analiz sonuçlarına göre, nakil sonrası 10. günde ve 1. ayda genotip grupları arasında TKR düzeyleri ile terapötik aralıkta kalma yüzdeleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir (10. gün ve 1. ay sırasıyla $p=0,0003$ ve $0,0001$). Ancak, farklı genotip gruplarının 3. aydan itibaren terapötik aralıkta kalma oranları arasındaki bu farklılık ortadan kalkmıştır.

Nakil sonrası erken dönemde 10. gün ve 1. ayda, yavaş metabolize eden genotipe sahip hastaların sırayla %70 ve %53,30'u supratherapötik düzeylerde TKR'a maruz kalmaktadır. Yapılan lojistik regresyon analizinde, nakil sonrası 10. günde supratherapötik düzeylerde TKR'a maruz kalma olasılığının yavaş metabolize eden hastalarda, hızlı metabolize eden hastalara göre 6,58 kat daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p=0,000$). Benzer şekilde orta düzeyde metabolize eden hastaların da supratherapötik düzeylerde TKR'a maruz kalma olasılığı, hızlı metabolize edenlere göre 3,54 kat daha yüksektir ($p=0,001$). Analiz sonuçları, Çizelge 3.23. ve Çizelge 3.24.'te sunulmuştur. Nakil sonrası birinci ayda da supratherapötik düzeylerde TKR'a maruz kalma olasılığı yavaş metabolize eden hastalarda, hızlı metabolize eden hastalara göre anlamlı olarak daha yüksektir. Ancak orta düzeyde metabolize eden hastaların supratherapötik düzeylerde TKR'a maruz kalma oranları, hızlı metabolize edenlere göre daha yüksek olmasına rağmen anlamlı değildir.

Nakil sonrası erken dönemde 10. gün ve 1. ayda, hızlı metabolize eden genotipe sahip hastaların sırayla %15,90 ve %20,45'i subterapötik düzeylerde TKR'a maruz kalmaktadır. Yapılan ki-kare testinde subterapötik konsantrasyonlara maruziyet ile genotipler arasında anlamlı bir fark olmasına rağmen yapılan lojistik regresyon analizinde 10. günde hızlı veya orta metabolize eden genotipe sahip hastalar yavaş metabolize edenler ile kıyaslandığında, hızlı metabolize etme kapasitesine sahip olanlar için anlamlı bir olasılık bulunmamıştır (ki-kare testi $p=0,003$). Nakil sonrası birinci ayda hızlı metabolize edenler, yavaş metabolize eden genotipe sahip hastalar ile kıyaslandığında subterapötik düzeyde TKR'a maruz kalma oranları daha yüksek çıkmıştır (ki-kare testi $p=0,001$).

4.4.5. CYP3A5 Geni, rs776746, CYP3A4 Geni rs35599367 ve POR Geni, rs1057868 Kombinasyon Genotip Sonuçları ve Subterapötik Kan TKR Düzeyi ile Akut Rejeksiyon Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi

Hastaların nakil sonrası erken dönemde farklı metabolizma kapasitesine sahip genotiplere bağlı olarak, farklı TKR düzeylerine maruziyeti ile akut rejeksiyon yaşayan hastalar arasındaki ilişki analiz edilmiş ve sonuçlar Çizelge 3.27.'de sunulmuştur. Düşük TKR düzeyine maruz kalan hastalar ile akut rejeksiyon arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p=0,037$). 5 ng/ml'nin üzerinde TKR düzeylerine maruz kalan hastaların sadece %3,9'unda akut rejeksiyon gelişirken, subterapötik TKR düzeylerine maruz kalan hastaların; %17,6'sında rejeksiyon gelişmiştir. Beyaz ırkta böbrek nakil hastalarında yapılan bir çalışmada da benzer şekilde düşük TKR düzeyleri ile akut rejeksiyon arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (Gaynor ve ark., 2016).

Lojistik regresyon analizine ait sonuçlar, Çizelge 3.28.'de sunulmuştur. Bu sonuçlara göre subterapötik TKR düzeylerine maruz kalan hastalarda akut rejeksiyon gelişme olasılığı, 5 ng/ml'nin üzerinde TKR düzeylerine maruz kalan hastalardan 6,04 kat daha yüksektir ($p=0,013$). Akut rejeksiyon ile ilişkisi olabilecek değişkenlerden glomerüler filtrasyon hızı ile akut rejeksiyon arasında bir ilişki olduğu tespit edilmiştir

(rejeksiyon olmayan grup eGFR=61,93, rejeksiyon olan grup eGFR=38,55, $p=0,001$). Benzer bulgular diğer bir çalışmada böbrek nakilli hastalarda da tespit edilmiştir. Düşük TKR düzeylerine maruz kalan hastalar ile hedef düzeylere maruz kalanlar karşılaştırıldığında, düşük TKR düzeylerine maruz kalanların, eGFR değerlerinin daha düşük seyrettiği tespit edilmiştir ancak iki grup arasında anlamlı bir fark oluşturmadığı bulunmuştur (Jung ve ark., 2019). Çalışmamızda da rejeksiyon yaşayan grupta glomerüler filtrasyon hızı değerlerinin daha düşük seyrettiği tespit edilmiştir. Bu nedenle, regresyon analizine bağımsız değişken olarak dahil edilmesine rağmen, düşük glomerüler filtrasyon hızının akut rejeksiyon tecrübe etme olasılığını anlamlı olarak değiştirmedeği tespit edilmiştir.

4.4.6. CYP3A5 Geni, rs776746, CYP3A4 Geni rs35599367 ve POR Geni, rs1057868 Kombinasyon Genotip Sonuçları ve Supraterapötik Kan TKR Düzeyi ile Gecikmiş Greft Fonksiyonu Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi

Hastaların nakil sonrası erken dönemde farklı metabolizma kapasitesine sahip genotiplere bağlı olarak, farklı TKR düzeylerine maruziyeti ile gecikmiş greft fonksiyonu gösteren hastalar arasındaki ilişki analiz edilmiştir. Bu analize ait sonuçlar Çizelge 3.29.'da sunulmuştur. Supraterapötik TKR düzeyine maruz kalan hastalar ile gecikmiş greft fonksiyonu arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p=0,026$). Bu bulgulara göre, gecikmiş greft fonksiyonu gösteren hastaların %75'inin 10 ng/ml'nin üzerinde TKR'a maruz kaldıkları tespit edilmiştir.

Yapılan lojistik regresyon analizine ait sonuçlar, Çizelge 3.30.'da sunulmuştur. Bu sonuçlara göre supraterapötik TKR düzeylerine maruz kalan hastaların, gecikmiş greft fonksiyonu tecrübe etme olasılığı, 10 ng/ml'nin altında TKR düzeylerine maruz kalan hastalardan 5,65 kat daha yüksektir ($p=0,002$). Gecikmiş greft fonksiyonu ile ilişkili olan verici tipi ve glomerüler filtrasyon hızı da regresyon analizine bağımsız değişken olarak dâhil edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre, kadavra vericilerden nakil olan hastaların gecikmiş greft fonksiyonu gösterme olasılığının canlıdan nakil olanlardan 2,61 kat daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p=0,048$). Bu bulguyu destekler sonuçlar daha önce yapılan çalışmalarda da gösterilmiştir, canlı vericiden nakil olan hastalarda gecikmiş greft fonksiyonu görülme olasılığı kadavra vericiden

yapılan nakillere göre oldukça azdır (Redfield ve ark., 2016). Çalışmamızda, glomerüler filtrasyon hızı düşük olan hastaların gecikmiş greft fonksiyonu gösterme olasılığının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p=0,006$). Bu iki bulgu, supratrapötik düzeylere maruziyet nedeni ile glomerüler filtrasyonun olumsuz etkilenmiş olabileceğini düşündürmektedir.

Elde edilen bu sonuçlara bağlı olarak nakil sonrası erken dönemde gecikmiş greft fonksiyonu gösteren hastaların %75'inin supratrapötik TKR düzeylerine maruz kaldığı gösterilmiştir. Bu bulgumuzu destekler sonuçlar, Kuypers ve arkadaşlarının beyaz ırkta böbrek nakil hastalarında yaptıkları çalışmada da elde edilmiştir. Bu çalışmada, gecikmiş greft fonksiyonu gösteren hastaların, göstermeyenler ile karşılaştırıldığında ortalama TKR düzeylerinin daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. (Kuypers ve ark., 2010).

Çalışmalarda, nakil sonrası ilk iki hafta içinde supratrapötik TKR düzeylerine maruz kalan hastaların, ilk yıl sonundaki klinik durumlarının, hedef terapötik düzeylere maruz kalan hastalar ile kıyaslandığında daha kötü olduğu tespit edilmiştir (Rodriguez-Peralvarez ve ark., 2012). Yüksek TKR düzeylerinin, vazokonstriksiyon nedeni ile renal arteriollerdeki kan akımının azalmasına neden olduğu ve glomerüler filtrasyon hızının azalmasını indüklediği tespit edilmiştir (Naesens ve ark., 2009). Bu klinik çıktılar da böbrek nakil hastalarında özellikle önem teşkil eden nefrotoksisitenin göstergeleri olarak düşünülebilir ki bu durum da nakil edilen dokunun ya da hastanın kaybı ile sonuçlanabilmektedir.

Çalışmamızda elde edilen bu bulgular, hasta ve doku sağkalımı açısından en kritik nakil sonrası ilk günlerde, yüksek TKR düzeylerine maruz kalınması ile hastanın nefrotoksisite semptomlarını tecrübe edilebileceği sonucuna varılmaktadır. Bu durum ile benzer şekilde hastaların erken dönemde düşük TKR düzeylerine maruz kalmasının da akut rejeksiyon ve doku kaybı açısından çok önemli olduğunu vurgulamaktadır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

TKR, böbrek nakil operasyonu takiben akut rejeksiyon profilaksisinde kullanılan, immunosüpresif tedavide ilk seçenek olarak görülen ilaç etken maddesidir. Ancak, TKR'un dar bir terapötik indekse sahip olması ve bireyler arası doz ihtiyacı ve ilaç düzeyleri bakımından geniş bir çeşitlilik göstermesi klinikte kullanımını oldukça zorlaştırmaktadır. Bireyler arasındaki bu çeşitlilik, hastanın hedef terapötik düzeylere ulaşabilmesi için TKR ilaç düzeyi izlemine zorunlu hale getirmektedir. Terapötik ilaç düzeyi izlemi, TKR tedavisinin bireyselleştirilmesinde en önemli araç olmasına rağmen bazı durumlarda yetersiz kalmaktadır. Bazı hastalar, özellikle nakil sonrası erken dönemde TİDİ yapılmasına rağmen yüksek ya da düşük TKR düzeylerine maruz kalmakta ve buna bağlı olarak istenmeyen etkileri tecrübe etmektedir. Bu durumda, TİDİ nakil sonrası en kritik dönem olan ilk günlerde, bireysel doz ayarlanması için yetersiz kalmaktadır.

Günümüzde transplantasyonu takiben TKR dozu konvansiyonel olarak hastanın kilosu ve yaşı temel alınarak tedaviye başlanmaktadır. Ancak bu tez çalışması göstermiştir ki hastalar benzer dozlarda TKR tedavisine farklı yanıtlar vermektedir. Bireyler arasındaki bu çeşitliliği azaltmada TİDİ yapılarak hasta terapötik TKR düzeylerine maruz bırakılmaya çalışılsa da nakil sonrası en kritik dönem olan ilk günlerde hastaların tecrübe edeceği istenmeyen etkilerin önüne geçmede yetersiz kalmaktadır.

Bu tez çalışmasından elde edilen bulgularla, genotip-temelli doz belirleme yöntemi ile hastaların başlangıç TKR doz ihtiyacını çok daha kesin bir şekilde belirlemenin mümkün olabileceği düşünülmektedir. Böylelikle, hastanın hedef TKR düzeylerine daha erken ulaşması sağlanarak istenmeyen etkileri tecrübe etmesinin önüne geçilebilecektir. Ayrıca, hedef TKR düzeylerine ulaşmak için yapılan doz modifikasyonları ve sayısı azaltılabilecektir. Tüm bu nedenler ile çalışmamızda TKR

metabolizmasından sorumlu *CYP3A5*, *CYP3A4* ve bunlara elektron transferinden sorumlu *POR* genlerindeki genetik farklılıklar ve hastaların kullandıkları TKR doz ve ölçülen TKR düzeyleri ile karşılaştırılarak incelenmiştir. Tedavinin bireyselleştirilmesinde ve hastaların TKR doz ihtiyaçlarının belirlenmesinde farmakogenetik biyogöstergelerin önemi ortaya konulmuştur.

Bu tez çalışması kapsamında, *CYP3A5* geninde tanımlanmış *CYP3A5*3* polimorfizminin, *CYP3A4* geninde tanımlanmış *CYP3A4*22* polimorfizminin ve *POR* geninde tanımlanmış *POR*28* polimorfizminin Türk hasta popülasyonunda TKR doz ve düzey çeşitliliğini açıklamada bireysel önemleri kanıtlanmıştır.

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda sıklıkla vurgulandığı gibi, TKR metabolizmasında en büyük görevi üstelenen *CYP3A5* geni genetik çeşitliliği yanında *CYP3A4* ve *POR* polimorfizmlerinin de bireyler arası TKR doz ihtiyacı ve düzey çeşitliliğini açıklamada önemli birer farmakogenetik biyogösterge olduğu ortaya konulmuştur. Türk popülasyonunda, ilk defa yapılan *CYP3A5*, *CYP3A4* ve *POR* geni kombinasyon analizleri ile hastalar genotiplerine göre farklı metabolizma kapasitesi gösteren alt gruplara dahil edilerek, genetik farklılıkların bir arada TKR doz ve düzey çeşitliliğini açıklamada çok daha etkin olduğu ortaya konulmuştur.

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda daima *CYP3A5*3* polimorfizminin üzerinde durulurken, mevcut çalışmamız ile *CYP3A4*22* ve *POR*28* polimorfizmlerinin beyaz ırkta, Türk popülasyonunda nakil sonrası hastaların TKR doz ihtiyaçlarının belirlenmesinde önemli birer farmakogenetik biyogösterge olduğu ortaya konulmuştur. Ayrıca; polimorfizmlerin bireysel etkisi yerine TKR doz ihtiyaçlarını ve düzey çeşitliliğini açıklamada *CYP3A5*, *CYP3A4* ve *POR* kombinasyon analizlerinin önemi ortaya konulmuştur.

CYP3A5, *CYP3A4* ve *POR* geni kombinasyon analizlerinden elde edilen sonuçlar ile *CYP3A5* eksprese eden ve etmeyen hasta gruplarında *CYP3A4*22* polimorfizminin TKR düzey çeşitliliğine etkisi, Türk popülasyonunda ilk defa karşılaştırılmıştır. *CYP3A5* ekspresyonu yapmayan hastalarda *CYP3A4*22* aleli taşımanın TKR doz ihtiyacı ve TKR düzeylerini etkilediği tespit edilmiştir.

Ayrıca, *CYP3A5* ekspresyonu yapan hastalarda, *POR*28* polimorfizminin etkisi Türk popülasyonunda ilk defa karşılaştırılmıştır. *POR*1/*1* ve *POR*28* genotipleri arasında, TKR doz ihtiyacı ve düzey çeşitliliği bakımından bir fark olmadığı tespit edilmiştir.

*POR*28* aleli taşıyan hastalarda, *CYP3A5* ekspresyonu yapmanın ve *CYP3A4*22* aleli taşımanın TKR düzeyleri üzerine etkisi araştırılmış, *POR*28* aleli taşıyan hastalarda hem *CYP3A5* ekspresyonun hem de *CYP3A4*22* aleli taşıyor olmanın TKR düzeylerinde çeşitliliğe neden olduğu tespit edilmiştir.

*POR*1/*1* genotipe sahip hastalarda da *CYP3A5* ekspresyonunun TKR düzeylerinde çeşitliliğe neden olduğu tespit edilirken, *CYP3A4*22* polimorfizminin doz çeşitliliğine neden olmadığı tespit edilmiştir.

Bu sonuçlar ışığında, *CYP3A5*3* polimorfizminin TKR düzey çeşitliliğine etkisinin *POR*28* genotipinden bağımsız olduğunu söyleyebiliriz. *CYP3A5* ekspresyonu yapmayan hastalarda *CYP3A4*22* polimorfizminin etkisi olabileceği yaptığımız analizler ile kanıtlanmıştır. *POR*1/*1* genotipe sahip bireylerde *CYP3A4* polimorfizminin etkisi yok iken, *POR*28* aleli taşıyan bireylerde *CYP3A4*22* alelinin çeşitliliğe neden olması, *CYP3A4* aktivitesinin *POR*28* polimorfizminden etkilendiğini düşündürmektedir.

Yaptığımız kombinasyon analizleri ile yavaş, orta ve hızlı metabolizma kapasitesine sahip genotip gruplarındaki hastaların düşük ya da yüksek düzey TKR maruziyetine bağlı olarak istenmeyen klinik etkileri tecrübe edebilecekleri

çalışmamızda ortaya konulmuştur. Bu bulgumuza dayanarak, genotip temelli TKR doz belirlenmesi ile hastaların hedef TKR düzeylerine konvansiyonel yöntemle göre çok daha hızlı ulaşabileceğini ve istenmeyen etkileri tecrübe etmesinin önüne geçilebileceğini söyleyebiliriz.

Bu tez çalışması ile *CYP3A4*22* ve *POR*28* polimorfizmlerinin Türk popülasyonunda böbrek nakil hastalarındaki genotip ve alel frekansları ilk defa ortaya konulmuştur. *CYP3A4*22* ve *POR*28* polimorfizmlerinin Türk popülasyonunda böbrek nakil hastalarında, TKR doz ve düzey çeşitliliği ile ilişkisi ilk defa ortaya konulmuştur.

Ayrıca, *POR*28* polimorfizminin PZR-RPUP yöntemi ile aydınlatılması, dünyada ilk defa tasarlanan primerler ve optimize edilen reaksiyon koşulları ile Farmasötik Toksikoloji Araştırma laboratuvarımızda gerçekleştirilmiştir. Kurulan bu yöntem ile ilk defa Türk popülasyonunda *POR*28* polimorfizmi genotip ve alel frekansları böbrek nakil hastalarında bu tez kapsamında değerlendirilirken, sağlıklı Türk popülasyonunda da genotip ve alel frekansları, geliştirilen yöntem ile ekibimiz tarafından aydınlatılmıştır. Bu çalışmaya ait bulgular yayınlanmıştır (Özdemir ve ark., 2019). Geliştirdiğimiz bu yöntem ile birçok CYP enzimine elektron transferi yapma görevini üstelenen *POR* genindeki bu farklılığın, birçok ilaç metabolizmasındaki farklılıkları açıklamada da çok büyük rolü olacağı tartışmasızdır.

Bu bulgular ışığında, nakil öncesi *CYP3A5*, *CYP3A4* ve *POR* genotip-temelli doz belirlemenin hastanın nakil sonrası erken dönemde maruz kalacağı TKR düzeylerinin belirlenebilmesi ve bireysel olarak optimize edilmesi için oldukça önemli olduğu yorumu yapılabilir. Böylelikle, hastanın tecrübe edebileceği istenmeyen klinik etkilerin önüne geçilebilecektir. Buna bağlı olarak, hasta ve greft sağkalımı oranları artabilecektir. Ayrıca, hasta için uygun dozların belirlenmesi için yapılacak TİDİ girişimi ve doz modifikasyon sayısı da anlamlı olarak azalacaktır.

Mevcut çalışmamız ile başlangıç TKR dozunu hastanın *CYP3A5*, *CYP3A4* ve *POR* genotipine göre belirlemenin, kilo-temelli doz ayarlanmasına göre hastaları çok daha erken terapötik TKR düzeylerine ulaşmasını sağlayabileceği düşünölmektedir. Böylece, nakil sonrası kritik ilk günlerde, hastanın ihtiyaç duyduğu TKR dozu *CYP3A5*, *CYP3A4* ve *POR* genotipe göre ayarlanarak, immunosöpresif tedavinin bireyselleştirilmesinin sağlanabileceği düşünölmektedir.



ÖZET

TKR Kullanan Böbrek Nakil Hastalarında Farmakogenetiğin Öneminin Araştırılması

Takrolimus (TKR), böbrek nakil operasyonunu takiben; uygulanan immunosüpresif tedavinin vazgeçilmez parçasıdır. TKR'un, dar bir terapötik pencereye sahip olması, yüksek düzeyde bireyler arasında doz ihtiyacı çeşitliliği göstermesi ve advers etki potansiyeli nedeniyle tedavinin bireyselleştirilmesi ihtiyacı ortaya çıkmaktadır. Terapötik ilaç düzeyi izlemi, TKR tedavisinin bireyselleştirilmesinde en önemli araç olmasına rağmen bazı durumlarda yetersiz kalmakta ve bazı hastalar, özellikle kritik nakil sonrası erken dönemde yüksek ya da düşük TKR düzeylerine maruziyet nedeniyle istenmeyen etkileri tecrübe etmektedir.

Bu tez çalışmasının amacı, TKR metabolizmasından sorumlu Sitokrom P450 3A5 (*CYP3A5*), Sitokrom P450 3A4 (*CYP3A4*) ve bu enzimlere elektron transferinden sorumlu Sitokrom P450 oksidoredüktaz (*POR*) genlerindeki genetik farklılıkların nakil sonrası ilk yıl (10. gün ve 1., 3., 6., 9., 12. aylar), hastaların TKR doz ihtiyaçları ve TKR düzeyleri üzerine etkisinin araştırılmasıdır. Bu amaçla, bu çalışmaya, TKR kullanan 302 böbrek nakil hastası dâhil edilmiştir. *CYP3A5*, *CYP3A4* ve *POR* genlerinde tanımlanmış; *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22* ve *POR*28* polimorfizimleri PZR-RPUP yöntemi ile aydınlatılmıştır. Hastaların kan TKR düzeyleri klonlanmış enzim donör immunoassay ile elde edilmiştir.

Yapılan analizler ile *CYP3A5*3* polimorfizmi yanında ilk defa; *CYP3A4*22* ve *POR*28* genetik farklılıklarının tek başlarına; Türk popülasyonunda bireysel TKR doz ihtiyacını açıklamada önemli birer farmakogenetik biyogösterge olduğu tespit edilmiştir. *POR*28* polimorfizminin Türk popülasyonunda ilk defa gen ve alel frekansları tespit edilmiştir. Bu tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen analizlerde; hastalar *CYP3A5*, *CYP3A4* ve *POR* genotiplerine göre farklı metabolizma kapasitesine sahip gruplar altında toplanmıştır. *CYP3A5* ekspresyonu yapmayan hastalarda *CYP3A4*22* polimorfizminin bireysel doz ihtiyacı ve düzey çeşitliliğini açıklamada önemli rolü olduğu kanıtlanmıştır. İlaç düzeyi izlemi yapılmasına rağmen; farklı genotiplere sahip hastaların terapötik düzeylere ulaşmasının nakil sonrası ancak 3. aydan itibaren gerçekleştiği tespit edilmiştir. İlaç düzeyi izlemi yapılmasına rağmen; nakil sonrası erken dönemde yavaş metabolizma kapasitesine sahip hastaların %70'inin supratrapötik düzeylere maruz kalarak, nefrotoksikite semptomları gösterdiği, benzer şekilde hızlı metabolizma kapasitesine sahip hastaların da %15,90'ının subterapötik düzeylere maruz kaldığı ve akut rejeksiyona tecrübe ettikleri tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, bu tez çalışmasından elde edilen veriler ile *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22* ve *POR*28* farmakogenetik biyogöstergelerinin birarada tespit edilerek, nakil hastalarının genotiplerine göre TKR tedavisinin bireyselleştirilmesinde kullanılabileceği kanıtlanmıştır. Böylece hastaların hedef TKR düzeylerine ulaşma sürelerinin daha kısa olabileceği ve yapılan doz modifikasyon sayısının azalabileceği düşünülmektedir. *POR*28* polimorfizmi için dünyada ilk defa PZR-RPUP yöntemi geliştirilerek, farklı farmakokinetik çalışmalar için destekleyici bir farmakogenetik biyogösterge olarak literatüre kazandırılmıştır. Bu tez kapsamında yer alan analizlerle, genotip temelli TKR doz belirlenmesi ile yetersiz immunosüpresyon nedeni ile gelişebilecek organ reddinin veya yüksek dozda TKR maruziyetine bağlı olarak ortaya çıkabilecek advers etkilerin önüne geçilmesinde kliniğe yardımcı olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar sözcükler: Farmakogenetik, *CYP3A5*, *CYP3A4*, *POR*, Takrolimus

SUMMARY

The role of pharmacogenetics in tacrolimus treated renal transplant patients

Tacrolimus (Tac) is a cornerstone immunosuppressive drug used in renal transplantation. It is characterized by a narrow therapeutic index and large interindividual variability in dose requirements. Thus requiring blood concentration monitoring and dose adjustment in order to achieve therapeutic efficacy and avoid adverse effects, which are the most challenging during the first weeks after transplantation. However, despite drug monitoring, it is insufficient in some cases and despite therapeutic drug monitoring, some patients experience undesirable effects due to exposure to high or low Tac levels.

The aim of this study was to investigate the impact of the *CYP3A5*, *CYP3A4* and *POR* genetic differences on Tac dose requirements and through levels throughout the first year after transplantation. As Tac is metabolized by *CYP3A4-3A5* isoenzymes, and *POR* serves electrons for their activities; polymorphisms of these genes might affect Tac dose requirements. A total of 302 renal allograft recipients treated with Tac were included in the study and genotyped for the presence of *CYP3A5**3, *CYP3A4**22 and *POR**28 polymorphisms using PCR-RFLP method. Tac through levels were obtained with the use of a cloned enzyme donor immunoassay method from whole blood.

Our results showed that, besides *CYP3A5**3; *CYP3A4**22 and *POR**28 polymorphisms are identified for the first time in Turkish population and are important pharmacogenetic biomarkers, identifying individual dose requirements. Gene and allele frequencies of *POR**28 polymorphism were determined for the first time in the Turkish population. We examined the combined effects of the *CYP3A5**1, *POR**28, and *CYP3A4**22 genotypes on Tac exposure, dose requirements and achievement of therapeutic target ranges.

*CYP3A4**22 polymorphism has been shown to play an important role in explaining individual dose requirements in patients who do not express *CYP3A5*. By month 3 despite concentration-controlled dose adjustments, difference between genotype groups disappear. Despite concentration-controlled dose adjustments, %70 of the slow metabolizer patients exceeded the upper limit of the target range and experienced nephrotoxicity symptoms in the early period after transplantation. Similarly, %15,90 of the fast metabolizer patients could not achieved lower Tac levels and experienced acute rejection episodes.

In conclusion, our results confirm that *CYP3A5**3, *CYP3A4**22 ve *POR**28 polymorphisms are useful pharmacogenetic biomarkers for personalizing Tac treatment. Thus, patients may achieve target levels earlier after transplantation and the number of dose modifications might be reduced with genotype based dosing strategies. A novel PCR-RFLP method has been developed to identify *POR**28 polymorphism for the first time in the world which is a promising pharmacogenetic biomarker for pharmacokinetic assays. Within the scope of this thesis, pharmacogenetic testing and genotype based Tac dosing has certainly future to optimize tac based therapy for kidney transplant patients in order to prevent over or under immunosuppression and consequently graft rejection and the occurrence of the adverse effects.

Keywords: *CYP3A5*, *CYP3A4*, Pharmacogenetics, *POR*, Tacrolimus,

KAYNAKLAR

- AKBAS SH, OZDEM S, CAGLAR S, TUNCER M, GURKAN A, YUCETIN L, SENOL Y, DEMIRBAS A, GULTEKIN M, ERSOY FF, AKAYDIN M (2005). Effects of some hematological parameters on whole blood tacrolimus concentration measured by two immunoassay-based analytical methods. *Clin Biochem*, **38(6)**: 552-557. doi:10.1016/j.clinbiochem.2005.02.011
- ALBENGRES E, LE LOUET H, TILLEMENT JP (1998). Systemic antifungal agents. Drug interactions of clinical significance. *Drug Saf*, **18(2)**: 83-97. doi:10.2165/00002018-199818020-00001
- ANDREWS LM, LI Y, DE WINTER BCM, SHI YY, BAAN CC, VAN GELDER T, HESSELINK DA (2017). Pharmacokinetic considerations related to therapeutic drug monitoring of tacrolimus in kidney transplant patients. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, **13(12)**: 1225-1236. doi:10.1080/17425255.2017.1395413
- ANGLICHEAU D, FLAMANT M, SCHLAGETER MH, MARTINEZ F, CASSINAT B, BEAUNE P, LEGENDRE C, THERVET E (2003). Pharmacokinetic interaction between corticosteroids and tacrolimus after renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant*, **18(11)**: 2409-2414.
- ASANO T, NISHIMOTO K, HAYAKAWA M (2004). Increased tacrolimus trough levels in association with severe diarrhea, a case report. *Transplant Proc*, **36(7)**: 2096-2097. doi:10.1016/j.transproceed.2004.06.026
- ASHAVID T, RAJE H, SHALIA K, SHAH B (2010). Effect of gene polymorphisms on the levels of calcineurin inhibitors in Indian renal transplant recipients. *Indian J Nephrol*, **20(3)**: 146-151. doi:10.4103/0971-4065.70846
- AZZI JR, SAYEGH MH, MALLAT SG (2013). Calcineurin inhibitors: 40 years later, can't live without. *J Immunol*, **191(12)**: 5785-5791. doi:10.4049/jimmunol.1390055
- BALLA A, CHOBANIAN M (2009). New-onset diabetes after transplantation: a review of recent literature. *Curr Opin Organ Transplant*, **14(4)**: 375-379. doi:10.1097/MOT.0b013e32832dbb98
- BAN YH, PARK SR, YOON YJ (2016). The biosynthetic pathway of FK506 and its engineering: from past achievements to future prospects. *J Ind Microbiol Biotechnol*, **43(2-3)**: 389-400. doi:10.1007/s10295-015-1677-7
- BARRY A, LEVINE M (2010). A systematic review of the effect of CYP3A5 genotype on the apparent oral clearance of tacrolimus in renal transplant recipients. *Ther Drug Monit*, **32(6)**: 708-714. doi:10.1097/FTD.0b013e3281f3c063
- BECHSTEIN WO (2000). Neurotoxicity of calcineurin inhibitors: impact and clinical management. *Transpl Int*, **13(5)**: 313-326.

- BENNET J, CASSIDY H, SLATTERY C, RYAN MC, MCMORROW T (2016). Tacrolimus Modulates TGF- β Signaling to Induce Epithelial-Mesenchymal Transition in Human Renal Proximal Tubule Epithelial Cells. *J Clin Med*, **5(5)**: 50.
- BEKERSKY I, DRESSLER D, ALAK A, BOSWELL GW, MEKKI QA (2001). Comparative tacrolimus pharmacokinetics: normal versus mildly hepatically impaired subjects. *J Clin Pharmacol*, **41(6)**: 628-635.
- BEKERSKY I, DRESSLER D, MEKKI QA (2001). Effect of low- and high-fat meals on tacrolimus absorption following 5 mg single oral doses to healthy human subjects. *J Clin Pharmacol*, **41(2)**: 176-182.
- BERENGUE JI, LOPEZ-ESPINOSA JA, ORTEGA-LOPEZ J, SANCHEZ-SANCHEZ L, CASTILLA-VALDES P, ASENSIO-LLORENTE M, MARGARIT-CREIXELL C (2003). Two- to three-fold increase in blood tacrolimus (FK506) levels during diarrhea in liver-transplanted children. *Clin Transplant*, **17(3)**: 249-253.
- BIRDWELL KA, DECKER B, BARBARINO JM, PETERSON JF, STEIN CM, SADEE W, WANG D, VINKS AA, HE Y, SWEN JJ, LEEDER JS, VAN SCHAIK R, THUMMEL KE, KLEIN TE, CAUDLE KE, MACPHEE IA (2015). Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guidelines for CYP3A5 Genotype and Tacrolimus Dosing. *Clin Pharmacol Ther*, **98(1)**: 19-24. doi:10.1002/cpt.113
- BOUAMAR R, SHUKER N, HESSELINK DA, WEIMAR W, EKBERG H, KAPLAN B, BERNASCONI C, VAN GELDER T (2013). Tacrolimus predose concentrations do not predict the risk of acute rejection after renal transplantation: a pooled analysis from three randomized-controlled clinical trials(dagger). *Am J Transplant*, **13(5)**: 1253-1261. doi:10.1111/ajt.12191
- BOUGHTON O, BORGULYA G, CECCONI M, FREDERICKS S, MORETON-CLACK M, MACPHEE IA (2013). A published pharmacogenetic algorithm was poorly predictive of tacrolimus clearance in an independent cohort of renal transplant recipients. *Br J Clin Pharmacol*, **76(3)**: 425-431. doi:10.1111/bcp.12076
- BRAM RJ, HUNG DT, MARTIN PK, SCHREIBER SL, CRABTREE GR (1993). Identification of the immunophilins capable of mediating inhibition of signal transduction by cyclosporin A and FK506: roles of calcineurin binding and cellular location. *Mol Cell Biol*, **13(8)**: 4760-4769.
- BRIDGES A, GRUENKE L, CHANG YT, VAKSER IA, LOEW G, WASKELL L (1998). Identification of the binding site on cytochrome P450 2B4 for cytochrome b5 and cytochrome P450 reductase. *J Biol Chem*, **273(27)**: 17036-17049. doi:10.1074/jbc.273.27.17036
- CALLAGHAN CJ, BRADLEY JA (2006). Current status of renal transplantation. *Methods Mol Biol*, **333**: 1-28. doi:10.1385/1-59745-049-9:1
- CHEN L, PRASAD GVR (2018). CYP3A5 polymorphisms in renal transplant recipients: influence on tacrolimus treatment. *Pharmgenomics Pers Med*, **11**: 23-33. doi:10.2147/PGPM.S107710

- CHRISTIANS U, JACOBSEN W, BENET LZ, LAMPEN A (2002). Mechanisms of clinically relevant drug interactions associated with tacrolimus. *Clin Pharmacokinet*, **41(11)**: 813-851. doi:10.2165/00003088-200241110-00003
- COWLRICK I, DELVENTHAL H, KAIPAINEN K, KRUMAR C, PETAN J, SCHLEIBNER S (2008). Three-year follow-up of malignancies in tacrolimus-treated renal recipients-an analysis of European multicentre studies. *Clin Transplant*, **22(3)**: 372-377. doi:10.1111/j.1399-0012.2008.00796.x
- DAI Y, HEBERT MF, ISOHERRANEN N, DAVIS CL, MARSH C, SHEN DD, THUMMEL KE (2006). Effect of CYP3A5 polymorphism on tacrolimus metabolic clearance in vitro. *Drug Metab Dispos*, **34(5)**: 836-847. doi:10.1124/dmd.105.008680
- DANIELSON PB (2002). The cytochrome P450 superfamily: biochemistry, evolution and drug metabolism in humans. *Curr Drug Metab*, **3(6)**: 561-597.
- DASHTI-KHAVIDAKI S, GHAFARI S, GOHARI M, KHATAMI MR, ZAHIRI Z (2016). Tacrolimus Dose Requirement in Iranian Kidney Transplant Recipients within the First Three Weeks after Transplantation. *Int J Organ Transplant Med*, **7(3)**: 167-171.
- DE JONGE H, DE LOOR H, VERBEKE K, VANRENTERGHEM Y, KUYPERS DR (2012). In vivo CYP3A4 activity, CYP3A5 genotype, and hematocrit predict tacrolimus dose requirements and clearance in renal transplant patients. *Clin Pharmacol Ther*, **92(3)**: 366-375. doi:10.1038/clpt.2012.109
- DE JONGE H, METALIDIS C, NAESSENS M, LAMBRECHTS D, KUYPERS DR (2011). The P450 oxidoreductase *28 SNP is associated with low initial tacrolimus exposure and increased dose requirements in CYP3A5-expressing renal recipients. *Pharmacogenomics*, **12(9)**: 1281-1291. doi:10.2217/pgs.11.77
- DE MATTOS AM, OLYAEI AJ, BENNETT WM (2000). Nephrotoxicity of immunosuppressive drugs: long-term consequences and challenges for the future. *Am J Kidney Dis*, **35(2)**: 333-346.
- DELMONICO FL, DOMINGUEZ-GIL B, MATESANZ R, NOEL L (2011). A call for government accountability to achieve national self-sufficiency in organ donation and transplantation. *Lancet*, **378(9800)**: 1414-1418. doi:10.1016/S0140-6736(11)61486-4
- DIDION SP (2011). Tacrolimus-induced hypertension: what's endothelial and hematopoietic FKBP12 got to do with it? *Hypertension*, **57(6)**: 1058-1060. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.172320
- DONG M, PARSAIK AK, EBERHARDT NL, BASU A, COSIO FG, KUDVA YC (2012). Cellular and physiological mechanisms of new-onset diabetes mellitus after solid organ transplantation. *Diabet Med*, **29(7)**: e1-12. doi:10.1111/j.1464-5491.2012.03617.x
- DURHAM R (1990). Management of gastric injuries. *Surg Clin North Am*, **70(3)**: 517-527.
- EDWARDS DJ, FITZSIMMONS ME, SCHUETZ EG, YASUDA K, DUCHARME MP, WARBASSE LH, WOSTER PM, SCHUETZ JD, WATKINS P (1999). 6',7'-Dihydroxybergamottin in grapefruit juice and Seville orange juice: effects on

cyclosporine disposition, enterocyte CYP3A4, and P-glycoprotein. *Clin Pharmacol Ther*, **65(3)**: 237-244. doi:10.1016/S0009-9236(99)70102-5

EKBERG H, BERNASCONI C, TEDESCO-SILVA H, VITKO S, HUGO C, DEMIRBAS A, ACEVEDO RR, GRINYO J, FREI U, VANRENTERGHEM Y, DALOZE P, HALLORAN P (2009). Calcineurin inhibitor minimization in the Symphony study: observational results 3 years after transplantation. *Am J Transplant*, **9(8)**: 1876-1885. doi:10.1111/j.1600-6143.2009.02726.x

ELENS L, BOUAMAR R, HESSELINK DA, HAUFROID V, VAN DER HEIDEN IP, VAN GELDER T, VAN SCHAIK RH (2011). A new functional CYP3A4 intron 6 polymorphism significantly affects tacrolimus pharmacokinetics in kidney transplant recipients. *Clin Chem*, **57(11)**: 1574-1583. doi:10.1373/clinchem.2011.165613

ELENS L, CAPRON A, VAN SCHAIK RH, DE MEYER M, DE PAUW L, EDDOUR DC, LATINNE D, WALLEMACQ P, MOURAD M, HAUFROID V (2013). Impact of CYP3A4*22 allele on tacrolimus pharmacokinetics in early period after renal transplantation: toward updated genotype-based dosage guidelines. *Ther Drug Monit*, **35(5)**: 608-616. doi:10.1097/FTD.0b013e318296045b

ELENS L, HESSELINK DA, BOUAMAR R, BUDDE K, DE FIJTER JW, DE MEYER M, MOURAD M, KUYPERS DR, HAUFROID V, VAN GELDER T, VAN SCHAIK RH (2014). Impact of POR*28 on the pharmacokinetics of tacrolimus and cyclosporine A in renal transplant patients. *Ther Drug Monit*, **36(1)**: 71-79. doi:10.1097/FTD.0b013e31829da6dd

ELENS L, SOMBOGAARD F, HESSELINK DA, VAN SCHAIK RH, VAN GELDER T (2013). Single-nucleotide polymorphisms in P450 oxidoreductase and peroxisome proliferator-activated receptor- α are associated with the development of new-onset diabetes after transplantation in kidney transplant recipients treated with tacrolimus. *Pharmacogenet Genomics*, **23(12)**: 649-657. doi:10.1097/FPC.0000000000000001

ELENS L, VAN GELDER T, HESSELINK DA, HAUFROID V, VAN SCHAIK RH (2013). CYP3A4*22: promising newly identified CYP3A4 variant allele for personalizing pharmacotherapy. *Pharmacogenomics*, **14(1)**: 47-62. doi:10.2217/pgs.12.187

ELENS L, VAN SCHAIK RH, PANIN N, DE MEYER M, WALLEMACQ P, LISON D, MOURAD M, HAUFROID V (2011). Effect of a new functional CYP3A4 polymorphism on calcineurin inhibitors' dose requirements and trough blood levels in stable renal transplant patients. *Pharmacogenomics*, **12(10)**: 1383-1396. doi:10.2217/pgs.11.90

FELIPE CR, GARCIA C, MOREIRA S, OLSEN N, SILVA HT, PESTANA OM (2001). Choosing the right dose of new immunosuppressive drugs for new populations: importance of pharmacokinetic studies. *Transplant Proc*, **33(1-2)**: 1095-1096.

FERRARESSO M, TIRELLI A, GHIO L, GRILLO P, MARTINA V, TORRESANI E, EDEFONTI A (2007). Influence of the CYP3A5 genotype on tacrolimus pharmacokinetics and pharmacodynamics in young kidney transplant recipients. *Pediatr Transplant*, **11(3)**: 296-300. doi:10.1111/j.1399-3046.2006.00662.x

- FITZSIMMONS WE, BEKERSKY I, DRESSLER D, RAYE K, HODOSH E, MEKKI Q (1998). Demographic considerations in tacrolimus pharmacokinetics. *Transplant Proc*, **30(4)**: 1359-1364.
- FLEMING GM (2011). Renal replacement therapy review: past, present and future. *Organogenesis*, **7(1)**: 2-12. doi:10.4161/org.7.1.13997
- FREDERICKS S, HOLT DW, MACPHEE IA (2003). The pharmacogenetics of immunosuppression for organ transplantation: a route to individualization of drug administration. *Am J Pharmacogenomics*, **3(5)**: 291-301.
- GARIBYAN L, AVASHIA N (2013). Polymerase chain reaction. *J Invest Dermatol*, **133(3)**: 1-4. doi:10.1038/jid.2013.1
- GAYNOR JJ, CIANCIO G, GUERRA G, SAGESHIMA J, ROTH D, GOLDSTEIN MJ, CHEN L, KUPIN W, MATTIAZZI A, TUEROS L, FLORES S, HANSON L, RUIZ P, VIANNA R, BURKE GW, 3RD (2016). Lower tacrolimus trough levels are associated with subsequently higher acute rejection risk during the first 12 months after kidney transplantation. *Transpl Int*, **29(2)**: 216-226. doi:10.1111/tri.12699
- GIJSEN V, MITAL S, VAN SCHAIK RH, SOLDIN OP, SOLDIN SJ, VAN DER HEIDEN IP, NULMAN I, KOREN G, DE WILDT SN (2011). Age and CYP3A5 genotype affect tacrolimus dosing requirements after transplant in pediatric heart recipients. *J Heart Lung Transplant*, **30(12)**: 1352-1359. doi:10.1016/j.healun.2011.08.001
- GIJSEN VM, VAN SCHAIK RH, ELENS L, SOLDIN OP, SOLDIN SJ, KOREN G, DE WILDT SN (2013). CYP3A4*22 and CYP3A combined genotypes both correlate with tacrolimus disposition in pediatric heart transplant recipients. *Pharmacogenomics*, **14(9)**: 1027-1036. doi:10.2217/pgs.13.80
- GOMES LG, HUANG N, AGRAWAL V, MENDONCA BB, BACHEGA TA, MILLER WL (2008). The common P450 oxidoreductase variant A503V is not a modifier gene for 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*, **93(7)**: 2913-2916. doi:10.1210/jc.2008-0304
- GONG L, ZHANG CM, LV JF, ZHOU HH, FAN L (2017). Polymorphisms in cytochrome P450 oxidoreductase and its effect on drug metabolism and efficacy. *Pharmacogenet Genomics*, **27(9)**: 337-346. doi:10.1097/FPC.0000000000000297
- GRIMM M, RINALDI M, YONAN NA, ARPESELLA G, ARIZON DEL PRADO JM, PULPON LA, VILLEMOT JP, FRIGERIO M, RODRIGUEZ LAMBERT JL, CRESPO-LEIRO MG, ALMENAR L, DUVEAU D, ORDONEZ-FERNANDEZ A, GANDJBAKHCH J, MACCHERINI M, LAUFER G (2006). Superior prevention of acute rejection by tacrolimus vs. cyclosporine in heart transplant recipients--a large European trial. *Am J Transplant*, **6(6)**: 1387-1397. doi:10.1111/j.1600-6143.2006.01300.x
- GROESSL EJ, TALLY SR, HILLERY N, MACIEL A, GARCES JA (2018). Cost-Effectiveness of a Pharmacogenetic Test to Guide Treatment for Major Depressive Disorder. *J Manag Care Spec Pharm*, **24(8)**: 726-734. doi:10.18553/jmcp.2018.24.8.726
- GUENGERICH FP (1999). Cytochrome P-450 3A4: regulation and role in drug metabolism. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, **39**: 1-17. doi:10.1146/annurev.pharmtox.39.1.1

- HAIMAN CA, SETIAWAN VW, XIA LY, LE MARCHAND L, INGLES SA, URSIN G, PRESS MF, BERNSTEIN L, JOHN EM, HENDERSON BE (2007). A variant in the cytochrome p450 oxidoreductase gene is associated with breast cancer risk in African Americans. *Cancer Res*, **67(8)**: 3565-3568. doi:10.1158/0008-5472.CAN-06-4801
- HALLORAN PF (2004). Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *N Engl J Med*, **351(26)**: 2715-2729. doi:10.1056/NEJMra033540
- HARBELL J, TERRAULT NA, STOCK P (2013). Solid organ transplants in HIV-infected patients. *Curr HIV/AIDS Rep*, **10(3)**: 217-225. doi:10.1007/s11904-013-0170-z
- HARIHARAN S, JOHNSON CP, BRESNAHAN BA, TARANTO SE, MCINTOSH MJ, STABLEIN D (2000). Improved graft survival after renal transplantation in the United States, 1988 to 1996. *N Engl J Med*, **342(9)**: 605-612. doi:10.1056/NEJM200003023420901
- HART SN, ZHONG XB (2008). P450 oxidoreductase: genetic polymorphisms and implications for drug metabolism and toxicity. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, **4(4)**: 439-452. doi:10.1517/17425255.4.4.439
- HARTMANN A, MIDTVEDT K (2002). Hypertension after kidney transplantation: are treatment guidelines emerging? *Nephrology Dialysis Transplantation*, **17(7)**: 1166-1169. doi:10.1093/ndt/17.7.1166
- HAUFROID V, WALLEMACQ P, VANKERCKHOVE V, ELENS L, DE MEYER M, EDDOUR DC, MALAISE J, LISON D, MOURAD M (2006). CYP3A5 and ABCB1 polymorphisms and tacrolimus pharmacokinetics in renal transplant candidates: guidelines from an experimental study. *Am J Transplant*, **6(11)**: 2706-2713. doi:10.1111/j.1600-6143.2006.01518.x
- HEBERT MF (1997). Contributions of hepatic and intestinal metabolism and P-glycoprotein to cyclosporine and tacrolimus oral drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev*, **27(2-3)**: 201-214.
- HEBERT MF, FISHER RM, MARSH CL, DRESSLER D, BEKERSKY I (1999). Effects of rifampin on tacrolimus pharmacokinetics in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol*, **39(1)**: 91-96.
- HEBERT MF, PARK JM, CHEN YL, AKHTAR S, LARSON AM (2004). Effects of St. John's wort (*Hypericum perforatum*) on tacrolimus pharmacokinetics in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol*, **44(1)**: 89-94. doi:10.1177/0091270003261078
- HENDERSON CJ, OTTO DM, CARRIE D, MAGNUSON MA, MCLAREN AW, ROSEWELL I, WOLF CR (2003). Inactivation of the hepatic cytochrome P450 system by conditional deletion of hepatic cytochrome P450 reductase. *J Biol Chem*, **278(15)**: 13480-13486. doi:10.1074/jbc.M212087200
- HERRERO MJ, SANCHEZ-PLUMED J, GALIANA M, BEA S, MARQUES MR, ALINO SF (2010). Influence of pharmacogenetic polymorphisms in routine immunosuppression therapy after renal transplantation. *Transplant Proc*, **42(8)**: 3134-3136. doi:10.1016/j.transproceed.2010.05.122

- HESELINK DA, NGYUEN H, WABBIJN M, GREGOOR PJ, STEYERBERG EW, VAN RIEMSDIJK IC, WEIMAR W, VAN GELDER T (2003). Tacrolimus dose requirement in renal transplant recipients is significantly higher when used in combination with corticosteroids. *Br J Clin Pharmacol*, **56(3)**: 327-330.
- HESELINK DA, VAN SCHAIK RH, VAN AGTEREN M, DE FIJTER JW, HARTMANN A, ZEIER M, BUDDE K, KUYPERS DR, PISARSKI P, LE MEUR Y, MAMELOK RD, VAN GELDER T (2008). CYP3A5 genotype is not associated with a higher risk of acute rejection in tacrolimus-treated renal transplant recipients. *Pharmacogenet Genomics*, **18(4)**: 339-348. doi:10.1097/FPC.0b013e3282f75f88
- HESELINK DA, VAN SCHAIK RH, VAN DER HEIDEN IP, VAN DER WERF M, GREGOOR PJ, LINDEMANS J, WEIMAR W, VAN GELDER T (2003). Genetic polymorphisms of the CYP3A4, CYP3A5, and MDR-1 genes and pharmacokinetics of the calcineurin inhibitors cyclosporine and tacrolimus. *Clin Pharmacol Ther*, **74(3)**: 245-254. doi:10.1016/S0009-9236(03)00168-1
- HOORN EJ, WALSH SB, MCCORMICK JA, ZIETSE R, UNWIN RJ, ELLISON DH (2012). Pathogenesis of calcineurin inhibitor-induced hypertension. *J Nephrol*, **25(3)**: 269-275. doi:10.5301/jn.5000174
- HU R, BARRATT DT, COLLIER JK, SALLUSTIO BC, SOMOGYI AA (2018). CYP3A5*3 and ABCB1 61A>G Significantly Influence Dose-adjusted Trough Blood Tacrolimus Concentrations in the First Three Months Post-Kidney Transplantation. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, **123(3)**: 320-326. doi:10.1111/bcpt.13016
- HUANG ML, VENKATARAMANAN R, BURCKART GJ, PTACHCINSKI RJ, VAN THIEL DH, STARZL TE (1988). Drug-binding proteins in liver transplant patients. *J Clin Pharmacol*, **28(6)**: 505-506.
- HUANG N, AGRAWAL V, GIACOMINI KM, MILLER WL (2008). Genetics of P450 oxidoreductase: sequence variation in 842 individuals of four ethnicities and activities of 15 missense mutations. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **105(5)**: 1733-1738. doi:10.1073/pnas.0711621105
- HURWITZ MY, PUTKEY JA, KLEE CB, MEANS AR (1988). Domain II of calmodulin is involved in activation of calcineurin. *FEBS Lett*, **238(1)**: 82-86.
- INTERNATIONAL HAPMAP C (2003). The International HapMap Project. *Nature*, **426(6968)**: 789-796. doi:10.1038/nature02168
- ISAKOVA T, NICKOLAS TL, DENBURG M, YARLAGADDA S, WEINER DE, GUTIERREZ OM, BANSAL V, ROSAS SE, NIGWEKAR S, YEE J, KRAMER H (2017). KDOQI US Commentary on the 2017 KDIGO Clinical Practice Guideline Update for the Diagnosis, Evaluation, Prevention, and Treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Am J Kidney Dis*, **70(6)**: 737-751. doi:10.1053/j.ajkd.2017.07.019
- ISSA N, KUKLA A, IBRAHIM HN (2013). Calcineurin inhibitor nephrotoxicity: a review and perspective of the evidence. *Am J Nephrol*, **37(6)**: 602-612. doi:10.1159/000351648

- IWASAKI K (2007). Metabolism of tacrolimus (FK506) and recent topics in clinical pharmacokinetics. *Drug Metab Pharmacokinet*, **22(5)**: 328-335.
- IWASAKI K, MATSUDA H, NAGASE K, SHIRAGA T, TOKUMA Y, UCHIDA K (1993). Effects of twenty-three drugs on the metabolism of FK506 by human liver microsomes. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, **82(2)**: 209-216.
- IWASAKI K, SHIRAGA T, MATSUDA H, NAGASE K, TOKUMA Y, HATA T, FUJII Y, SAKUMA S, FUJITSU T, FUJIKAWA A, ET AL. (1995). Further metabolism of FK506 (tacrolimus). Identification and biological activities of the metabolites oxidized at multiple sites of FK506. *Drug Metab Dispos*, **23(1)**: 28-34.
- IWASAKI K, SHIRAGA T, NAGASE K, TOZUKA Z, NODA K, SAKUMA S, FUJITSU T, SHIMATANI K, SATO A, FUJIOKA M (1993). Isolation, identification, and biological activities of oxidative metabolites of FK506, a potent immunosuppressive macrolide lactone. *Drug Metab Dispos*, **21(6)**: 971-977.
- IZUISHI K, WAKABAYASHI H, OHNISHI T, MAETA H, MAEBA T, ICHIKAWA Y (1997). Effects of an immunosuppressive agent, tacrolimus (FK-506), on the activities of cytochrome P-450-linked monooxygenase systems in rat liver microsomes. *Int J Biochem Cell Biol*, **29(6)**: 921-928.
- JACOBSON PA, OETTING WS, BREARLEY AM, LEDUC R, GUAN W, SCHLADT D, MATAS AJ, LAMBA V, JULIAN BA, MANNON RB, ISRANI A, DE KAFI (2011). Novel polymorphisms associated with tacrolimus trough concentrations: results from a multicenter kidney transplant consortium. *Transplantation*, **91(3)**: 300-308. doi:10.1097/TP.0b013e318200e991
- JAIN AB, ABU-ELMAGD K, ABDALLAH H, WARTY V, FUNG J, TODO S, STARZL TE, VENKATARAMANAN R (1993). Pharmacokinetics of FK506 in liver transplant recipients after continuous intravenous infusion. *J Clin Pharmacol*, **33(7)**: 606-611.
- JAIN AB, VENKATARAMANAN R, FUNG J, BURCKART G, EMEIGH J, DIVEN W, WARTY V, ABU-ELMAGD K, TODO S, ALESSIANI M, ET AL. (1991). Pharmacokinetics of cyclosporine and nephrotoxicity in orthotopic liver transplant patients rescued with FK 506. *Transplant Proc*, **23(6)**: 2777-2779.
- JANNOT AS, VUILLEMIN X, ETIENNE I, BUCHLER M, HURAUULT DE LIGNY B, CHOUKROUN G, COLOSIO C, THIERRY A, VIGNEAU C, MOULIN B, REROLLE JP, HENG AE, SUBRA JF, LEGENDRE C, BEAUNE P, LORIOT MA, THERVET E, PALLET N (2016). A Lack of Significant Effect of POR*28 Allelic Variant on Tacrolimus Exposure in Kidney Transplant Recipients. *Ther Drug Monit*, **38(2)**: 223-229. doi:10.1097/FTD.0000000000000267
- JANTZ AS, PATEL SJ, SUKI WN, KNIGHT RJ, BHIMARAJ A, GABER AO (2013). Treatment of acute tacrolimus toxicity with phenytoin in solid organ transplant recipients. *Case Rep Transplant*, **2013**: 375263. doi:10.1155/2013/375263
- JUN KR, LEE W, JANG MS, CHUN S, SONG GW, PARK KT, LEE SG, HAN DJ, KANG C, CHO DY, KIM JQ, MIN WK (2009). Tacrolimus concentrations in relation to CYP3A and ABCB1 polymorphisms among solid organ transplant recipients in Korea. *Transplantation*, **87(8)**: 1225-1231. doi:10.1097/TP.0b013e31819f117e

- JUNG HY, CHO SY, CHOI JY, CHO JH, PARK SH, KIM YL, KIM HK, HUH S, WON DI, KIM CD (2019). Comparison of Transplant Outcomes for Low-level and Standard-level Tacrolimus at Different Time Points after Kidney Transplantation. *J Korean Med Sci*, **34(12)**: e103. doi:10.3346/jkms.2019.34.e103
- JUSKO WJ (1995). Analysis of tacrolimus (FK 506) in relation to therapeutic drug monitoring. *Ther Drug Monit*, **17(6)**: 596-601.
- KALOW W (2001). Pharmacogenetics, pharmacogenomics, and pharmacobiology. *Clin Pharmacol Ther*, **70(1)**: 1-4. doi:10.1067/mcp.2001.116714
- KALOW W (2006). Pharmacogenetics and pharmacogenomics: origin, status, and the hope for personalized medicine. *Pharmacogenomics J*, **6(3)**: 162-165. doi:10.1038/sj.tpj.6500361
- KALOW W, TANG BK, ENDRENYI L (1998). Hypothesis: comparisons of inter- and intra-individual variations can substitute for twin studies in drug research. *Pharmacogenetics*, **8(4)**: 283-289.
- KAMDEM LK, STREIT F, ZANGER UM, BROCKMOLLER J, OELLERICH M, ARMSTRONG VW, WOJNOWSKI L (2005). Contribution of CYP3A5 to the in vitro hepatic clearance of tacrolimus. *Clin Chem*, **51(8)**: 1374-1381. doi:10.1373/clinchem.2005.050047
- KAPTURCZAK MH, MEIER-KRIESCHE HU, KAPLAN B (2004). Pharmacology of calcineurin antagonists. *Transplant Proc*, **36(2 Suppl)**: 25S-32S. doi:10.1016/j.transproceed.2004.01.018
- KARACA RO, KALKISIM S, ALTINBAS A, KILINCALP S, YUKSEL I, GOKTAS MT, YASAR U, BOZKURT A, BABA OGLU MO (2017). Effects of Genetic Polymorphisms of Cytochrome P450 Enzymes and MDR1 Transporter on Pantoprazole Metabolism and Helicobacter pylori Eradication. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, **120(2)**: 199-206. doi:10.1111/bcpt.12667
- KAYILIOGLU H, KOCAK U, KAN KARAER D, PERCIN EF, SAL E, TEKESIN F, ISIK M, ONER N, BELEN FB, YILMAZ KESKIN E, OKUR A, ALBAYRAK M, KAYA Z, PINARLI FG, YENICESU I, KARADENIZ C, OGUZ A, GURSEL T (2017). Association of CYP3A5 Expression and Vincristine Neurotoxicity in Pediatric Malignancies in Turkish Population. *J Pediatr Hematol Oncol*, **39(6)**: 458-462. doi:10.1097/MPH.0000000000000910
- KESHAVA C, MCCANLIES EC, WESTON A (2004). CYP3A4 polymorphisms--potential risk factors for breast and prostate cancer: a HuGE review. *Am J Epidemiol*, **160(9)**: 825-841. doi:10.1093/aje/kwh294
- KHAN E, KILLACKEY M, KUMBALA D, LAGUARDIA H, LIU YJ, QIN HZ, ALPER B, PARAMESH A, BUELL J, ZHANG R (2014). Long-term outcome of ketoconazole and tacrolimus co-administration in kidney transplant patients. *World J Nephrol*, **3(3)**: 107-113. doi:10.5527/wjn.v3.i3.107
- KIDNEY DISEASE: IMPROVING GLOBAL OUTCOMES CKD-MBDWG (2009). KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney Int Suppl*(**113**): S1-130. doi:10.1038/ki.2009.188

- KIDNEY DISEASE: IMPROVING GLOBAL OUTCOMES TRANSPLANT WORK G (2009). KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am J Transplant*, **9 Suppl 3**: S1-155. doi:10.1111/j.1600-6143.2009.02834.x
- KIM IW, NOH H, JI E, HAN N, HONG SH, HA J, BURCKART GJ, OH JM (2012). Identification of factors affecting tacrolimus level and 5-year clinical outcome in kidney transplant patients. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, **111(4)**: 217-223. doi:10.1111/j.1742-7843.2012.00892.x
- KNOPS N, LEVTCHENKO E, VAN DEN HEUVEL B, KUYPERS D (2013). From gut to kidney: transporting and metabolizing calcineurin-inhibitors in solid organ transplantation. *Int J Pharm*, **452(1-2)**: 14-35. doi:10.1016/j.ijpharm.2013.05.033
- KURZAWSKI M, DABROWSKA J, DZIEWANOWSKI K, DOMANSKI L, PERUZYNSKA M, DROZDZIK M (2014). CYP3A5 and CYP3A4, but not ABCB1 polymorphisms affect tacrolimus dose-adjusted trough concentrations in kidney transplant recipients. *Pharmacogenomics*, **15(2)**: 179-188. doi:10.2217/pgs.13.199
- KUYPERS DR (2010). Pharmacogenetic vs. concentration-controlled optimization of tacrolimus dosing in renal allograft recipients. *Clin Pharmacol Ther*, **88(5)**: 595-596; author reply 597. doi:10.1038/clpt.2010.129
- KUYPERS DR (2018). "What do we know about tacrolimus pharmacogenetics in transplant recipients?". *Pharmacogenomics*, **19(7)**: 593-597. doi:10.2217/pgs-2018-0035
- KUYPERS DR, DE JONGE H, NAESENS M, VANRENTERGHEM Y (2010). A prospective, open-label, observational clinical cohort study of the association between delayed renal allograft function, tacrolimus exposure, and CYP3A5 genotype in adult recipients. *Clin Ther*, **32(12)**: 2012-2023. doi:10.1016/j.clinthera.2010.11.010
- KUYPERS DR, DE LOOR H, NAESENS M, COOPMANS T, DE JONGE H (2014). Combined effects of CYP3A5*1, POR*28, and CYP3A4*22 single nucleotide polymorphisms on early concentration-controlled tacrolimus exposure in de-novo renal recipients. *Pharmacogenet Genomics*, **24(12)**: 597-606. doi:10.1097/FPC.0000000000000095
- LAM S, PARTOVI N, TING LS, ENSOM MH (2008). Corticosteroid interactions with cyclosporine, tacrolimus, mycophenolate, and sirolimus: fact or fiction? *Ann Pharmacother*, **42(7)**: 1037-1047. doi:10.1345/aph.1K628
10.1345/aph.1K62B
- LAMBA JK, LIN YS, SCHUETZ EG, THUMMEL KE (2002). Genetic contribution to variable human CYP3A-mediated metabolism. *Adv Drug Deliv Rev*, **54(10)**: 1271-1294.
- LAMBA V, GHODKE Y, GUAN W, TRACY TS (2014). microRNA-34a is associated with expression of key hepatic transcription factors and cytochromes P450. *Biochem Biophys Res Commun*, **445(2)**: 404-411. doi:10.1016/j.bbrc.2014.02.024
- LASKOW DA, NEYLAN JF, 3RD, SHAPIRO RS, PIRSCH JD, VERGNE-MARINI PJ, TOMLANOVICH SJ (1998). The role of tacrolimus in adult kidney transplantation: a review. *Clin Transplant*, **12(6)**: 489-503.

- LEICHTMAN AB (2007). Balancing efficacy and toxicity in kidney-transplant immunosuppression. *N Engl J Med*, **357(25)**: 2625-2627. doi:10.1056/NEJMe078181
- LEMAHIEU WP, HERMANN M, ASBERG A, VERBEKE K, HOLDAAS H, VANRENTERGHEM Y, MAES BD (2005). Combined therapy with atorvastatin and calcineurin inhibitors: no interactions with tacrolimus. *Am J Transplant*, **5(9)**: 2236-2243. doi:10.1111/j.1600-6143.2005.01005.x
- LESCHÉ D, SIGURDARDOTTIR V, SETOUD R, OBERHANSLI M, CARREL T, FIEDLER GM, LARGIADER CR, MOHACSI P, SISTONEN J (2014). CYP3A5*3 and POR*28 genetic variants influence the required dose of tacrolimus in heart transplant recipients. *Ther Drug Monit*, **36(6)**: 710-715. doi:10.1097/FTD.0000000000000080
- LESSAN PEZESHKI M (2004). The newest medications in kidney transplantation and their mechanisms of action. *Urol J*, **1(1)**: 19-23.
- LEVEY AS (2012). A decade after the KDOQI CKD guidelines. *Am J Kidney Dis*, **60(5)**: 683-685. doi:10.1053/j.ajkd.2012.08.019
- LIU EH, SIEGEL RM, HARLAN DM, O'SHEA JJ (2007). T cell-directed therapies: lessons learned and future prospects. *Nat Immunol*, **8(1)**: 25-30. doi:10.1038/ni1429
- LIU J, FARMER JD, JR., LANE WS, FRIEDMAN J, WEISSMAN I, SCHREIBER SL (1991). Calcineurin is a common target of cyclophilin-cyclosporin A and FKBP-FK506 complexes. *Cell*, **66(4)**: 807-815.
- LLOBERAS N, ELENS L, LLAUDO I, PADULLES A, VAN GELDER T, HESSELINK DA, COLOM H, ANDREU F, TORRAS J, BESTARD O, CRUZADO JM, GIL-VERNET S, VAN SCHAIK R, GRINYO JM (2017). The combination of CYP3A4*22 and CYP3A5*3 single-nucleotide polymorphisms determines tacrolimus dose requirement after kidney transplantation. *Pharmacogenet Genomics*, **27(9)**: 313-322. doi:10.1097/FPC.0000000000000296
- LOWN KS, MAYO RR, LEICHTMAN AB, HSIAO HL, TURGEON DK, SCHMIEDLIN-REN P, BROWN MB, GUO W, ROSSI SJ, BENET LZ, WATKINS PB (1997). Role of intestinal P-glycoprotein (mdr1) in interpatient variation in the oral bioavailability of cyclosporine. *Clin Pharmacol Ther*, **62(3)**: 248-260. doi:10.1016/S0009-9236(97)90027-8
- LUNDE I, BREMER S, MIDTVEDT K, MOHEBI B, DAHL M, BERGAN S, ASBERG A, CHRISTENSEN H (2014). The influence of CYP3A, PPARA, and POR genetic variants on the pharmacokinetics of tacrolimus and cyclosporine in renal transplant recipients. *Eur J Clin Pharmacol*, **70(6)**: 685-693. doi:10.1007/s00228-014-1656-3
- MACPHEE IA, FREDERICKS S, HOLT DW (2005). Does pharmacogenetics have the potential to allow the individualisation of immunosuppressive drug dosing in organ transplantation? *Expert Opin Pharmacother*, **6(15)**: 2593-2605. doi:10.1517/14656566.6.15.2593
- MACPHEE IA, FREDERICKS S, MOHAMED M, MORETON M, CARTER ND, JOHNSTON A, GOLDBERG L, HOLT DW (2005). Tacrolimus pharmacogenetics:

the CYP3A5*1 allele predicts low dose-normalized tacrolimus blood concentrations in whites and South Asians. *Transplantation*, **79(4)**: 499-502. doi:10.1097/01.tp.0000151766.73249.12

MACPHEE IA, FREDERICKS S, TAI T, SYRRIS P, CARTER ND, JOHNSTON A, GOLDBERG L, HOLT DW (2004). The influence of pharmacogenetics on the time to achieve target tacrolimus concentrations after kidney transplantation. *Am J Transplant*, **4(6)**: 914-919. doi:10.1111/j.1600-6143.2004.00435.x

MACPHEE IA, HOLT DW (2008). A pharmacogenetic strategy for immunosuppression based on the CYP3A5 genotype. *Transplantation*, **85(2)**: 163-165. doi:10.1097/TP.0b013e3181609054

MAI I, PERLOFF ES, BAUER S, GOLDAMMER M, JOHNE A, FILLER G, BUDDE K, ROOTS I (2004). MDR1 haplotypes derived from exons 21 and 26 do not affect the steady-state pharmacokinetics of tacrolimus in renal transplant patients. *Br J Clin Pharmacol*, **58(5)**: 548-553. doi:10.1111/j.1365-2125.2004.02182.x

MALVEZZI P, ROSTAING L (2015). The safety of calcineurin inhibitors for kidney-transplant patients. *Expert Opin Drug Saf*, **14(10)**: 1531-1546. doi:10.1517/14740338.2015.1083974

MANZANARES C, MORENO M, CASTELLANOS F, CUBAS A, HERRERO JC, MORALES-RUIZ E, SEGURA J, ANDRES A, MORALES JM (1998). Influence of hepatitis C virus infection on FK 506 blood levels in renal transplant patients. *Transplant Proc*, **30(4)**: 1264-1265.

MATSUDA H, IWASAKI K, SHIRAGA T, TOZUKA Z, HATA T, GUENGERICH FP (1996). Interactions of FK506 (tacrolimus) with clinically important drugs. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*, **91(1)**: 57-64.

MAYER AD (1999). Four-year follow-up of the European Tacrolimus Multicenter Renal Study. *Transplant Proc*, **31(7A)**: 27S-28S.

MAYER AD, DMITREWSKI J, SQUIFFLET JP, BESSE T, GRABENSEE B, KLEIN B, EIGLER FW, HEEMANN U, PICHLMAYR R, BEHREND M, VANRENTERGHEM Y, DONCK J, VAN HOOFF J, CHRISTIAANS M, MORALES JM, ANDRES A, JOHNSON RW, SHORT C, BUCHHOLZ B, REHMERT N, LAND W, SCHLEIBNER S, FORSYTHE JL, TALBOT D, POHANKA E, ET AL. (1997). Multicenter randomized trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporine in the prevention of renal allograft rejection: a report of the European Tacrolimus Multicenter Renal Study Group. *Transplantation*, **64(3)**: 436-443.

MCDIARMID SV, COLONNA JO, 2ND, SHAKED A, VARGAS J, AMENT ME, BUSUTTL RW (1993). Differences in oral FK506 dose requirements between adult and pediatric liver transplant patients. *Transplantation*, **55(6)**: 1328-1332.

METALIDIS C, KUYPERS D (2011). Immunosuppressive therapy after kidney transplantation: current and new strategies. *Minerva Urol Nefrol*, **63(1)**: 1-19.

MIGNAT C (1997). Clinically significant drug interactions with new immunosuppressive agents. *Drug Saf*, **16(4)**: 267-278. doi:10.2165/00002018-199716040-00004

- MOCHIZUKI M, MASUDA K, SAKANE T, ITO K, KOGURE M, SUGINO N, USUI M, MIZUSHIMA Y, OHNO S, INABA G, ET AL. (1993). A clinical trial of FK506 in refractory uveitis. *Am J Ophthalmol*, **115(6)**: 763-769.
- MOHAMED ME, SCHLADT DP, GUAN W, WU B, VAN SETTEN J, KEATING BJ, IKLE D, REMMEL RP, DORR CR, MANNON RB, MATAS AJ, ISRANI AK, OETTING WS, JACOBSON PA, DE KAFG, INVESTIGATORS GEN (2019). Tacrolimus troughs and genetic determinants of metabolism in kidney transplant recipients: A comparison of four ancestry groups. *Am J Transplant*. doi:10.1111/ajt.15385
- MOLLER A, IWASAKI K, KAWAMURA A, TERAMURA Y, SHIRAGA T, HATA T, SCHAFER A, UNDRE NA (1999). The disposition of ¹⁴C-labeled tacrolimus after intravenous and oral administration in healthy human subjects. *Drug Metab Dispos*, **27(6)**: 633-636.
- MOR E, YUSSIM A, CHODOFF L, SCHWARTZ ME (1997). New immunosuppressive agents for maintenance therapy in organ transplantation. *BioDrugs*, **8(6)**: 469-488. doi:10.2165/00063030-199708060-00007
- MROZIEWICZ M, TYNDALE RF (2010). Pharmacogenetics: a tool for identifying genetic factors in drug dependence and response to treatment. *Addict Sci Clin Pract*, **5(2)**: 17-29.
- NAESENS M, KUYPERS DR, SARWAL M (2009). Calcineurin inhibitor nephrotoxicity. *Clin J Am Soc Nephrol*, **4(2)**: 481-508. doi:10.2215/CJN.04800908
- NAGASE K, IWASAKI K, NOZAKI K, NODA K (1994). Distribution and protein binding of FK506, a potent immunosuppressive macrolide lactone, in human blood and its uptake by erythrocytes. *J Pharm Pharmacol*, **46(2)**: 113-117.
- NATIONAL KIDNEY F (2002). K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis*, **39(2 Suppl 1)**: S1-266.
- NIIOKA T, KAGAYA H, MIURA M, NUMAKURA K, SAITO M, INOUE T, HABUCHI T, SATOH S (2013). Pharmaceutical and genetic determinants for interindividual differences of tacrolimus bioavailability in renal transplant recipients. *Eur J Clin Pharmacol*, **69(9)**: 1659-1665. doi:10.1007/s00228-013-1514-8
- NOCETI OM, WOILLARD JB, BOUMEDIENE A, ESPERON P, TAUPIN JL, GERONA S, VALVERDE M, TOURINO C, MARQUET P (2014). Tacrolimus pharmacodynamics and pharmacogenetics along the calcineurin pathway in human lymphocytes. *Clin Chem*, **60(10)**: 1336-1345. doi:10.1373/clinchem.2014.223511
- OELLERICH M, ARMSTRONG VW, SCHUTZ E, SHAW LM (1998). Therapeutic drug monitoring of cyclosporine and tacrolimus. Update on Lake Louise Consensus Conference on cyclosporin and tacrolimus. *Clin Biochem*, **31(5)**: 309-316.
- OETTING WS, SCHLADT DP, GUAN W, MILLER MB, REMMEL RP, DORR C, SANGHAVI K, MANNON RB, HERRERA B, MATAS AJ, SALOMON DR, KWOK PY, KEATING BJ, ISRANI AK, JACOBSON PA, DE KAFI (2016). Genomewide Association Study of Tacrolimus Concentrations in African American

Kidney Transplant Recipients Identifies Multiple CYP3A5 Alleles. *Am J Transplant*, **16(2)**: 574-582. doi:10.1111/ajt.13495

OKUBO M, MURAYAMA N, SHIMIZU M, SHIMADA T, GUENGERICH FP, YAMAZAKI H (2013). CYP3A4 intron 6 C>T polymorphism (CYP3A4*22) is associated with reduced CYP3A4 protein level and function in human liver microsomes. *J Toxicol Sci*, **38(3)**: 349-354.

ONEDA B, CRETTOL S, JAQUENOUD SIROT E, BOCHUD M, ANSERMOT N, EAP CB (2009). The P450 oxidoreductase genotype is associated with CYP3A activity in vivo as measured by the midazolam phenotyping test. *Pharmacogenet Genomics*, **19(11)**: 877-883. doi:10.1097/FPC.0b013e32833225e7

OZDEMIR V, KALOW W, TANG BK, PATERSON AD, WALKER SE, ENDRENYI L, KASHUBA AD (2000). Evaluation of the genetic component of variability in CYP3A4 activity: a repeated drug administration method. *Pharmacogenetics*, **10(5)**: 373-388.

OZDEMIR F, DEMİRBÜĞEN OZ M, SUZEN S (2019). A Novel PCR-RFLP Method for Detection of POR*28 Polymorphism and its Genotype/Allele Frequencies in a Turkish Population. *Current Drug Metabolism*, Epub ahead of print, doi: 10.2174/1389200220666190913121052

PALEPU S, PRASAD GV (2015). New-onset diabetes mellitus after kidney transplantation: Current status and future directions. *World J Diabetes*, **6(3)**: 445-455. doi:10.4239/wjd.v6.i3.445

PALLET N, JANNOT AS, EL BAHRI M, ETIENNE I, BUCHLER M, DE LIGNY BH, CHOUKROUN G, COLOSIO C, THIERRY A, VIGNEAU C, MOULIN B, LE MEUR Y, HENG AE, SUBRA JF, LEGENDRE C, BEAUNE P, ALBERTI C, LORiot MA, THERVET E (2015). Kidney transplant recipients carrying the CYP3A4*22 allelic variant have reduced tacrolimus clearance and often reach supratherapeutic tacrolimus concentrations. *Am J Transplant*, **15(3)**: 800-805. doi:10.1111/ajt.13059

PANDEY AV, SPROLL P (2014). Pharmacogenomics of human P450 oxidoreductase. *Front Pharmacol*, **5**: 103. doi:10.3389/fphar.2014.00103

PASTERNAK AL, ZHANG L, HERTZ DL (2018). CYP3A pharmacogenetic association with tacrolimus pharmacokinetics differs based on route of drug administration. *Pharmacogenomics*, **19(6)**: 563-576. doi:10.2217/pgs-2018-0003,

PHILLIPS AH, LANGDON RG (1962). Hepatic triphosphopyridine nucleotide-cytochrome c reductase: isolation, characterization, and kinetic studies. *J Biol Chem*, **237**: 2652-2660.

PLOSKER GL, FOSTER RH (2000). Tacrolimus: a further update of its pharmacology and therapeutic use in the management of organ transplantation. *Drugs*, **59(2)**: 323-389. doi:10.2165/00003495-200059020-00021

POU L, BRUNET M, ANDRES I, RODAMILANS M, LOPEZ R, CORBELLÀ J (1998). Influence of posttransplant time on dose and concentration of tacrolimus in liver transplant patients. *Transpl Int*, **11 Suppl 1**: S270-271.

- PRASAD TN, STIFF DD, SUBBOTINA N, ZEMAITIS MA, BURCKART GJ, STARZL TE, VENKATARAMANAN R (1994). FK 506 (Tacrolimus) metabolism by rat liver microsomes and its inhibition by other drugs. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, **84(1)**: 35-46.
- PRESS RR, PLOEGER BA, DEN HARTIGH J, VAN DER STRAATEN T, VAN PELT J, DANHOF M, DE FIJTER JW, GUCHELAAR HJ (2009). Explaining variability in tacrolimus pharmacokinetics to optimize early exposure in adult kidney transplant recipients. *Ther Drug Monit*, **31(2)**: 187-197. doi:10.1097/FTD.0b013e31819c3d6d
- PROKAI A, FEKETE A, PASTI K, RUSAI K, BANKI NF, REUSZ G, SZABO AJ (2012). The importance of different immunosuppressive regimens in the development of posttransplant diabetes mellitus. *Pediatr Diabetes*, **13(1)**: 81-91. doi:10.1111/j.1399-5448.2011.00782.x
- PROVENZANI A, SANTEUSANIO A, MATHIS E, NOTARBARTOLO M, LABBOZZETTA M, POMA P, PROVENZANI A, POLIDORI C, VIZZINI G, POLIDORI P, D'ALESSANDRO N (2013). Pharmacogenetic considerations for optimizing tacrolimus dosing in liver and kidney transplant patients. *World J Gastroenterol*, **19(48)**: 9156-9173. doi:10.3748/wjg.v19.i48.9156
- PRZEPIORKA D, BLAMBLE D, HILSENBECK S, DANIELSON M, KRANCE R, CHAN KW (2000). Tacrolimus clearance is age-dependent within the pediatric population. *Bone Marrow Transplant*, **26(6)**: 601-605. doi:10.1038/sj.bmt.1702588
- RAKEL A, KARELIS AD (2011). New-onset diabetes after transplantation: risk factors and clinical impact. *Diabetes Metab*, **37(1)**: 1-14. doi:10.1016/j.diabet.2010.09.003
- REDFIELD RR, SCALEA JR, ZENS TJ, MUTH B, KAUFMAN DB, DJAMALI A, ASTOR BC, MOHAMED M (2016). Predictors and outcomes of delayed graft function after living-donor kidney transplantation. *Transpl Int*, **29(1)**: 81-87. doi:10.1111/tri.12696
- RODRIGUEZ-PERALVAREZ M, GERMANI G, DARIUS T, LERUT J, TSOCHATZIS E, BURROUGHS AK (2012). Tacrolimus trough levels, rejection and renal impairment in liver transplantation: a systematic review and meta-analysis. *Am J Transplant*, **12(10)**: 2797-2814. doi:10.1111/j.1600-6143.2012.04140.x
- ROUGHEAD EE, KALISCH LM, BARRATT JD, GILBERT AL (2010). Prevalence of potentially hazardous drug interactions amongst Australian veterans. *Br J Clin Pharmacol*, **70(2)**: 252-257. doi:10.1111/j.1365-2125.2010.03694.x
- ROY JN, LAJOIE J, ZIJENAH LS, BARAMA A, POIRIER C, WARD BJ, ROGER M (2005). CYP3A5 genetic polymorphisms in different ethnic populations. *Drug Metab Dispos*, **33(7)**: 884-887. doi:10.1124/dmd.105.003822
- SAITO Y, YAMAMOTO N, KATORI N, MAEKAWA K, FUKUSHIMA-UESAKA H, SUGIMOTO D, KUROSE K, SAI K, KANIWA N, SAWADA J, KUNITOH H, OHE Y, YOSHIDA T, MATSUMURA Y, SAIJO N, OKUDA H, TAMURA T (2011). Genetic polymorphisms and haplotypes of por, encoding cytochrome p450 oxidoreductase, in a Japanese population. *Drug Metab Pharmacokinet*, **26(1)**: 107-116.

- SANTORO AB, STRUCHINER CJ, FELIPE CR, TEDESCO-SILVA H, MEDINA-PESTANA JO, SUAREZ-KURTZ G (2013). CYP3A5 genotype, but not CYP3A4*1b, CYP3A4*22, or hematocrit, predicts tacrolimus dose requirements in Brazilian renal transplant patients. *Clin Pharmacol Ther*, **94(2)**: 201-202. doi:10.1038/clpt.2013.68
- SAWADA S, SUZUKI G, KAWASE Y, TAKAKU F (1987). Novel immunosuppressive agent, FK506. In vitro effects on the cloned T cell activation. *J Immunol*, **139(6)**: 1797-1803.
- SCHREIBER SL, CRABTREE GR (1992). The mechanism of action of cyclosporin A and FK506. *Immunol Today*, **13(4)**: 136-142. doi:10.1016/0167-5699(92)90111-J
- SHUKER N, BOUAMAR R, VAN SCHAIK RH, CLAHSSEN-VAN GRONINGEN MC, DAMMAN J, BAAN CC, VAN DE WETERING J, ROWSHANI AT, WEIMAR W, VAN GELDER T, HESSELINK DA (2016). A Randomized Controlled Trial Comparing the Efficacy of Cyp3a5 Genotype-Based With Body-Weight-Based Tacrolimus Dosing After Living Donor Kidney Transplantation. *Am J Transplant*, **16(7)**: 2085-2096. doi:10.1111/ajt.13691
- SIDDIQI N, MARFO K (2010). Clinically significant drug-drug interaction between tacrolimus and phenobarbital: the price we pay. *J Pharm Pract*, **23(6)**: 585-589. doi:10.1177/0897190010377804
- SINGH JA, HOSSAIN A, KOTB A, WELLS G (2016). Risk of serious infections with immunosuppressive drugs and glucocorticoids for lupus nephritis: a systematic review and network meta-analysis. *BMC Med*, **14(1)**: 137. doi:10.1186/s12916-016-0673-8
- SOLEZ K, COLVIN RB, RACUSEN LC, HAAS M, SIS B, MENGEL M, HALLORAN PF, BALDWIN W, BANFI G, COLLINS AB, COSIO F, DAVID DS, DRACHENBERG C, EINECKE G, FOGO AB, GIBSON IW, GLOTZ D, ISKANDAR SS, KRAUS E, LERUT E, MANNON RB, MIHATSCH M, NANKIVELL BJ, NICKELEIT V, PAPADIMITRIOU JC, RANDHAWA P, REGELE H, RENAUDIN K, ROBERTS I, SERON D, SMITH RN, VALENTE M (2008). Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant*, **8(4)**: 753-760. doi:10.1111/j.1600-6143.2008.02159.x
- STAATZ CE, GOODMAN LK, TETT SE (2010a). Effect of CYP3A and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of calcineurin inhibitors: Part I. *Clin Pharmacokinet*, **49(3)**: 141-175. doi:10.2165/11317350-000000000-00000
- STAATZ CE, GOODMAN LK, TETT SE (2010b). Effect of CYP3A and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of calcineurin inhibitors: Part II. *Clin Pharmacokinet*, **49(4)**: 207-221. doi:10.2165/11317550-000000000-00000
- STAATZ CE, TAYLOR PJ, LYNCH SV, TETT SE (2004). A pharmacodynamic investigation of tacrolimus in pediatric liver transplantation. *Liver Transpl*, **10(4)**: 506-512. doi:10.1002/lt.20065

- STAATZ CE, TETT SE (2004). Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of tacrolimus in solid organ transplantation. *Clin Pharmacokinet*, **43(10)**: 623-653. doi:10.2165/00003088-200443100-00001
- STORSET E, ASBERG A, SKAUBY M, NEELY M, BERGAN S, BREMER S, MIDTVEDT K (2015). Improved Tacrolimus Target Concentration Achievement Using Computerized Dosing in Renal Transplant Recipients--A Prospective, Randomized Study. *Transplantation*, **99(10)**: 2158-2166. doi:10.1097/TP.0000000000000708
- STRATTA P, QUAGLIA M, CENA T, ANTONIOTTI R, FENOGLIO R, MENEGOTTO A, FERRANTE D, GENAZZANI A, TERRAZZINO S, MAGNANI C (2012). The interactions of age, sex, body mass index, genetics, and steroid weight-based doses on tacrolimus dosing requirement after adult kidney transplantation. *Eur J Clin Pharmacol*, **68(5)**: 671-680. doi:10.1007/s00228-011-1150-0
- SU VC, HARRISON J, ROGERS C, ENSOM MH (2012). Belatacept: a new biologic and its role in kidney transplantation. *Ann Pharmacother*, **46(1)**: 57-67. doi:10.1345/aph.1Q537
- T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI K, ORGAN VE DOKU NAKLI HİZMETLERİ DAİRESİ BAŞKANLIĞI RESMİ SAYFASI. (2019). Kan, Organ ve Doku Nakli Hizmetleri Dairesi Başkanlığı Resmi Sayfası. Erişim: [\[https://organ.saglik.gov.tr/OTR/70Istatistik/ORGAN_010103.aspx\]](https://organ.saglik.gov.tr/OTR/70Istatistik/ORGAN_010103.aspx). Erişim Tarihi: [12 Kasım 2019]
- TANAKA H, KURODA A, MARUSAWA H, HASHIMOTO M, HATANAKA H, KINO T, GOTO T, OKUHARA M (1987). Physicochemical properties of FK-506, a novel immunosuppressant isolated from *Streptomyces tsukubaensis*. *Transplant Proc*, **19(5 Suppl 6)**: 11-16.
- TANG JT, ANDREWS LM, VAN GELDER T, SHI YY, VAN SCHAIK RH, WANG LL, HESSELINK DA (2016). Pharmacogenetic aspects of the use of tacrolimus in renal transplantation: recent developments and ethnic considerations. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, **12(5)**: 555-565. doi:10.1517/17425255.2016.1170808
- TANNER JA, PRASAD B, CLAW KG, STAPLETON P, CHAUDHRY A, SCHUETZ EG, THUMMEL KE, TYNDALE RF (2017). Predictors of Variation in CYP2A6 mRNA, Protein, and Enzyme Activity in a Human Liver Bank: Influence of Genetic and Nongenetic Factors. *J Pharmacol Exp Ther*, **360(1)**: 129-139. doi:10.1124/jpet.116.237594
- TAVIRA B, COTO E, DIAZ-CORTE C, ALVAREZ V, LOPEZ-LARREA C, ORTEGA F (2013). A search for new CYP3A4 variants as determinants of tacrolimus dose requirements in renal-transplanted patients. *Pharmacogenet Genomics*, **23(8)**: 445-448. doi:10.1097/FPC.0b013e3283636856
- TAVIRA B, DIAZ-CORTE C, CORONEL D, ORTEGA F, COTO E (2014). [Pharmacogenetics of tacrolimus: from bench to bedside?]. *Nefrologia*, **34(1)**: 11-17. doi:10.3265/Nefrologia.pre2013.Nov.12267
- THERVET E, LORiot MA, BARBIER S, BUCHLER M, FICHEUX M, CHOUKROUN G, TOUPANCE O, TOUCHARD G, ALBERTI C, LE POGAMP P, MOULIN B, LE MEUR Y, HENG AE, SUBRA JF, BEAUNE P, LEGENDRE C (2010). Optimization

- of initial tacrolimus dose using pharmacogenetic testing. *Clin Pharmacol Ther*, **87(6)**: 721-726. doi:10.1038/clpt.2010.17
- THOMSON AW, BONHAM CA, ZEEVI A (1995). Mode of action of tacrolimus (FK506): molecular and cellular mechanisms. *Ther Drug Monit*, **17(6)**: 584-591.
- UBER PA, MEHRA MR, SCOTT RL, PRASAD AK, PARK MH (2001). Ethnic disparities in the pharmacologic characteristics of tacrolimus in heart transplantation. *Transplant Proc*, **33(1-2)**: 1581-1582.
- UNDRE NA, SCHAFER A (1998). Factors affecting the pharmacokinetics of tacrolimus in the first year after renal transplantation. European Tacrolimus Multicentre Renal Study Group. *Transplant Proc*, **30(4)**: 1261-1263.
- VAN DEN BERG AP, HAAGSMA EB, GOUW AS, SLOOFF MJ, JANSEN PL (2001). Recurrent HCV infection reduces the requirement for tacrolimus after liver transplantation. *Transplant Proc*, **33(1-2)**: 1467.
- VAN HOOFF JP, BOOTS JM, VAN DUIJNHOFEN EM, CHRISTIAANS MH (1999). Dosing and management guidelines for tacrolimus in renal transplant patients. *Transplant Proc*, **31(7A)**: 54S-57S.
- VAN HOOFF JP, CHRISTIAANS MH, VAN DUIJNHOFEN EM (2004). Evaluating mechanisms of post-transplant diabetes mellitus. *Nephrol Dial Transplant*, **19 Suppl 6**: vi8-vi12. doi:10.1093/ndt/gfh1063
- VAN RAALTE DH, OUWENS DM, DIAMANT M (2009). Novel insights into glucocorticoid-mediated diabetogenic effects: towards expansion of therapeutic options? *Eur J Clin Invest*, **39(2)**: 81-93. doi:10.1111/j.1365-2362.2008.02067.x
- VERBELEN M, WEALE ME, LEWIS CM (2017). Cost-effectiveness of pharmacogenetic-guided treatment: are we there yet? *Pharmacogenomics J*, **17(5)**: 395-402. doi:10.1038/tpj.2017.21
- WACHER VJ, SILVERMAN JA, ZHANG Y, BENET LZ (1998). Role of P-glycoprotein and cytochrome P450 3A in limiting oral absorption of peptides and peptidomimetics. *J Pharm Sci*, **87(11)**: 1322-1330. doi:10.1021/js980082d
- WADA K, TAKADA M, SAKAI M, OCHI H, KOTAKE T, OKADA H, MORISHITA H, ODA N, MANO A, KATO TS, KOMAMURA K, NAKATANI T (2009). Drug interaction between tacrolimus and carbamazepine in a Japanese heart transplant recipient: a case report. *J Heart Lung Transplant*, **28(4)**: 409-411. doi:10.1016/j.healun.2009.01.009
- WALLEMACQ PE, VERBEECK RK (2001). Comparative clinical pharmacokinetics of tacrolimus in paediatric and adult patients. *Clin Pharmacokinet*, **40(4)**: 283-295. doi:10.2165/00003088-200140040-00004
- WANG D, GUO Y, WRIGHTON SA, COOKE GE, SADEE W (2011). Intronic polymorphism in CYP3A4 affects hepatic expression and response to statin drugs. *Pharmacogenomics J*, **11(4)**: 274-286. doi:10.1038/tpj.2010.28

- WESTLIND A, LOFBERG L, TINDBERG N, ANDERSSON TB, INGELMAN-SUNDBERG M (1999). Interindividual differences in hepatic expression of CYP3A4: relationship to genetic polymorphism in the 5'-upstream regulatory region. *Biochem Biophys Res Commun*, **259(1)**: 201-205. doi:10.1006/bbrc.1999.0752
- WIEDERRECHT G, LAM E, HUNG S, MARTIN M, SIGAL N (1993). The mechanism of action of FK-506 and cyclosporin A. *Ann N Y Acad Sci*, **696**: 9-19.
- WILLIAMS CH, JR., KAMIN H (1962). Microsomal triphosphopyridine nucleotide-cytochrome c reductase of liver. *J Biol Chem*, **237**: 587-595.
- WILLIAMS JA, COOK J, HURST SI (2003). A significant drug-metabolizing role for CYP3A5? *Drug Metab Dispos*, **31(12)**: 1526-1530. doi:10.1124/dmd.31.12.1526
- YIGITASLAN S, EROL K, CENGELLI C (2016). The Effect of P-Glycoprotein Inhibition and Activation on the Absorption and Serum Levels of Cyclosporine and Tacrolimus in Rats. *Adv Clin Exp Med*, **25(2)**: 237-242. doi:10.17219/acem/35254
- YU M, LIU M, ZHANG W, MING Y (2018). Pharmacokinetics, Pharmacodynamics and Pharmacogenetics of Tacrolimus in Kidney Transplantation. *Curr Drug Metab*, **19(6)**: 513-522. doi:10.2174/1389200219666180129151948
- YU SF, WU LH, ZHENG SS (2006). Genetic factors for individual administration of immunosuppressants in organ transplantation. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, **5(3)**: 337-344.
- ZHANG HF, LI ZH, LIU JY, LIU TT, WANG P, FANG Y, ZHOU J, CUI MZ, GAO N, TIAN X, GAO J, WEN Q, JIA LJ, QIAO HL (2016). Correlation of Cytochrome P450 Oxidoreductase Expression with the Expression of 10 Isoforms of Cytochrome P450 in Human Liver. *Drug Metab Dispos*, **44(8)**: 1193-1200. doi:10.1124/dmd.116.069849
- ZHANG JJ, LIU SB, XUE L, DING XL, ZHANG H, MIAO LY (2015). The genetic polymorphisms of POR*28 and CYP3A5*3 significantly influence the pharmacokinetics of tacrolimus in Chinese renal transplant recipients. *Int J Clin Pharmacol Ther*, **53(9)**: 728-736. doi:10.5414/CP202152
- ZHANG JJ, ZHANG H, DING XL, MA S, MIAO LY (2013). Effect of the P450 oxidoreductase 28 polymorphism on the pharmacokinetics of tacrolimus in Chinese healthy male volunteers. *Eur J Clin Pharmacol*, **69(4)**: 807-812. doi:10.1007/s00228-012-1432-1
- ZHANG W, YUAN JJ, KAN QC, ZHANG LR, CHANG YZ, WANG ZY, LI ZS (2011). Influence of CYP3A5*3 polymorphism and interaction between CYP3A5*3 and CYP3A4*1G polymorphisms on post-operative fentanyl analgesia in Chinese patients undergoing gynaecological surgery. *Eur J Anaesthesiol*, **28(4)**: 245-250.
- ZHANG X, LIU ZH, ZHENG JM, CHEN ZH, TANG Z, CHEN JS, LI LS (2005). Influence of CYP3A5 and MDR1 polymorphisms on tacrolimus concentration in the early stage after renal transplantation. *Clin Transplant*, **19(5)**: 638-643. doi:10.1111/j.1399-0012.2005.00370.x

- ZHENG H, ZEEVI A, SCHUETZ E, LAMBA J, MCCURRY K, GRIFFITH BP, WEBBER S, RISTICH J, DAUBER J, IACONO A, GRGURICH W, ZALDONIS D, MCDADE K, ZHANG J, BURCKART GJ (2004). Tacrolimus dosing in adult lung transplant patients is related to cytochrome P4503A5 gene polymorphism. *J Clin Pharmacol*, **44(2)**: 135-140. doi:10.1177/0091270003262108
- ZHOU Y, INGELMAN-SUNDBERG M, LAUSCHKE VM (2017). Worldwide Distribution of Cytochrome P450 Alleles: A Meta-analysis of Population-scale Sequencing Projects. *Clin Pharmacol Ther*, **102(4)**: 688-700. doi:10.1002/cpt.690
- ZYLBER-KATZ E, GRANOT E (2001). Abrupt increase of tacrolimus blood levels during an episode of Shigella infection in a child after liver transplantation. *Ther Drug Monit*, **23(6)**: 647-649.



EKLER

EK1-Etik Kurul Onayı

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Takrolimus kullanan böbrek nakil hastalarında farmakogenetiğin öneminin araştırılması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Morfoloji Binası 06100 Sıhhiye/ANKARA
	TELEFON	0312 595 82 27
	FAKS	0312 310 63 70
	E-POSTA	etik@medicine.ankara.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ

KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof.Dr.Halit Sinan SÜZEN			
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Farmasötik Toksikoloji			
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı			
VARSA İDARI SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
DESTEKLEYİCİ				
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kayıtlardan destek alarak için)				
DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	☐		
	FAZ 2	☐		
	FAZ 3	☐		
	FAZ 4	☐		
	Gözlemsel ilaç çalışması	☐		
	Tıbbi cihaz klinik araştırması	☐		
	In vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları	☐		
	İlaç dışı klinik araştırma	☐		
Diğer ise belirtiniz: Deneyel-Genetik Analiz Çalışması				
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof.Dr.Mehmet MELLİ
İmza:

M. Melli

Ash BOZER ÇİFTÇİ
AÜTF Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
Aşlı Çiftçi

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Takrolimus kullanan böbrek nakil hastalarında farmakogenetiğin incelenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

BİLGİLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarih	Yayınlanma Numarası	Diğer
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Tutku ☐ İyigün ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ ÖZETLİ OLUR FORMU			Tutku ☐ İyigün ☐ Diğer ☐
	CIĞU RAPOR FORMU			Tutku ☐ İyigün ☐ Diğer ☐
BİLGİLENDİRİLEN BİREYLER	Belge Adı			Açıklama
	SİGORTA	☐		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☐		
	REVOLÜK MATEYEL TRANSFER FORMU	☐		
	ILAN	☐		
	WELLS BELİRLİM	☐		
KURUL BAŞKANININ İZİNİ	Belge Adı	Tarih: 05 Eylül 2008		
	Kuruluş No: 14-661-16			
	Yukarıda belirtilen verilerin ışığında aşağıda belirtilen araştırmanın/çalışmanın gerekli, yarar, fayda ve potansiyel risklere ilişkin incelenmiş ve uygun bulunan olup araştırmanın/çalışmanın faydaları açısından bilimsel merkeze gereklilikleri ile etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına ilişkin karar etik kurul üyelerinin salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.			

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ENANİ	İht. ve İyileştir. Üretken Kuv. Ağırlıklıdır. Yönetim, İy. Klinik Uygulamaları Kuruluna
BASKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Mehmet MELLİ

Unvanı/Adı/Soyadı	Ünvanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile İlgili	Karar *	İmza
Prof. Dr. Mehmet MELLİ	Farmakoloji	A.Ö. Tıp Fakültesi	E	☒ K ☐ E ☐ H ☐ E ☐ H ☐		
Prof. Dr. İrfan SOYKAN	Gastroenteroloji	A.Ö. Tıp Fakültesi	E	☒ K ☐ E ☐ H ☐ E ☐ H ☐		
Prof. Dr. Sema ÖZTÜRK	Tıbbi Biyokimya	A.Ö. Tıp Fakültesi	E	☒ K ☐ E ☐ H ☐ E ☐ H ☐		
Prof. Dr. Selim DEMİREZ	Genel Cerrahi	A.Ö. Tıp Fakültesi	E	☒ K ☐ E ☐ H ☐ E ☐ H ☐		
Prof. Dr. Şahin ŞENÇOL	Neuroloji	A.Ö. Tıp Fakültesi	E	☒ K ☐ E ☐ H ☐ E ☐ H ☐		
Prof. Dr. İsmail İLHAN	İç Hastalıkları ve Hastalıkları	A.Ö. Tıp Fakültesi	E	☒ K ☐ E ☐ H ☐ E ☐ H ☐		
Prof. Dr. Sema ŞAHİN	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	H.E. Tıp Fakültesi	E	☒ K ☐ E ☐ H ☐ E ☐ H ☐		
Prof. Dr. Zeynep ŞENOCAK	Halk Sağlığı	A.Ö. Halk Sağlığı Fakültesi	E	☒ K ☐ E ☐ H ☐ E ☐ H ☐		
Prof. Dr. İsmail ÇAKIR	Halk Sağlığı	H.E. Tıp Fakültesi	E	☒ K ☐ E ☐ H ☐ E ☐ H ☐		
Doç. Dr. Sıla YAĞCIOĞLU	Biyofizik	H.E. Tıp Fakültesi	E	☒ K ☐ E ☐ H ☐ E ☐ H ☐		
Doç. Dr. Duygu ÖZTUNA	Biyokimya	A.Ö. Tıp Fakültesi	E	☒ K ☐ E ☐ H ☐ E ☐ H ☐		
Doç. Dr. Sema Kaya TOPRAK	Hemşirelik	A.Ö. Tıp Fakültesi	E	☒ K ☐ E ☐ H ☐ E ☐ H ☐		
Yrd. Doç. Dr. Nihan KUTLAY	Tıbbi Genetik	A.Ö. Tıp Fakültesi	E	☒ K ☐ E ☐ H ☐ E ☐ H ☐		
Uz. Dr. Önder İLGBİLİ	Tıp Tarih ve Etik	A.Ö. Tıp Fakültesi	E	☒ K ☐ E ☐ H ☐ E ☐ H ☐		
Mikabe SUTAY	İşbirliği	-	E	☒ K ☐ E ☐ H ☐ E ☐ H ☐		

* Toplamda Balanço

Etik Kurul Başkanı
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Mehmet MELLİ
İmza:

Aslı BOZER ÇİFTÇİ
A.Ö. Tıp Fakültesi Etik Kurulu
Başlı Giliş

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

EK2-Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu

VAKA NO:

TARİH:

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Sayın katılımcı;

Geçirdiğiniz böbrek nakil operasyonu sonrasında doktorunuz tarafından tedavinizde takrolimus etken maddesi içeren bir ilaç kullanmanız uygun görüldü. Takrolimus kullanan böbrek nakil hastalarında ilaç yanıtında bireyler arasında ciddi farklılıklar görülmekte ve tedavi sırasında bazı problemler ile karşılaşmaktadır. Bu problemlerin önüne geçilmesi ve tedavinin bireyselleştirilmesi adına yürütmeyi planladığımız bu çalışmada, ilacın vücudunuzdan atılımında ve etkisini gösterdiği yerdeki etkileşmelerinde rol oynayan (Sitokrom P450 3A5 (CYP3A5), CYP4A ve sitokrom P450 oksidoredüktaz (POR) genindeki değişiklikler belirlenecektir.

Çalışmaya, 18 yaşından büyük, böbrek nakil operasyonu geçirmiş ve takrolimus kullanan en az iki yüz kişi alınacaktır. Bu çalışma için sizden bir tüp tam örneği alınarak, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Araştırma Laboratuvarında genetik analizler gerçekleştirilecektir.

Çalışmanın size ya da sosyal güvenlik kurumunuza her hangi bir mali yükü bulunmamaktadır.

Bu çalışmaya katılmak tamamen gönüllü olmanızla ilişkilidir. Çalışmaya katılmak istemezseniz, takip ve tedaviniz etkilenmeyecektir.

Örneklerin gelecekteki kullanımı:

() İleride yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum.

() Sadece bahsi geçen çalışmada kullanılmasına izin veriyorum.

() Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum (Bu kutuyu seçmem durumunda, bu çalışmaya katılmayacağımı anlıyorum.).

Tarafınızdan alınan örneğin saklanması ve ileride yapılacak diğer çalışmalarda kullanımı ancak sizin izninize tabidir. Bu örnekler uzun yıllar isminiz (kimlik bilgileriniz) korunmak ya da yok edilmek kaydı ile saklanabilir. Lütfen aşağıdaki seçeneklerden size uygun olan bir tanesini işaretleyiniz.

()Taraşımdan alınmış kodlanmış* örneğin yalnızca önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum; ileride yapılması olası diğer çalışmalar için onay vermiyorum.

()Taraşımdan alınan kodlanmış örneğin yalnızca önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum; ileri çalışmalar için tekrar bilgilendirilmek ve yeni onay vermek istiyorum.

()Taraşımdan alınan kodlanmış örneğin, araştırma konusuyla bağlantılı tüm çalışmalarda kullanımını onaylıyorum, ancak farklı çalışmalar için tekrar bilgilendirilmek ve yeni onay vermek istiyorum.

()Taraşımdan alınan kodlanmış örneğin önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum ve gelecekte de her türlü genetik çalışmada anonim (kimliğim ile bağlantısız) olarak kullanılmasını onaylıyorum.

*Kodlanmış örnek: Sizden alınan örneğe bir kod numarası verilir. Kod numarasını yalnızca araştırıcı bilir ve sizin kimlik bilgilerinize yalnızca araştırıcı ulaşabilir. Böylece kimlik bilgileriniz gizli tutulmuş olur.

Kendi özgür irademle, bu çalışmaya hasta grubu üyesi olarak katılmayı kabul ettiğimi aşağıdaki imzayla beyan ederim.

Hasta

Ad-Soyad:

İmza:

Tarih:

Araştırmacı

Ad-Soyad:

İmza:

ÖZGEÇMİŞ

I. Bireysel Bilgiler

Adı : Merve

Soyadı : DEMİRBÜGEN ÖZ

Doğum yeri ve tarihi : Erzincan, 1989

Uyruğu : T.C.

Medeni durumu : Evli

İletişim adresi : Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik
Toksikoloji AbD Anadolu-ÇANKAYA, Ankara

Telefon (Cep) : 05364481820

II- Eğitimi

Doktora (2014-...) : Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Eczacılık
Meslek Bilimleri Bölümü/Farmasotik Toksikoloji
Anabilim Dalı

Lisans (2007-2013) : Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Yabancı Dil : İngilizce, YÖKDİL (2018); 96,25

III- Ünvanları

Eczacı (2013) : Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

IV- Mesleki Deneyimi

Araştırma Görevlisi (2014-...) : Ankara Üniversitesi / Eczacılık Fakültesi,
Eczacılık Meslek Bilimleri Bölümü/Farmasotik
Toksikoloji Anabilim Dalı

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Türk Toksikoloji Derneği

International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology

VI-Bilimsel İlgi Alanları

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1. ÖZDEMİR Fezile, DEMİRBÜĞEN OZ MERVE, SÜZEN H. Sinan (2019). A Novel PCR-RFLP Method for Detection of *POR*28* Polymorphism and its Genotype/Allele Frequencies in a Turkish Population. CURRENT DRUG METABOLISM, Doi:10.2174/1389200220666190913121052 (Yayın No: 5248942)

2. DEMİRBÜĞEN OZ MERVE, UÇKUN Zuhale, YUCE A. Nazan, BASKAK Bora, ÖZDEMİR Hatice, KIZIL Ö.Tuğba, DEVRİMCİ Ö. Halise, SÜZEN H. Sinan (2018). The relationship between the serotonin 2A receptor gene -1438A/G and 102T/C polymorphisms and citalopram/sertraline-induced nausea in major depressed patients. Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental, 2673, Doi: 10.1002/hup.2673 (Yayın No: 3666931)

3. LINDGREN Hanna, DEMİRBÜĞEN MERVE, BERGQVIST Filip, LANE Emma, DUNNETT Stephen, (2014). The effect of additional noradrenergic and serotonergic depletion on a lateralised choice reaction time task in rats with nigral 6-OHDA lesions. experimental neurology (Yayın No: 3547739)

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında (proceedings) basılan bildiriler

1. DEMİRBÜĞEN ÖZ MERVE, SÜZEN H Sinan (2019). The role of genetic and epigenetic factors in major depressive disorder. 5th International Congress on Epigenetics and Chromatin (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:5195423)

2. DEMİRBÜĞEN ÖZ MERVE, HOŞGÖREN Yasemin, DUMAN Berker, BASKAK Bora, DEVRİMCİ Ö.Halise, SÜZEN H.Sinan (2018). The possible association between brain-

derived neurotrophic factor (BDNF) genetic polymorphism Val66Met and susceptibility to bipolar disorders (BPD). 12th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS-12) (Özet Bildiri/Poster) (Yayın No:4308430)

3. DEMİRBÜĞEN ÖZ MERVE, UÇKUN Zuhale, YÜCE A. Nazan, DEVRİMCİ Ö. Halise, SÜZEN H. Sinan (2018). The 5-HT_{2A} receptor -1438A/G and 102T/C polymorphisms and nausea side effects in citalopram treated major depressive disorder patients. 12th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:4308416)

4. DEMİRBÜĞEN MERVE, SÜZEN H. Sinan (2018). The relationship between different genetic polymorphisms and methylphenidate induced adverse drug reactions in attention deficit hyperactivity disorder patients. 1st International Food and Medicine Congress (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:4283820)

5. DEMİRBÜĞEN MERVE, SÜZEN H. Sinan (2018). Common gene polymorphisms in antioxidant enzyme systems and its relation with nutrition. 1st International Food and Medicine Congress (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:4283829)

6. ORHAN Hilmi, SÜZEN H. Sinan, KOCAGÖZ Rasih, ONAT İlgen, DEMİRBÜĞEN ÖZ Merve, TURNA Burak, ATİLA Koray, YENİAY Levent, SARSIK K.Banu, ZEKİOĞLU Osman, ÖZDEMİR Murat (2018). Kidney, breast and stomach cancers in relation to internal concentrations of persistent organic pollutants, DNA damage markers and related polymorphisms. The 10th Congress of the Toxicology in Developing Countries (CTDC10th),, 4, 18 (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:4355753)

7. DEMİREL Bulut, DEMİRBÜĞEN Merve (2017). Aspirin kullanımı ve kolesterol değerleri arasındaki ilişki. 9th Asian Conference on Emergency Medicine and 13th Turkish Emergency Medicine Congress (Tam Metin Bildiri/Poster)(Yayın No:3737371)

8. DEMİRBÜĞEN MERVE, UÇKUN Zuhale, SÜZEN H.Sinan (2017). The Serotonin 2A Receptor Gene -1438A/G Polymorphism and Sertraline Induced Nausea in Major Depressed Turkish Patients. 2nd International Gazi Pharma Symposium Series(GPSS-2017) (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:3667851)

9. DEMİRBÜĞEN MERVE, SÜZEN H.Sinan (2016). Antipsychotic Drugs and the risk of sudden cardiac death. 2nd International Congress of Forensic Toxicology, (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3547798)

10. DEMİRBÜĞEN MERVE, UÇKUN Zuhale, YUCE Nazan Nihal, BASKAK Bora, SÜZEN H. Sinan (2015). 5-HT_{2A} receptor 102T/C polymorphism and incidence of nausea induced by sertraline treatment. The 9th Congress of the Turkish Society of Toxicology with the participation of The Hellenic Society of Toxicology (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3547796)

11. DEMİRBÜĞEN MERVE, BASKAK Bora, DEVRİMCİ Ö. Halise, Kızıll Ö. Tuğba, SÜZEN H. Sinan (2015). The association of serotonin-2A receptor and nausea in citalopram treated patients. 11th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3547793)

12. YILMAZ SARIALTIN Sezen, DEMİRBÜĞEN Merve, YALÇIN C. Özgür (2014). Toxicology, Pharmacology, Detection and Legal Status of Synthetic Cannabinoids. 1st International Congress and workshop of Forensic Toxicology (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3547783)

13. DEMİRBÜĞEN MERVE, LINDGREN Hanna, LANE Emma (2014). The effect of additional noradrenergic and serotonergic depletion on lateralised choice reaction time task in rats with nigral 6-OHDA lesions. 50th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX) (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3547752)

Yazılan ulusal/uluslararası kitaplar veya kitaplardaki bölümler

Casarett and Doull's Toksikolojinin Temelleri, Bölüm adı:(Radyasyon ve radyoaktif materyallerin toksik etkileri) (2017)., DEMİRBÜĞEN MERVE, ÜSTÜNDAĞ Aylın, ÜLKER Özge, UÇKUN Zuhul, YILMAZ SARIALTIN Sezen, Nobel Tıp Kitabevi, Editör:Sinan Süzen, Ahmet Oğuz Ada, Bulut Demirel, Onur Erdem, Gonca Çakmak Demircigil, Pınar Erkekoğlu, Basım sayısı:1, Türkçe(Kitap Tercümesi), (Yayın No: 3691043)

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

1. HOŞGÖREN Yasemin, DEVRİMCİ Ö. Halise, BASKAK Bora, DEMİRBÜĞEN ÖZ MERVE, SÜZEN H. Sinan, DUMAN Berker (2018). The Role of Comt Polymorphisms in Modulation of Prefrontal Activity During Verbal Fluency in Bipolar Disorder. Bipolar Bozukluklar Derneği Bipolar Bozukluk Araştırmacı Klinisyen Eğitim Toplantısı (BAKET) (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:4351983)

2. DEMİRBÜĞEN MERVE, SÜZEN H. Sinan (2017). Sitalopram kullanan major depresyon hastalarında bulantı/kusma advers etkisinin serotonin-2A reseptör geni -1438A/G polimorfizmi ile ilişkisinin incelenmesi. 1. Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Sempozyumu (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:3547801)

3. DEMİRBÜĞEN MERVE, LINDGREN Hanna, LANE Emma (2014). 6-OHDA ile unilateral lezyon oluşturulan sıçanlarda serotonin, noradrenalin ve dopaminin motor öğrenme kabiliyeti üzerine etkisi. III. Türk Toksikoloji Derneği Sempozyumu (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3547788)

VII-Bilimsel Etkinlikler

Burslar

2013-...Tübitak 2211-A Yurtiçi Genel Doktora Burs Programı

Ödüller

Poster birinciliği, Bipolar Bozukluklar Derneği, 2018

VIII-Diğer Bilgiler

Eğitim seminerleri ve kurslar

1-Ankara Üniversitesinde Çevre Yönetimi ve Sıfır Atık Uygulamaları Eğitim Programı, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Sertifika, 08.11.2018 -08.11.2018 (Ulusal)

2-Araştırma Görevlileri için Araştırma Yöntemleri Eğitim Programı, Ankara Üniversitesi Rektörlük Binası, Sertifika, 09.04.2018-27.04.2018 (Ulusal)

3-Mobbing ve Cinsel Taciz Eğitim Programı, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Sertifika, 16.03.2018 -16.03.2018 (Ulusal)

4-Araştırma görevlileri için eğiticilerin eğitimi sertifika programı, Ankara Üniversitesi, Sertifika, 24.11.2014 -25.12.2014 (Ulusal)

5-Ulusal ve Uluslararası Proje hazırlama Eğitim Programı, Ankara Üniversitesi Rektörlük Binası, 100.yıl salonu, Kurs, 28.05.2018 -28.05.2018 (Ulusal)

6- Nicel ve Nitel Analiz Yöntemleri Eğitim Programı, Ankara Üniversitesi, Kurs, 06.02.2017 -10.02.2017 (Ulusal)

7-İş Sağlığı ve İş Güvenliği Eğitim Programı, İş Sağlığı ve İş Güvenliği Eğitimi, Ankara Üniversitesi, Kurs,22.06.2015 -22.06.2015 (Ulusal)

8-Kimyasalların Neden Olduğu Hastalıkların Gelişimi ve Tedavisinde Genetik Farklılıkların Önemi ve Analizi,, Türk Toksikoloji Derneği tarafından düzenlenen, Kimyasalların Neden Olduğu Hastalıkların Gelişimi ve Tedavisinde Genetik Farklılıkların Önemi ve Analizi eğitim programını tamalmıştır., Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Kurs, 12.06.2014 -12.06.2014 (Ulusal)

9- Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası Eğitim Programı, Ankara Üniversitesi
Sürekli Eğitim Merkezi, Kurs, 06.06.2013 -16.06.2013 (Ulusal)

Organizasyonuna katkıda bulunduğu bilimsel toplantılar

12th International Symposium on Pharmaceutical Sciences,2018, Sosyal Komite üyesi

