



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BÖBREK TRANSPLANTASYONUNDA Fc- γ VE TOLL
BENZERİ RESEPTÖR EKSPRESYONLARININ İMMÜN
YANITTA ROLÜ**

RAYFE PEHLİVAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
İMMÜNOLOJİ BİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Emel EKŞİOĞLU-DEMİRALP

İSTANBUL - 2009



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BÖBREK TRANSPLANTASYONUNDA Fc- γ VE TOLL
BENZERİ RESEPTÖR EKSPRESYONLARININ İMMÜN
YANITTA ROLÜ**

RAYFE PEHLİVAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
İMMÜNOLOJİ BİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Emel EKŞİOĞLU-DEMİRALP

İSTANBUL - 2009

BEYAN

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

RAYFE PEHLİVAN

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince sabır ve hoşgörülerini ile bana destek veren aileme,

Tez çalışmamda emeği geçen Biyolog Kaya Molo'ya, Biyolog Damla Kılıç'a, Biyolog Berna Mehtap Demirel'e ve Biyolog Mümin Uzunalan'a çok teşekkür ederim.

Tez aşamasında ve immünoloji eğitimim boyunca bana yardımcı olan Araştırma Görevlisi Aysın Tulunay'a çok teşekkür ederim. İmmünoloji eğitimim boyunca ilgi ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen Biyolog Onur Elbaşı ve Biyolog Filiz Türe'ye çok teşekkür ederim.

Tez çalışmamda büyük katkıları bulunan Sayın Prof.Dr. Aydın Türkmen ve Sayın Uzm. Dr. Burak Koçak'a ilgileri için teşekkür ederim.

Beni immünoloji ile tanıştıran, tezimin planlanma, yürütülme ve yazım aşamalarında benden desteğini esirgemeyen; bilimsel ve sosyal alanda bana yol gösteren; bilgisi, deneyimleri ve kişiliği ile her zaman örnek aldığım danışmanım Sayın Prof.Dr. Emel Ekşioğlu-Demiralp'e sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez, Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından SAG-C-YLP-110908-0221 numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Teşekkür.....	i
İçindekiler	ii
Kısaltmalar	iii
Tablolar Listesi.....	iv
Şekiller Listesi.....	v
1. ÖZET	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	5
4.1. Transplantasyonun Kısa Tarihçesi.....	5
4.2. Transplantasyon ve İmmünolojik Red.....	5
4.3. Doğal İmmün Sistem ve Patern Tanıma	7
4.3.1. Toll Benzeri Reseptörler (TLR).....	7
4.3.2. TLR'ler ve Hücrel Ekspresyonları.....	10
4.3.4. TLR ve İmmünolojik Reddeki Roller.....	12
4.4. İmmünglobulin Reseptörleri: Fc Reseptörler	13
4.4.1. İmmünglobulin Reseptörlerinin İmmün Yanıtta Rolü.....	15
5. Gereç ve Yöntem.....	18
5.1. Hasta Seçimi.....	18
5.2. Lizat İle Periferik Kan Mononükleer Hücre ve Polimorfo Nükleer Lökosit İzolasyonu.....	18
5.3. TLR ve Fc Reseptör Ekspresyonu Tayini.....	18
5.4. Sonuçların Değerlendirilmesinde Kullanılan İstatistiksel Yöntemler	19
6. BULGULAR.....	21
6.1. Transplant Öncesi ve Sonrası Hastalarda Monosit Populasyonunda FcγR'ler ve TLR'lerin Hücre Yüzey Molekül Ekspresyonları.....	21
6.1.2. Monositlerde Kostimülatör Moleküllerin Tayini	22
6.1.3. Transplant Öncesi ve Sonrası Hastalarda Monosit Çerçevesindeki Dendritik Hücre Populasyonlarının İncelenmesi	24
6.3. Transplant Öncesi ve Sonrası Hastalarda Granülosit Populasyonunda FcγR'ler ve TLR'lerin Hücre Yüzey Molekül Ekspresyonları	25
6.3. Transplant Öncesi ve Sonrası Hastalarda Lenfosit Populasyonund Hücre Yüzey Molekül Ekspresyonları	27
7. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	29
8. KAYNAKLAR.....	32
9. ÖZGEÇMİŞ.....	36
10. ETİK KURUL ONAYI.....	

KISALTMALAR

Ab : Antibody (Antikor)

APC : Antigen Presenting Cell(Antijen sunucu hücre)

AP-1 :Aktivator Protein 1

CD : Cluster of Differentiation

DH : Dendritik Hücre

FcR :Fc Reseptor

FcγR :Fc Gamma Reseptör

FcεR : Fc Epsilon Reseptör

FcδR :Fc Delta Reseptör

FDH : Foliküler Dendritik Hücre

GPI : Glikozil Fozfotidil İnozitol

HLA : Human Leucocyte Antigen-(İnsan Lökosit Antijenleri)

IFN-γ : Interferon Gamma

Ig : Immunglobülin

IRF3 : İnterferon Düzenleyici Faktor 3

ITAM: Immunoreceptor Tyrosine–based Activation Motif (İmmün Reseptör Tirozin Bazlı Aktivasyon Motifi)

ITIM : Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibition Motif (immün reseptör tirozin bazlı inhibisyon motifi)

LH : Langerhans Hücreleri

MHK : Majör Histocompatibility Complex-(Majör Doku Uyum Kompleksi)

NF-κB : Nükleer Faktör Kappa B

OFY : Ortalama Florasan Yoğunluğu

PAMP : Patogen Associated Molecular Patern (Patojenle ilgili moleküler Patern)

TLRs : Toll Like Receptors (Toll Benzeri Reseptorler)

THR : T Hücre Reseptörü

TABLÖLAR LİSTESİ

SAYFA NO

TabloI.	TLR’ler ve tanıdıkları patojenik yapılar.....	9
TabloII.	FcR’leri ve hücrel ekspresyonları.....	15
TabloIII.	Kullanılan mAb Kombinasyonları.....	19
TabloIV.	Transplant öncesi ve sonrası hasta monositlerindeki CD282 ve CD284 ekspresyonu.....	22
TabloV.	Transplant öncesi ve sonrası hasta monositlerindeki CD86 ekspresyonu ortalamaları.....	23
TabloVI.	Transplant öncesi ve sonrası hasta CD209+ hücrelerin ortalamaları.....	24
TabloVII.	Transplant öncesi ve sonrası hasta CD209+ hücrelerde FcγR ve TLR yüzey ekspresyonlarının ortalamaları.....	25
Tablo VIII	Transplant öncesi ve sonrası granülosit çerçevesindeki FcγR ve TLR yüzey ekspresyonlarının ortalamaları.....	26

ŞEKİLLER LİSTESİ

SAYFA NO

Şekil 1. TLR yapısal özellikleri.....	8
Şekil 2. Aktivator ve Inhibitor FcγR Yapıları.....	14
Şekil 3. Transplant öncesi ve sonrası monosit popülasyonunda FcγRIII ve FcγRI ekspresyonları.....	21
Şekil 4. Transplant öncesi ve sonrası hasta monositlerindeki CD16 OFY ortalama değerleri.....	22
Şekil 5. Transplant öncesi ve sonrası hasta monositlerindeki CD80 ekspresyonu ortalama değerleri.....	23
Şekil 6. Transplant öncesi ve sonrası hasta monositlerindeki CD86 OFY ekspresyonu ortalama değerleri.....	24
Şekil 7. Transplant öncesi ve sonrası granülosit çerçevesindeki FcγR ve TLR yüzey ekspresyonlarının OFY ortalama değerleri.....	26
Şekil 8. Transplant öncesi ve sonrası lenfosit çerçevesindeki CD8+CD28- hücre ortalama değerleri.....	27
Şekil 9. Transplant öncesi ve sonrası lenfosit çerçevesindeki HLA-DR ekspresyonu ortalama değerleri.....	28
Şekil 10. Transplant öncesi ve sonrası lenfosit çerçevesindeki NK hücre popülasyonunun ortalama değerleri.....	28

1.ÖZET

Bu çalışmada Kronik Böbrek yetmezliği (KBY) olan hastalarda böbrek transplantasyonu öncesi ve sonrası Toll-benzeri reseptörlerin ve Fc- γ reseptörlerinin transplantasyon öncesi sonrası immün hücrelerde yüzey ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi ve bu yüzey belirteçlerinin, immünolojik reddin hücresel düzeyde erken saptanabilmesinde kullanılıp kullanılamayacağını incelemek amaçlanmıştır.

Kırkbir KBY hastasının nakil öncesi ve nakil sonrası monosit(CD14⁺), dendritik hücre (CD209⁺), lenfosit(CD45⁺CD14⁻) ve granülositlerinde, Fc- γ RI, RIIa ve b;RIII ve Toll benzeri reseptörlerden TLR2 ve TLR4 ekspresyonları incelendi. Ek olarak aktivasyon belirteçlerinden, CD80, CD86 ve HLA-DR de adı geçen hücre populasyonlarında değerlendirildi.

Monosit ve granülosit populasyonlarında, nakil sonrasında Fc γ RIII ekspresyonlarının anlamlı düzeyde azaldığı, monosit populasyonunda ise Fc γ RI ekspresyonunda anlamlı bir artış olduğu belirlenmiştir. Tüm diğer Fc reseptörlerde, TLR'lerde de oran ve ortalama floresan yoğunluğu (MFI) olarak azalma olmasına rağmen bu fark anlamlılık seviyesine ulaşmamıştır. Kostimülatör moleküllerin ekspresyonları karşılaştırıldığında CD86 ekspresyonunda bir değişim saptanmazken, CD80 ekspresyonunun nakil sonrası anlamlı düzeyde azaldığı belirlenmiştir. (p<0.05). HLA-DR ekspresyonunun incelemesinde, lenfosit populasyonu üzerinde nakil sonrasında iki katına yakın bir artış saptanmıştır.

Bu çalışmada tüm hücre gruplarında azalma gösteren Fc γ R III ve lenfosit populasyonunda artan HLA-DR red takibi konusunda umut verici göstergeler olabilir.

Anahtar Kelimeler: Fc- γ Reseptörler, allograft reddi, TLR, HLA-DR

2. SUMMARY

The Role of FcγRs, TLR2 and TLR4 Associated Immune Response in Chronic Renal Failure

The most effective treatment of patients with Chronic renal failure (CRF) is organ transplantation. Success of organ transplantation depends on the immunological compatibility between donor and host. However, limited number of pre-transplantation tests are obviously not enough for the prediction of uncoming rejection reactions. In this study, we assessed molecular expression features of all white blood cells by using a broad panel including Fc receptors and Toll Like Receptors in patients with CRF at pre and post transplantation states.

When we compared FcγRIII and TLRs expressions on monocytes, we determined that after transplantation FcγRIII (CD16) expression was significantly decreased ($p<0,01$). When we assessed the mean fluorescence intensity of molecules on cell membranes of monocytes, the mean fluorescence intensity of FcRIII (CD16) had a significant decrease in all patients after transplantation ($p<0,05$). In comparison of costimulator molecules, a decreased expression for CD80 has been found after transplantation ($p<0,01$). Although no percentage change has been found of CD86, a decreased in the mean fluorescence intensity of CD86 has been shown in post transplant patients ($p<0,05$).

When we assessed FcγRs, TLR2 and TLR4 expressions on granulocytes, no significant changes have been found. Tendency of decreasing of mean fluorescence intensity of CD16 has also been found on granulocytes ($p<0,05$). We also detected that CD64 and TLR4 has decreased after transplantation ($p<0,05$).

Analysis of lymphocyte showed that a significant decrease in CD8+CD28- cell populations after transplantation ($11,3\%\pm 6,8$, $7,2\%\pm 6,4$; $p<0,01$). Additionally, that HLA-DR expression on B cells was increased has been found.

We conclude that decrease expression of CD16 on all white blood cells and increased expression of HLA-DR might use in transplantation monitoring. However, longitudinal studies including clinical data from patients under long term follow-ups are needed.

Key Words: Fc-γ receptors, allograft rejection, TLRs, HLA-DR

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Organ yetmezliği olan hastalarda en etkili tedavi yöntemi organ naklidir. Organ Transplantasyonlarında karşılaşılan en büyük problem organ reddidir. (2,27, 21)

İmmün sistemin hümmoral ve hüccresel kolları organ reddinden sorumludur. Organ reddinden sorumlu temel molekül alıcı ve vericinin immün ve immün olmayan hüccrelerinde taşınan Majör Histokompatibilite Kompleksi (MHK) dir.MHK'in tam uyumlu olduğu nakillerde bile organ reddi olması, hüccresel mekanizmaların ve önceden varolan anti-MHK antikorlarının dışında da farklı mekanizmaların organ reddinde rolleri oynayabileceğini düşündürmektedir.(2)

Tanıma ve toleransta adaptif immün sistemin rolü olduğu kadar doğal immün sistemin de rolü olduğu doğal immün sistem reseptörlerinden olan Toll-Benzeri Reseptörlerin keşfi ile düşünölmeye başlanmıştır.(27) TLR'lerin ilk zamanlarda immün sistemin doğal immün yanıtında rolleri olduğu düşünölmüştür fakat yapılan çalışmalarla doğal immün yanıtındaki rollerinin adaptif immün yanıtı da etkiledi görölmüş ve bu da TLR'lerin transplatada çalışılması için ilginç kılan bir yaklaşım olmuştur. Daha sonraları PAMP'ların(Patojenle ilişkili moleküler Patern) yanı sıra memeli endojen ligandları ile de TLR aktivasyonu olduğu gözlenmiş ve böylece iskemi reperfüzyon kaynaklı organ hasarında veya sonradan ortaya çıkabilen yama reddinde rol alabilecekleri düşünölmüştür. (2, 27, 28)

FcγR'leri hematopoietik sistem hüccrelerince yaygın olarak eksprese edilen IgG'ler için hüccresel reseptörlerdir. Doğal immün sistemin birçok efektör hüccresince eksprese edildiği saptanmıştır. FcR'ler B hücre cevabı ve hümmoral yanıt için kontrol noktası olma, adaptif immün sistemi düzenlenmesi, antikorla kaplı mikroorganizmaların ve soluble proteinlerin endositoz ve fagositozu, ADCC'deki (Antikor bağımlı hüccresel sitotoksite) rolü gibi birçok immünolojik süreçte görev yapar.(13, 14, 15) FcR'lerin otoimmünite, tolerans ve kısmen tümör ile ilişkisini araştıran birçok çalışma mevcuttur. (14,15) Fakat organ transplantasyonu ile ilgili çalışmalar mevcut değildir, FcR'ler de tıpkı TLR'ler gibi doğal ve adaptif immün sistemin çapraz konuşmasını sağlayan moleküllerdendir. Bu bağlamda FcR'lerin doku reddinde ya da kabölundeki durumları araştırmaya değer bir konu olarak

gözükmektedir.

Bu çalışmada Kronik Böbrek yetmezliği olan hastalarda böbrek transplantasyonu öncesi ve sonrası Toll-benzeri reseptörlerin ve Fc- γ reseptörlerinin transplantasyon öncesi sonrası immün hücrelerde yüzey ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi ve bu yüzey belirteçlerinin, immünolojik reddin hücresel düzeyde erken saptanabilmesinde kullanılıp kullanılamayacağını incelemek amaç edinilmiştir. Bu amaçla; Kronik böbrek yetmezliği olan hastaların lenfosit, monosit ve granülositlerinin hücre yüzey moleküllerinin ekspresyon özellikleri, Fc reseptörler ve Toll benzeri reseptörleri de içeren geniş bir panel ile nakil öncesi ve sonrası karşılaştırmalı olarak incelenmiştir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Transplantasyonun Kısa Tarihçesi

İlk deri transplantasyon denemelerinin M.Ö 700’de Hindistanda ve M.S. 1400’lerde İtalya’da allojeneik deri transplantasyonları yapıldığına dair yazılı bilgiler bulunmaktadır. 1800’lerde Avrupa’da yaygın deri transplatasyonu denemeleri olduğu yazılı belgelere dayanılarak bilinmektedir. İngiltere’de John Hunter adlı bir diş hekimi diş transplantasyonu gerçekleştirmiş, fakat bu girişim sonucunda dişeti hastalılarının aktarılabilceğinin gösterilmesinin ötesinde bir fayda sağlamamıştır.(41)

Transplantasyon konusunda deneyimin artması 1900’lerde Karl Landsteiner’in kan gurubu antijenleri ve antikorlarını tanımlaması (Nobel Odülü, 1930) ile mümkün olmuştur. Ancak asıl gelişme 2. dünya savaşının sonlarına rastlamaktadır. Allo ya da oto kavramlarının oluşturulmadığı o dönemde yapılan allojeneik deri transplantları tamamen başarısızlıkla sonuçlanmıştır. Bu denemelerin en büyük faydası ise neden farklı bireyler arasında deri ya da organ değişimi yapıldığında vücut ölümcül reaksiyonlar oluşturuyor sorusunu ciddiyle ortaya getirmiş olması ve bu yönde araştırmaları başlatması olmuştur. Fare çalışmaları sonucunda ‘red’ olayında belli bir genetik bölgenin özellikle sorumlu olduğu bilgisine ulaşılmıştır.(41) İdentik ikizlerde ilk başarılı böbrek transplantasyonu ise 1954 yılında Joseph Murray (Boston) tarafında gerçekleştirilmiştir (Nobel Odülü, 1990,(41).

İlk başarılı böbrek transplantasyonunun ardından diğer solid organ transplantları da hızla birbirini takip etmiş ve immün yanıtı baskılayan ilaçların keşfi transplantasyon ile tedavinin hızla ve başarı ile ilerlemesine yol açmıştır.(41)

4.2. Transplantasyon ve İmmünolojik Red

Doku transplantının gelişmesiyle birlikte, genetik olarak farklı bireylerden oluşan bir toplumda bireylerin diğer bireylerden nakledilen dokuları reddettiği ortaya çıkmıştır. Yapılan çalışmalar, özgüllük ve bellek özelliği gösterdiği ve lenfositler aracılık ettiği için, doku reddinin immünolojik bir olay olduğunu ortaya koymuştur. (2,21)

Transplantasyon immünolojisi hakkında bilgilerin çoğu fare gibi hayvan çalışmalarından elde edilir. Aynı ve farklı eş soylar arasında yapılan transplantlarda, eş soy üyeleri arasında aktarılan doku yamalarının kabul edildiği, farklı soylardan aktarılan yamaların ise reddedildiği gösterilmiştir(2,21). Daha sonraları doku reddinin, ürünleri tüm dokularda eksprese olan eş baskın genler tarafından belirlendiği bulunmuştur (2,21).

Birbiri ile özdeş (identik) olan bireyler ve bunlar arasında değiştirilen doku yamaları sinjeneik; aynı türden olup bu türdeki diğer bireylere aktarılan doku yamaları allojenik ve farklı türden bireyler arası nakledilen yamalar ise zenojenik olarak adlandırılır.(2)

Doku reddinde hedef olan antijenler de benzer şekilde aynı tür, farklı bireyden kaynaklanıyorsa alloantijen, farklı türler arası nakledilen yamalardan kaynaklanıyorsa zenoantijen olarak adlandırılır. (2)

Organ nakillerinin en büyük problemi olan red, immün sistem tarafından gerçekleştirilir ve reddin ana belirleyicileri Major Histokompatibilite Kompleks (MHK) molekülleridir. MHK proteinleri yama reddinde temel antijenler olmalarına rağmen, diğer polimorfik proteinler de yama reddinde rol oynuyor olabilir.

T hücreleri tarafından tanınan allograftların antijenleri, T hücrelerinin tanımak üzere seçildiği, peptidle yüklü öz MHK moleküllerine benzer allojenik MHK molekülleridir. Doku antijenleri ya alıcı T hücrelerine doğrudan sunulur ya da konağın ASH tarafından alınarak sunulur.(2)

Dokular pek çok farklı mekanizma ile reddedilebilir.(2)

1- Hiperakut Red (Antikorlar ile tanıma)

Hiperakut Red; Nakilden sonra dakikalar içerisinde oluşur. Önceden oluşmuş antikorlar, endotel hasarına ve yamadaki kan damarlarında tromboza neden olur. ABO uyumsuzluğu veya anti-HLA antikor varlığında gözlenir. (2)

2- Hızlandırılmış Red: Duyarlılaştırılmış T hücreleri ile tanıma. Aynı vericiden 2.transplant sonrasında görülebilir.

3- Akut Red : Transplantasyondan sonra günler veya haftalar içerisinde oluşur ve erken yama başarısızlığının başlıca nedenidir. Yama endotel hücreler ve parankimal

hücrelere üzerindeki alloantijenlerine reaktif T hücreleri bu hücre tiplerinde hasara yol açar. Endotel enflamasyonu ‘‘endotelit’’ gelişir.(2,21)

4- Kronik Red: Aylar veya yıllar içersinde oluşan ve nakledilen dokunun ilerleyici işlev bozukluğuna neden olan, yama hasarının sessiz bir şeklidir. Vasküler endotel ve düz kas hücrelerinin ve doku fibroblastlarının gelişimini uyaran sitokinleri üreten T hücreleri tarafından gerçekleştirilir ve sitokinler lümende tıkanmaya sebep olur.(2).

4.3 Doğal İmmün Sistem ve Patern Tanıma

Doğal immünite terimi, immünitenin özgül olmayan savunma sistemlerini kapsayan bir terim olarak kullanılır. Doğal bağışıklık sadece erken savunma sistemi özelliğine sahip olmayıp, ayrıca edinsel bağışıklık devreye girmeden önce birçok enfeksiyonu kontrol altına alarak yok edebildiği anlaşılmıştır(2). Doğal İmmünitenin mikropların girmesini engelleyen ilk savunma hattını, epitelyum, epitelde bulunan özelleşmiş hücreler ile doğal antibiyotikler oluşturur(2). Mikroplar epiteli deler ve dolaşıma ya da dokulara girerlerse fagositler, doğal öldürücü hücreler denen özelleşmiş lenfositler ve kompleman sisteminin proteinlerini de içeren bazı plazma proteinleri tarafından saldırıya uğrar(2). Doğal Bağışıklığın tüm yapı taşları çok çeşitli bakteri, virüs ve mantarları tanıma özelliğine sahiptir (2,5).

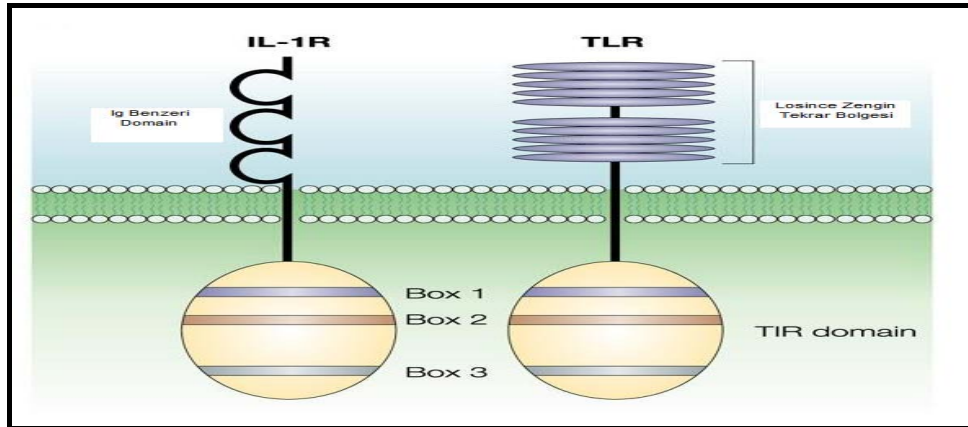
Doğal immün sistem patojenlerde ortak olan bir dizi moleküler yapıyı tanıyabilmekte ve savunmayı başlatabilmektedir. Patojenler üzerinde bu evrimsel olarak korunmuş moleküler yapılar ‘Patojenle ilişkili moleküler patern’ (PAMP) olarak adlandırılır. Doğal immün sistem hücreleri üzerinde bunları tanıyan reseptörlere de ‘‘Patojen Tanıma Reseptörleri (PRR)’’ adı verilmektedir. Birçok PRR vardır en iyi karakterize edilen grubu TLR (Toll-benzeri reseptörler)’ dir (2,4,5).

4.3.1 Toll Benzeri Reseptörler

TLR İlk kez Drosophila türünde, embriyonal gelişim basamaklarında rol aldığı bilinen bir reseptör olarak tanımlanan ve daha sonra mutant olan sineklerde fungal enfeksiyonlara yatkınlık olduğu fark edilerek, immün sistem cevabında önemli fonksiyonu olduğu düşünülen bu reseptöre almanca ‘‘müthiş, harika’’ anlamına gelen ‘‘Toll Reseptörleri’’ adı verilmiştir. 1997 yılında insan homoloğu

tariflenmiştir(4,5,6). TLR, karakteristik olarak ekstraselüler lösinden zengin tekrar bölgeleri (LRR) ve intraselüler toll/interlökin (IL)-1 reseptör (TIR) domainlerinden oluşur. ( ekil 1) (4). TLR, mikrobial ligandları ile etkileşimi sonucu bir dizi sinyal yolağı aktiflenir. TLR'lerin aktivasyonu sonucu ortaya çıkan bu hücre içi sinyaller, NF- B (Nukleer faktör  B) ve AP-1, IRF3 gibi nükleer transkripsiyon faktörlerini aktive eder ve böylece pro-inflamatuar sitokin genleri ve tip I IFN genlerinin ekspresyonu uyarılır (5). Uyarılan Doğal immün sistem hücrelerinin salgıladığı sitokinler adaptif immün sistem hücrelerini uyararak dolaylı olarak immün yanıtı adaptif immün sisteme taşır(5). Bunun sonucu inflamatuvar ve antimikrobial cevap oluşur(5).

TLR'lerin 11  yesi vardır; Bunların arasında en çok  alı ılanı; **TLR4**; CD14 ve MD2 ile reseptör kompleksi oluşturur ve gram negatif bakterilerdeki LPS yapısını tanır. **TLR1, TLR2 ve TLR6**; bakteriyel peptidoglikan, lipoprotein ve lipid yapısını tanır. **TLR5**; flagellin yapısını tanır. **TLR3**; ds-RNA ve **TLR9** metillenmemi  CpG motifini, **TLR7** ise ssRNA'yı tanır. (Tablo I) Mikrobial kaynaklı ligandların yanısıra TLR'ler HSP, sürfaktan protein A, hyaluronan, HMGB1 (high mobility group 1 protein), kromatin- IgG kompleks, fibrinojen, heparan gibi endojen ligandları da tanır.(1)



Şekil 1. TLR'lerin yapısal  zellikler. Ekstrasellüler lösinden zengin tekrar bölgeleri (LRR) ve intrasel lar sinyal ileten TIR domaininden oluşur. *Nat. Rew. Immunol. 2004 yazıdan adapte edilmiştir.*

Tablo I. TLR'ler ve Tanıdıkları Patojenik Yapılar. *Nat. Rev. Immunol. 2004 yazıdan adapte edilmiştir.* (N.D : Tanımlanamadı.)

Reseptör	Ligand	Liganda Sahip Patojen
TLR1	Lipopeptidler Çözünebilir Faktorler	Bakteriler Neisseria Menengitis
TLR2	Lipoprotein/Lipopeptid Peptidoglikan Lipoteikoik Asid Lipoarabinomannan Fenol-Soluble Modulin Glikolipid Porinler Zymozan Isı Şoku Proteini 70	Birçok Patojenler Gram(+)Bakteriler Gram(+)Bakteriler Mikobakteriler Stafilokokkus Epidermitis Treponema Maltofilum Neisseria Fungi Konak
TLR3	Çift-Sarmal RNA	Virüsler
TLR4	Lipopolisakkarid Taxol Fusiyon Proteini Isı Şoku Proteini 60 Isı Şoku Proteini 70 Hyalunorik asid oligosakkaritleri Heparin Sulfat Polisakkarit fragmentleri Fibrinojen	Gram-Negatif Bakteriler Bitkiler Respiratory Syntyal Virus Chlamidia Pneumoniae Konak Konak Konak Konak
TLR5	Flagellin	Bakteriler
TLR6	Diasillipopeptid Lipoteikoik-asid Zymosan	Mikoplazma Gram(+)Bakteriler Fungi
TLR7	İminodozokuolin Laxoribin Broprimin Tek Sarmal RNA	Sentetik Komponentler Sentetik Komponentler Sentetik Komponentler Virüsler
TLR8	İmidazoquinolin Tek-Sarmal RNA	Sentetik Komponentler Virüsler
TLR9	Cp-G DNA	Bakteri ve Virüsler
TLR10	N.D	N.D
TLR11	N.D Profilin-benzeri molekül	Uropatojenik Bakteriler Toxoplazma Gondii

4.3.2 TLR'ler ve Hücresel Ekspresyonları

TLR'ler çeşitli immün hücreler ve non-immün hücrelerde; Monosit, Makrofaj, Dendritik hücre (DH), B hücreleri, spesifik tip T hücreleri(NK h.), Fibroblast, Epitelial hücreler gibi birçok hücrede eksprese edilirler (23). TLR ekspresyonu statik değildir. Patojen cevabına karşı birçok sitokin ve çevresel etmenler ile birlikte modüle edilir. Ekstrasellular veya intrasellular olarak olarak eksprese edilirler (20).

TLR 1, 2, 4, 5 ve 6 yalnız hücre yüzeyinde eksprese edilirken, TLR 3, 7, 8 ve 9 intasellular kompartımanlar; endozom / lizozom membranında eksprese edilir(20).

Adaptif immün sistem hücrelerinden T hücrelerinde TLR ekspresyonları incelendiğinde, qPCR ile TLR1–10 mRNA ekspresyonunun düşük olduğu saptanmış, akım sitometri ile yapılan çalışmalarda ise TLR 2, 3, 4, 5 ve 9'un T hücrelerinde intrasellular olarak eksprese edildiği, TLR5'in ise hücre yüzeyinde eksprese edildiği saptanmıştır(19).

Birçok çalışmada T hücre alt gruplarının TLR'leri farklı olarak eksprese ettiği gözlenmiştir(19). CD25 yüksek CD4+ insan regülator T hücrelerinde TLR8 ekspresyonu gözlenmesine karşın, CD4+CD25- naive Treg'lerde ve CD4+CD25+ Treg'lerde TLR5 yüzey ekspresyonu ve intrasellular TLR5 protein ekspresyonu gözlenmiştir(30, 31). $\gamma\delta$ T hücre grubunda da yüksek düzeyde TLR3m RNA ekspresyonu saptanmıştır(32).

Farklı bir çalışma grubu da CD45RO+ hafıza T hücrelerinde TLR2 ekspresyonun ve CD28-CD4+T hücrelerinde ise TLR4 ekspresyonunun anlamlı derecede olduğunu saptamış(33, 34). Çalışmalarda THR uyarımı ile farklı T hücrelerinde farklı TLR'lerin ekprese olduğu fakat moleküler mekanizmalarının tam olarak bilinmediği halen araştırma konusu olduğu bildirilmektedir(19). THR ilintili TLR ekspresyonunun intrasellular TLR'lerin yüzeye çıkmasını sağlayan translokasyonu mu uyardığı yoksa membran TLR'lerin de-novo sentezini mi uyardığı tam olarak bilinmemektedir (19, 32, 35).

B hücreleri için ise antijen ve PAMP arasındaki ilişki direkt olarak kurulur; B hücre reseptörü antijeni tek başına tanır veya TLR ve B hücre reseptörü birlikte etkileşime girerek antijeni tanır (5). B hücrelerinin antijeni tanınması THR ve CD3

kompleman reseptörleri eşliğinde gerçekleşir. Böylece etkin ASH lere dönüşmüş olurlar, aktive B lenfositler hücre döngüsüne (mitoz) girer ve antijene özgül klonların artışı ile sonuçlanan B lenfosit çoğalması gerçekleşir. Hücreler daha fazla IgM sentezlemeye ve bu IgM'in bir kısmını salgılamaya başlar(2, 36). Antijenin uyardığı B lenfositleri IgM antikoru salgılayan hücrelere veya CD40L ve IFN γ veya IL-4 gibi çeşitli sitokinlerin etkisi ile değişik Ig ağır zincir izotipleri üreten hücrelere farklılaşır. Çalışmalarda naif B hücrelerinde TLR ekspresyonu saptanmamıştır, fakat BHR uyarımı sonrasında TLR ekspresyonu olduğu gözlenmiştir (36, 37). Farklı bir çalışma gurubu da farklı B hücre altgrupları arasında farklı TLR ekspresyonları olduğunu saptamıştır. Örn; Marjinal zone B hücrelerinin foliküler mature B hücrelerine oranla daha fazla TLR eksprese ettiği gözlenmiştir(36).

Doğal İmmün sistem hücreleri ise TLR'ler ve mikroorganizmaların farklı yapısal özelliklerini de algılayan reseptörler (mannoz reseptörleri, çöpçü reseptörler) aracılığı ile fagositik özelliklerini göstermesinin yanında sitokin reseptörleri, kompleman reseptörleri ve antikorlar içinde reseptörler taşır, bu yapıları taşıyan mikroorganizmalar, fagositik hücreler tarafından daha güçlü bir biçimde tanınır. Fagositoz ile hücre içine alınan patojen fagositte edilip yok edilir veya fagositte dilip MHK varlığında ASH ile T lenfositlere sunulur (2).

Direkt olarak uyarılan doğal immün sistem hücrelerinin salgıladığı sitokinler, dolaylı olarak adaptif immün sistem hücrelerini uyararak adaptif immün yanıtın şekillenmesini sağlar. Böylece doğal immün yanıt adaptif immün sisteme taşınmış olur.

Patern tanıma reseptörleri, adaptif immün yanıtların direkt olarak uyarımında Dendritik hücre'ler üzerinden de görev yapar. DH'ler PRR'ler ile antijeni tanıyıp fagositte eder ve antijenik peptitlerine ayrıştırırlar. ASH haline gelen DH'ler antijenik peptitleri MHK sınıf I veya MHK sınıf II aracılı olarak ve kostimülatör moleküller eşliğinde lenf düğümlerinde lenfositlere sunarlar ve T lenfosit aktivasyonu gerçekleşir(2, 20). ASH'ler DH sınırlı kalmayıp makrofajlar ve B lenfositleride antijen sunmakla görevli hücrelerdendir(2).

Doğal bağışıklığın Patern tanıma kolunun adaptif immünitinin yürütülmesinde ve şekillenmesinde merkezi rolü olduğu bilinmekle birlikte fakat allograft reddinde bir

işlevi olup olmadığı bilinmemektedir. Geleneksel olarak kabul gören, doğal bağışıklığın patojenlerce gösterilen ancak ökaryotik ve çok hücreli konaklar tarafından eksprese edilmeyen yalnızca patojenler tarafından taşınan yapıların tanınmasında etkin olduğudur. Bu nedenle sanki doğal bağışıklık sistem elementleri memeli dokularını tanımamaktadır. Ancak artan sayıda çalışmalar doğal bağışıklığın allojenik ve Ksenojenik hücrelerin tanınmasında da görevi olduğunu göstermektedir.

4.3.4 TLR ve İmmünolojik Redde Roller

Organ transplantında istenen durum yamanın uzun süreli sağ kalımıdır. Transplant öncesi kan grubu ve genetik uygunluk test edilse de yeni geliştirilen birçok immüsupresan olsa da nakil sonrası red yine de görülmektedir (27). Transplantasyonda, tanıma ve toleransta adaptif immün sistemin rolü olduğu gibi doğal immün sistemin de rolü olabileceğini doğal immün sistem reseptörlerinden olan Toll-Benzeri Reseptörlerin keşfi ile düşünülmeye başlamıştır (27). TLR'lerin transplanttaki önemi üzerinde birçok çalışma yapılmış, alınan sonuçlardan transplantta önemli rolü olabileceğini öngörülmüştür.(27)

Örneğin; Farelerde kalp naklinde akut ve kronik red durumunda TLR4 mRNA düzeylerine bakılmış ve artma gözlenmiştir. Bu veri ile kalp nakli olan alıcılarda TLR4'ün kronik red ile ilintili olabileceği düşünülmektedir (7). TLR4, TLR2 veya MyD88 (TLR sinyal iletiminde rol alan adaptör proteinlerden) eksikliğinde farelerde deri nakli sonrasında doku reddi durumu çalışılmış ve TLR2 ve TLR4 eksikliğinin doku reddinde işlevi olduğunu düşündürecek veriler elde edilmiştir (8). Karaciğer nakli sonrası akut red görülen bireylerde periferik kan monositlerinde TLR2 ve TLR4 ekspresyonu incelendiğinde, artan miktarda TLR2 ve TLR4 ekspresyonunun gözlenmesi, TLR'lerin en azından birkaçının akut redde rolü olabileceğini düşündürmektedir (9). Farklı bir çalışmada TLR4'ün polimorfik varyantlarının ateroskleroz gelişimine katkıda bulunarak renal transplant komplikasyonlarına yol açabileceği bildirmiştir (10).

Elbette TLR'lerin polimorfik varyantları ve değişen ekspresyon paternleri kadar transplant sonrası verici dokuda bulunan ligandları da transplant reddinde rol

oynayabilir. Bu ligandlardan HSP, hyaluronan, fibronektinin transplant reddinde rol oynadıkları gösterilmiştir (1, 11, 12).

4.4 İmmünglobulin Reseptörleri: Fc Reseptörler

Fc reseptörleri (FcR); İmmünglobülinler için yüzey reseptörlerdir, yaklaşık 40 yıl önce tanımlanmış olmasına rağmen immün cevaptaki merkezi görevleri son 10 yıldır tanınmaya başlanmıştır (13).

FcR'ler, İmmünoglobülin ağır zincir dizilimlerindeki farklılıklara (izotiplere) göre tanımlanır. Beş farklı çeşit immünglobulin reseptörü vardır. Bunlardan FcαR IgA'ya, FcεR IgE'ye, FcμR IgM'e, FcδR IgD'ye ve FcγR IgG'ye bağlanır.(2)

FcγR'ler 1. kromozomun uzun kolunda yerleşen sekiz gen ile kodlanırlar ve üç gruba ayrılır;(15)

FcγR I (CD64) ; FcγR IA, IB, IC üç geni kapsar, dört farklı transkript oluşturur; FcγRa, FcγR b1, FcγR b2, FcγR c,

FcγRII (CD32) ; Üç geni kapsar, FcγRIIA, IIB ve IIC, altı mRNA transkripti oluşturur.

FcγRIII (CD16) ; İki geni içerir, FcγRIIIA ve IIIB, iki farklı transkript oluşturur.

FcγR'leri hematopoietik sistemde yaygın olarak eksprese edilirler; T hücrelerince eksprese edilip edilmedikleri tam olarak bilinmemektedir. Birçok insan ve fare Fc reseptörü, Ig süper ailesi üyesidir. Lektin ailesi üyesi olan FcR'ler de vardır.

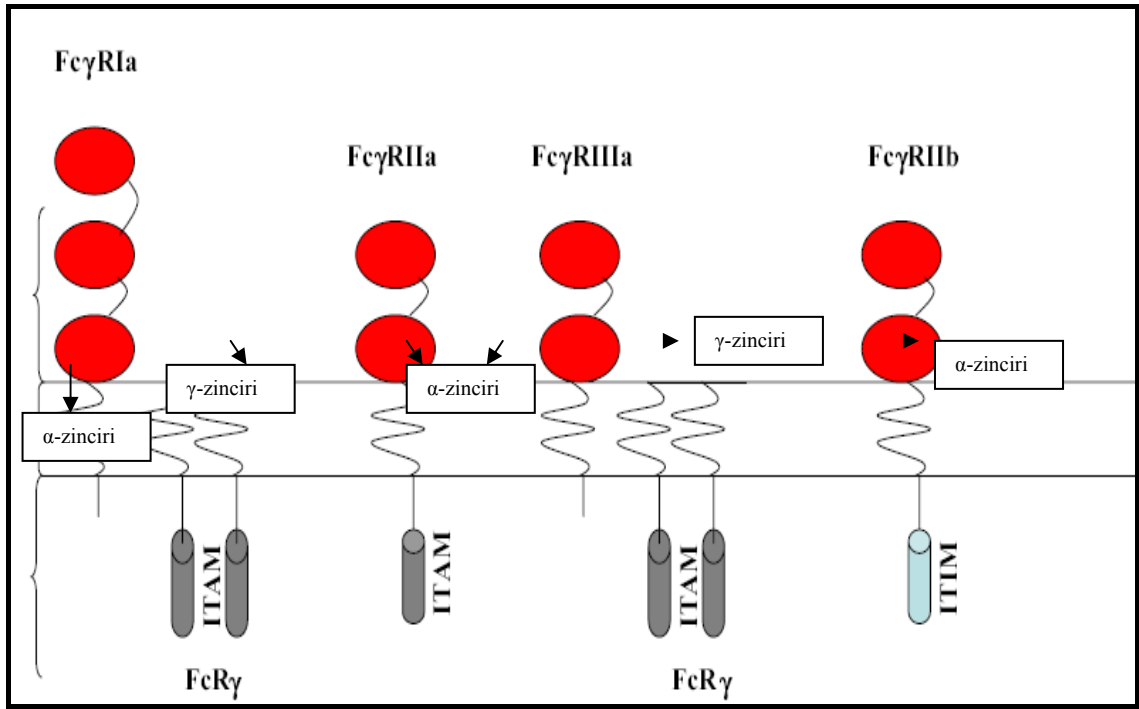
Fc reseptörleri (FcR), membran proteini veya mRNA düzeyinde alternatif bağlantılar ile çözünür proteinler halinde bulunabilirler.

Doğal immün sistem efektör hücreleri; monosit, makrofaj, Dendritik hücre (DH), bazofil ve mast hücreleri, aktivatör ve inhibitör FcγR'lerini birlikte eksprese eder, NK hücreleri yalnız aktivatör FcγRIII, B hücreleri ise yalnız inhibitör FcγRIIB' yi eksprese ederler(Tablo II). Foliküler dendritik hücreler (FDH), endotel hücreleri, microglia hücreleri, osteoklastlar, mesengial hücreler de Fc reseptör eksprese ederler (Tablo II).

Inhibitör FcγRIIB (CD32b) fare ve insanda korunmuş tek inhibitör reseptördür. Sitoplazmik bolgede sinyal ileten ITIM motifi içerir. NK ve T hücreleri dışında tüm

lökositlerde eksprese edilen iki formu vardır; Fc γ RIIB–1 ve Fc γ RIIB–2. B1 yalnız B hücrelerinde eksprese edilirken B2 diğer tüm hücrelerde eksprese edilerek endositoz ve fagositozda etkilidir (16).

Fc γ RIIB dışında diğer tüm aktivatör Fc γ R’leri sitoplazmik domainlerinde ITAM molekülü içerir. Fc γ RIIB sadece nötrofillerde eksprese edilir ve plazma membranına GPI (glikozil fosfatidil inozitol) ile sıkıca bağlanmış durumda bulunur. (16)



Şekil 2. Aktivatör ve inhibitör Fc γ R yapıları. *Human Immunology* 2006 kaynağından adapte edilmiştir.

TabloII: FcR'leri ve hücresel ekspresyonları.

Human Immunology 2006 kaynağından adapte edilmiştir.

Fc Reseptörleri	Hücresel Ekspresyonları
FcγR Ia (CD64)	Monosit, Makrofaj, Nötrofil, Eozinofil, DH
FcγR IIa(CD32a)	Makrofaj, Nötrofil, Eozinofil, Platelet, DH, LH
FcγR IIb(CD32b)	IIb1: B hücreleri, IIb2: Mast Hücreleri, Bazofil, DH LH, monosit, makrofaj, nötrofil, eozinofil
FcγRIIIa(CD16a)	Monosit, Makrofaj, Nötrofil, Eozinofil, Mast H, NK H, DH, LH, γ/δ T h.
FcγRIIIb(CD16b)	Nötrofil, Eozinofil
FCγRIV	Myeloid Hücreler
FcαRI (CD89)	Makrofaj, Nötrofil, Eozinofil
FcεRI	Mast h, Eozinofil, Bazofil, DH,LH
FcεRII (CD23)	Trombositler

4.4.1 İmmünoglobülin Reseptörlerinin İmmün Yanıtta Rolü

Nötrofil ve makrofajlar gibi fagositik hücreler üzerinde eksprese edilen FcR 'ler (FγRI, FcγRIIa, FcεRI) antikorlarla kaplı mikrororganizmaların opsonizasyon ve fagositozunda etkilidir (2). NK hücrelerinde ekprese edilen FcR'ler (FcγRIIIA) Antikora bağımlı hücresel sitotoksiste (ADCC) mekanizmalarında görev alır (2).

FcR'ler adaptif immün sistemi düzenlerler; B hücre cevabı ve hümmoral yanıt için kontrol noktası durumundadırlar. FcγRIIB inhibitör sinyal özellikleri ile B hücre oluşumunun son safhasında, otoreaktif B hücrelerinin çoğalmasını ve bunların plazma hücrelerine dönüşümünü engeller. Dendritik hücre yüzeyinde eksprese edilen inhibitör FcγR reseptörü (FcγR IIB) ile T hücrelerine antijen sunumu ve hücressel immün sistem aktivasyonu düzenlenir (13). İnhibitör FcγR IIB eksik fareler ile yapılan çalışmalarda in vivo ve in vitro koşullarda antijene özgöl T hücre cevabında artma gözlenmiş olması, Fc reseptörlerin T hücre düzenlenmesinde de görevleri olduğunu düşündürmektedir (14). B hücre gelişimi boyunca otoreaktif antikor oluşumunu önlemek için reseptör düzenlenmesi, klonal delesyon ve anerji oluşumu gibi birçok santral ve periferel denetim noktasının varlığı bilinmektedir. Düşük afiniteli FcγRIIB hücre maturasyonunun son aşamasında fonksiyon gösterir. IgG class-switch aşamasından sonra otoreaktif B hücre oluşumunu ve bunların antikor sekrete eden plazma hücrelerine dönüşümünü önler (16).

Balb-c fare grubunda, C57BI/6 fare gurubuna göre B hücre maturasyon aşamasının reseptör düzenlenmesi daha etkin, Fcγ-R eksikliğinde Balb-c farelerde otoimmün hastalıklar görülmediğı ama, C57BI/6 fare gurubunda fetal lupus benzeri hastalıklar göröldüğü saptanmıştır (13).

Dendritik hücreler antijen sunan hücreler olmakla beraber, periferel T hücre toleransı süresince aktif olarak işlev görürler. Aktivatör ve inhibitör FcγR'leri DH aktivasyonunu ve hücressel immün sistemi regüle edilmesinde rol alırlar (13). DH yüzeyinde inhibitör FcγRIIB ile alınan IC' ler tekrar hücre yüzeyine taşınarak B hücrelerine sunulurken, aktivatör FcγR ile alınan IC lizozomal kompartımanda proteolitik enzimlerce işlenir ve antijenik peptitler MHC yolu ile sitotoksik ve yardımcı T hücrelerine sunulur. DH aktivasyonun düzenlenmesi yanında, FcγRIIB hücressel immün sistemde periferel toleransın düzenlenmesinde rol alır (18). Araştırmacılar, DH'deki FcγRIIB bloke edilmesinin immünüterapide anti-tümör cevabını arttırabileceğı ve bunun da yeni bir tedavi yaklaşımı olabileceğı görüşündeler(17). FcR'lerin hastalıklarla ilgisini araştıran çalışmalar yukarıda da sıralandığı gibi daha çok otoimmünite, tolerans ve kısmen tümör ile ilişkilidir. FcR'lerin organ nakillerindeki durumları ile ilgili çalışmalar mevcut değildir. FcR'ler de tıpkı TLR'ler gibi doğal ve adaptif immün sistemin çapraz konuşmasını

sağlayan moleküllerdendir, bu bağlamda FcR'lerin doku reddinde ya da kabülündeki durumları araştırmaya değer bir konu olarak gözükmeğtedir.

5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1.Hasta Seçimi

Hastalar, Memorial Hastanesi Organ Nakli bölümünün desteği ile sağlanmıştır. Kronik Böbrek Yetmezliği olan (KBY) hastaların nakil öncesi Doku Grubu Testi, Lenfosit cross-match PRA testleri yapıldıktan sonra, hastalara onay formu imzalatılarak 4 ml EDTA'lı ve 3 ml kuru kan alınmıştır. Çalışmaya 41 hasta katılmıştır. Aynı hastalardan organ naklini takiben 7.gün tekrar aynı özelliklerde kan alınmış ve çalışılmıştır.

5.2 Lizat ile Periferik Kan Mononükleer Hücre ve Polimorfonükleer Lökosit İzolasyonu

Periferik kan beyaz kan hücreleri (PKMH: Perifik Kan Mononukleer Hücre) ve Polimorfonükleer Lökositler (PNL), EDTA'lı kandan amonyum bazlı lizat solusyonu (0.155M NH_4CL , 0.01M KHCO_3 , 0.127M EDTA) kullanılarak elde edilmiştir. 4ml venöz kana 40ml lizat solusyonu ilave edilerek oda ısısında 10 dakika bekletilmiştir. 1100 rpm'de, oda ısısında 10 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant uzaklaştırılarak pellet, fosfat tampon çözeltisi (PBS; 0.005M K_2HPO_4 , 0.005M KH_2PO_4 , 0.14M NaCl; pH=7.3) ile oda ısısında 1500rpm'de 10 dakika yıkanmıştır. Pelet 1×10^6 hücre/ml olacak şekilde PBS ile sulandırılmış ve yüzey işaretleme testlerinde kullanılmıştır.

5.3. TLR ve Fc Reseptör Ekspresyonu Tayini

İzole Beyaz Kan Hücreleri Tablo III'de belirlenen kombinasyonlarda direk fluoresan işaretli antikorlarla direkt işaretleme yöntemi, fluoresan işaretli olmayan antikorlarla, indirek işaretme yöntemi kullanılarak boyanmıştır.

Direkt işaretleme yönteminde, 100µl hücre süspansiyonu üzerine araştırılacak antikorlar uygun dilüsyonda eklenerek oda ısısında, 15 dakika karanlıkta inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası hücrelere PBS eklenerek oda ısısında 1500rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve flow sitometri cihazı (FACScan, Becton&Dickinson Corp.) ile yüzey molekül ekspresyonu yüzde olarak saptanmıştır (Tablo III). İndirekt

işaretleme de ise; BKH'leri önce floresan işaretsiz indirekt antikor ile 2–8 °C 'de 30 dakika inkübe edilmiş. İnkübasyon sonrası hücrelere PBS eklenerek oda ısısında 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. İkinci antikor olarak direkt floresan işaretli anti-fare antikoruna ile boyanmış ve 2-8 °C 'de 30 dak. inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası hücrelere PBS eklenerek oda ısısında 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve "flow sitometri" cihazı (FACScan, Becton&Dickinson Corp.) ile yüzey molekül ekspresyonu yüzde olarak saptanmıştır.

Tablo III. Kullanılan Monoklonal Antikor Kombinasyonları

1. CD45FITC/CD14PE	8. CD32aFITC/CD32b/CD14PerCP
2. CD3FITC/HLA-DRPE	9. CD64 FITC/CD14PERCP
3. CD3 FITC/16+56 PE	10. CD16FITC/CD209PE
4. CD8FITC/CD28PE	11. CD32aFITC/CD32b/CD209PE
5. CD14 PerCP/ CD282 FITC/284PE	12. CD209PE/CD64FITC
6. CD14 PErCP/CD80FITC/CD86PE	13. CD209PerCP/CD282 FITC/284PE
7. CD16FITC/CD14PERCP	

FcγRIIa için CD32aFITC, FcγRIIb için anti-insan, fare CD32b-indirekt ve sekonder antikor olarak keçi anti-fare IgG-PE antikorları kullanılmıştır, FcγRI ekspresyonu ise CD64 FITC mAb kullanılarak belirlenmiştir.

TLR2 ekspresyonunu belirlemek için CD282 FITC mAb, TLR4 ekspresyonu için CD284 PE mAb kullanılmıştır.

CD32b mAb 'u R&D firmasından, anti-fare IgG mAb'u Beckman Coulter firmasından temin edilmiştir. Diğer tüm mAb'lar BD Pharmingen™ firmasından temin edilmiştir.

5.4. İstatistiksel Değerlendirme

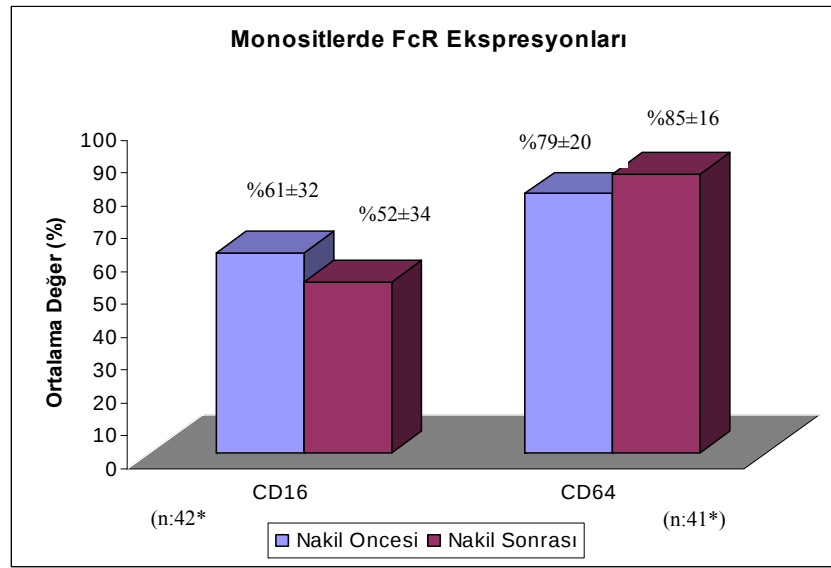
İstatistiksel analizler SPSS 14 programı ile yapılmış ve 0.05'ten küçük p değerleri ($p < 0.05$) istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Transplant sonrası ve öncesi monosit, granülosit hücre populasyonlarındaki FcγR ve TLR ekspresyon

değerleri ve lenfosit populasyonundaki CD8,CD28, CD3 ve HLA-DR ekspresyon değerleri parametrik olmayan WILCOXON eşleştirilmiş örnek testi ile değerlendirilmiştir.

6. BULGULAR

6.1 Transplant Öncesi ve Sonrası Monosit Populasyonunda FcγR'ler ve TLR'lerin Hücre Yüzey Molekül Ekspresyonları

Transplant öncesi ve sonrası monosit populasyonunda FcγR ve TLR ekspresyonları incelenmiş ve FcγRIII (CD16) ekspresyonlarının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı saptanmıştır. ($p<0.05$) FcγRI ekspresyonunda ise nakil sonrası anlamlı bir artış olduğu belirlenmiştir. ($p<0.05$). Aktivatör ve inhibitör FcγRII (CD32a ve CD32b) ekspresyonlarında bir değişiklik saptanmamıştır (Şekil 3).

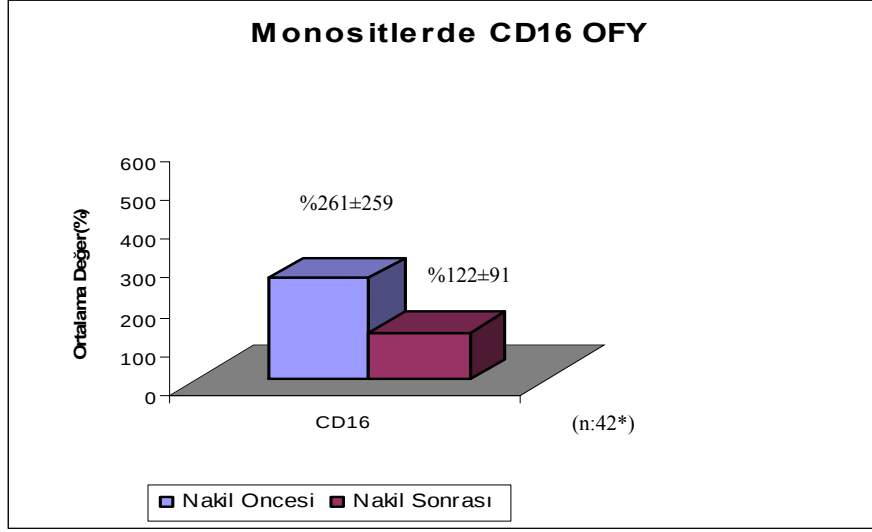


Şekil 3. Trasnplant öncesi ve sonrası monosit populasyonunda FcγRIII ve FcγRI ekspresyonları. (Veriler % cinsinden olup; $\pm$ standart sapmayı, n gruplardaki birey sayısını göstermektedir). * $p<0.01$

Monositlerde tüm yüzey moleküllerinin Ortalama Fluoresan Yoğunluğunun (OFY) nakil öncesi ve sonrası değerleri karşılaştırıldığında, CD16 OFY'nun nakil sonrası düşme eğilimi tüm hastalarda gözlemlendi ve fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$) (Şekil 4).

Tüm diğer Fc reseptörlerde, TLR'lerde de azalma olmasına rağmen bu fark

anlamlılık seviyesine ulaşmadı.($p>0.05$)



Şekil 4.Transplant öncesi ve sonrası hasta monositlerindeki CD16 OFY ortalamaları ($*p<0.05$) (Veriler % cinsinden olup, $\pm$ standart sapmayı, n gruplardaki birey sayısını göstermektedir.)

Monositler üzerinde transplant öncesi ve sonrası TLR2 (CD282) ve TLR4 (CD28) ekspresyonlarında ise anlamlı bir değişim gözlemlenmemiştir. ($p>0.05$) (Tablo III.)

Tablo IV. Transplant öncesi ve sonrası hasta monositlerindeki CD282 ve CD284ekspresyonu ortalamaları ($p>0.05$) (Veriler % cinsinden olup, $\pm$ standart sapmayı göstermektedir).

	<i>CD14+CD282+</i> (%)	<i>CD14+CD284+</i> (%)
<i>Nakil Öncesi</i>	95,3±6,3 ($p>0,05$)	90,3±8,06 ($p>0,05$)
<i>Nakil Sonrası</i>	94±11 ($p>0,05$)	87±12,6 ($p>0,05$)

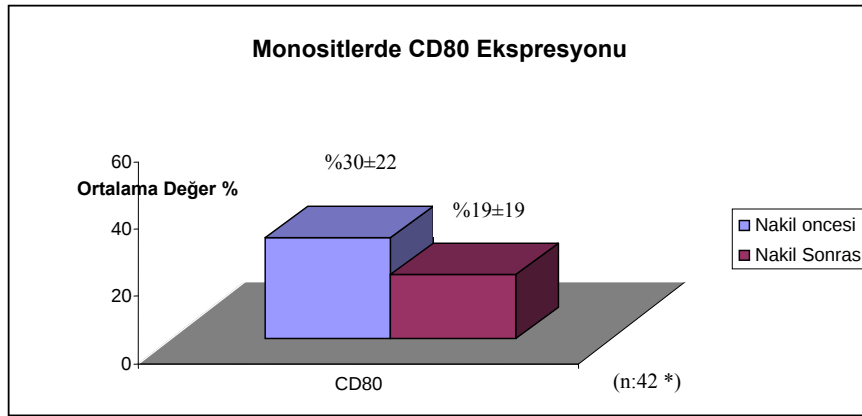
6.1.2. Monositlerde Kostimülatör Moleküllerin Tayini

Transplant öncesi ve sonrası hastaların monositlerinde kostimülatör moleküller B7.1(CD80) ve B7.2(CD86) ekspresyonları karşılaştırıldığında CD86 ekspresyonunda

bir değişim saptanmazken ($p>0.05$), CD80 ekspresyonu nakil sonrası anlamlı düzeyde azaldığı belirlenmiştir. ($p<0.05$) (Tablo V ve Şekil 5).

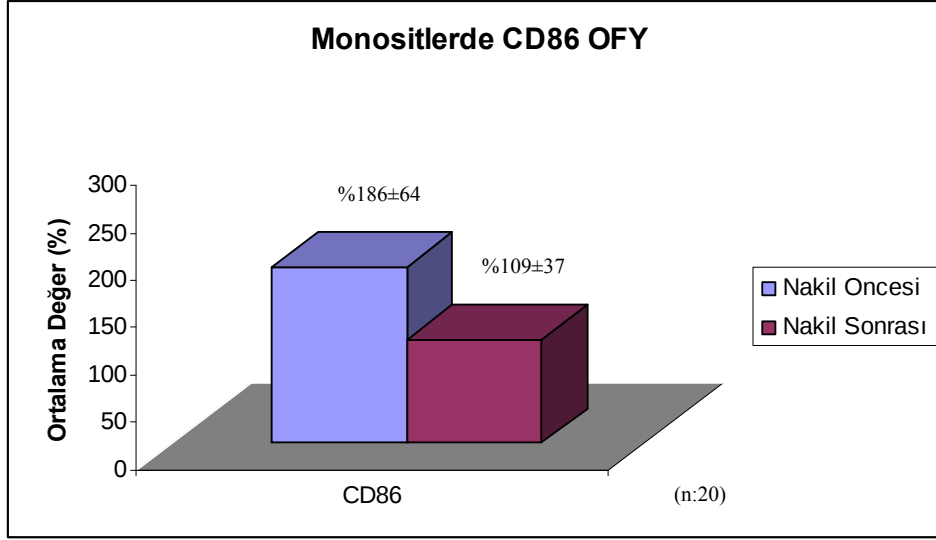
Tablo V.Transplant öncesi ve sonrası hasta monositlerindeki CD86 ekspresyonu ortalamaları.
(Veriler % cinsinden olup, $\pm$ standart sapmayı göstermektedir)

	Nakil Öncesi	Nakil Sonrası
CD14+CD86+ (%)	85,5 $\pm$ 14,4	81,4 $\pm$ 21
p	>0,05	



Şekil 5.Transplant öncesi ve sonrası hasta monositlerindeki CD80 ekspresyonu ortalamaları (* $p<0.05$) (Veriler % cinsinden olup, $\pm$ standart sapmayı, n gruplardaki birey sayısını göstermektedir.)

Bununla birlikte monositler üzerinde kostimülatör moleküllerden CD86'nın OFY (Ortalama Fluoresan Yoğunluğu) incelendiğinde, yüzde azalmaya olmamasına rağmen, transplant sonrasında hücre yüzeyinde CD86 molekül sayısında anlamlı düzeyde azalma olduğu belirlendi. ($p<0.05$, Şekil.6).



Şekil 6.Transplant öncesi ve sonrası hasta monositlerindeki CD86 OFY ekspresyonu ortalamaları (* $p<0.05$) (Veriler % cinsinden olup, $\pm$ standart sapmayı, n gruplardaki birey sayısını göstermektedir.

6.1.3 Transplant Öncesi ve Sonrası Monosit Çerçevesindeki Dendritik Hücre Populasyonlarının İncelenmesi

Monosit çerçevesinde yapılan incelemelerde transplant öncesi ve sonrası DH populasyonunda (CD209+) bir fark gözlemlenmedi. ($p>0.05$) (Tablo VI)

Tablo VI. Transplant öncesi ve sonrası hasta CD209+ hücrelerin ortalamaları. ($p>0.05$) (Veriler % cinsinden olup, $\pm$ standart sapmayı göstermektedir).

	<i>Nakil Öncesi</i>	<i>Nakil Sonrası</i>
CD209+ (%)	28±14	23,7±15
p	>0,05	

Dendritik Hücre populasyonu üzerinde incelenen FcγR ekspresyonlarında (Sırası ile CD209+CD16+, CD209+CD32a+, CD209+CD32b+, CD209+CD64+

populasyonlar) ve TLR ekspresyonlarında (CD209+CD282+, CD209+CD284+) transplant öncesi ve sonrası istatistiksel anlamlı bir değişim saptanmadı. ($p>0.05$) , Tablo VII)

Tablo VII. Transplant öncesi ve sonrası hasta CD209+ hücrelerde FcγR ve TLR yüzey ekspresyonlarının ortalamaları. ($p>0.05$)

Veriler % cinsinden olup, $\pm$ standart sapmayı göstermektedir.

	<i>CD209+</i> <i>CD16+</i> (%)	<i>CD209+</i> <i>CD32a+</i> (%)	<i>CD209+</i> <i>CD32b+</i> (%)	<i>CD209+</i> <i>CD64+</i> (%)	<i>CD209+</i> <i>CD282+</i> (%)	<i>CD209+</i> <i>CD284+</i> (%)
<i>Nakil Öncesi</i>	27,6 $\pm$ 15,2	16,4 $\pm$ 14,3	14,2 $\pm$ 10,9	16,7 $\pm$ 10,4	11,7 $\pm$ 7,4	9,7 $\pm$ 7,4
<i>Nakil Sonrası</i>	23,3 $\pm$ 16,2	6,02 $\pm$ 6,5	11,7 $\pm$ 14,8	13,4 $\pm$ 8,6	8,2 $\pm$ 6,7	5,9 $\pm$ 5,8
<i>p</i>	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

6.2 Transplant Öncesi ve Sonrası Granülosit Populasyonunda FcγR'ler ve TLR'lerin Hücre Yüzey Ekspresyonları

FcγR'ler, TLR2 ve TLR 4 ekspresyonları granülositler üzerinde incelendiğinde; nakil öncesi ve sonrasında değişim gösteren hastalar olmasına rağmen incelenen parametrelerle istatistiksel anlamlılık gösteren bir ekspresyon özelliği saptanmamıştır. (Tablo VIII).

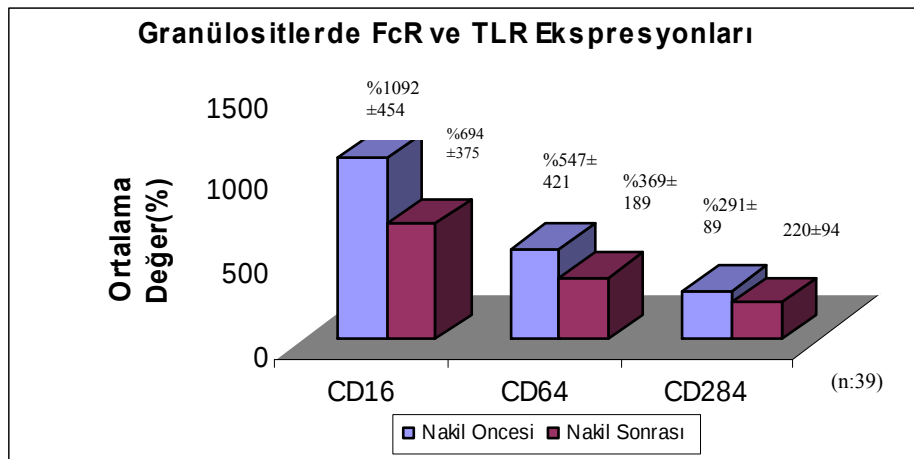
Tablo VIII. Transplant öncesi ve sonrası granülosit çerçevesindeki FcγR ve TLR yüzey ekspresyonlarının ortalamaları. ($p>0.05$)

Veriler % cinsinden olup, $\pm$ standart sapmayı göstermektedir.

	CD16+	CD32a+	CD32b+	CD64+	CD282+	C284+	HLADR
Nakil Öncesi	96,2 $\pm$ 5,5	28,7 $\pm$ 41,4	9,9 $\pm$ 14,5	3,6 $\pm$ 5,5	23,2 $\pm$ 33	13,6 $\pm$ 28,4	11 $\pm$ 8,6
Nakil Sonrası	97 $\pm$ 6,1	24,3 $\pm$ 40	4,3 $\pm$ 5	2,5 $\pm$ 2,7	23,2 $\pm$ 27,3	9,8 $\pm$ 14,06	9,3 $\pm$ 7,5
p	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

Bununla birlikte, Ortalama Floresan yoğunlukları (OFY) incelendiğinde granülositler üzerindeki CD16 ve CD64 OFY'nun tüm hastalarda nakil sonrası yarı yarıya azalması dikkat çekici bulunmuştur ($p<0.05$, Şekil.7).

Daha düşük anlamlılıkta olmasına karşın TLR 4 floresan yoğunluğunda da nakil sonrası düşme eğiliminde olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$) (Şekil7)



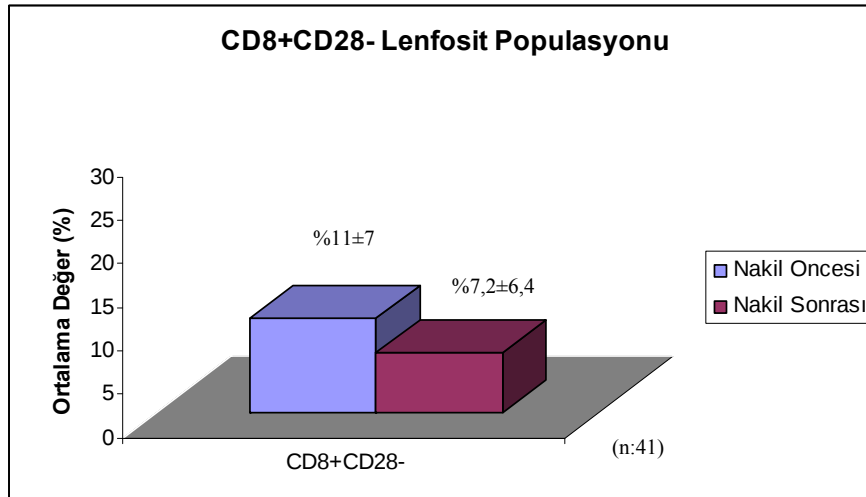
Şekil 7. Transplant öncesi ve sonrası granülosit çerçevesindeki FcγR ve TLR yüzey ekspresyonlarının OFY ortalamaları. (Tüm p değerleri <0.05) (Veriler % cinsinden

olup, $\pm$ standart sapmayı, n gruplardaki birey sayısını göstermektedir. CD16 için n:39, CD64 için n:38, CD284 için n:13)

Nakil sonrası CD32b OFY’nda daha belirgin olmak üzere CD32a OFY’nda da hafif olarak artışlar saptandı, ama bu değerler hastalar arasında varyans gösterdiği için anlamlılık düzeyine ulaşmadı ($p>0.05$).

6.3 Transplant Öncesi ve Sonrası Lenfosit Populasyonunda Hücre Yüzey Molekül Ekspresyonları

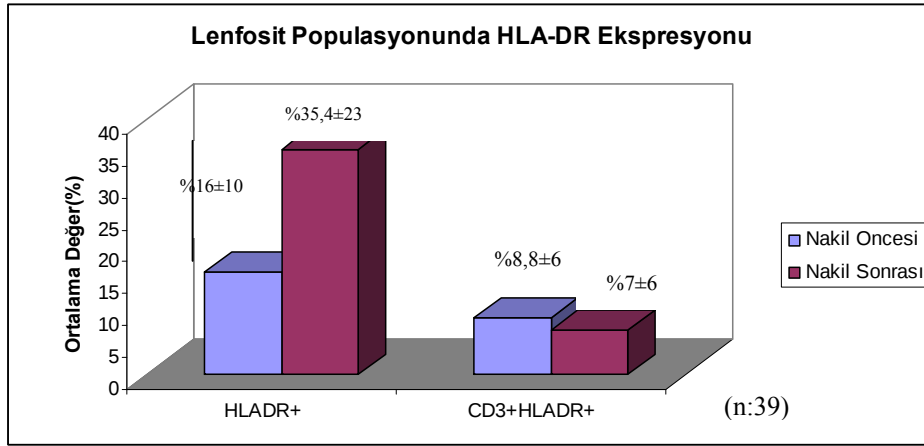
Transplant sonrası hastalarda CD8+CD28- populasyonu azalma gösterirken ($p<0.05$, Şekil8) iken CD8+CD28+ populasyonda öncesi ve sonrasında anlamlı bir değişim saptanmamıştır ($p>0.05$)



Şekil 8.Transplant öncesi ve sonrası Lenfosit çerçevesindeki CD8+CD28- hücre ortalamaları (* $p<0.05$) (Veriler % cinsinden olup, $\pm$ standart sapmayı, n gruplardaki birey sayısını göstermektedir.)

Lenfosit populasyonunda HLA-DR ekspresyonlarına bakıldığında ise nakil sonrasında neredeyse iki katına yakın bir artış gösterdiği saptanmıştır.($p<0.05$)

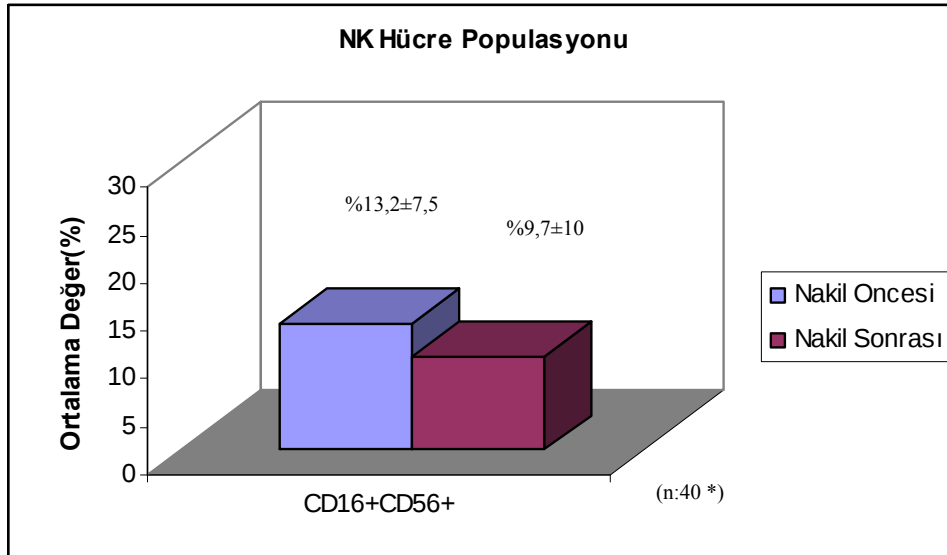
Bu farkın T hücrelerinden kaynaklanmadığı söylenebilir. Çünkü CD3+HLA-DR pozitif populasyonun nakil sonrası anlamlı derecede azaltığı gösterilmiştir. ($p<0.05$). (Şekil9)



Şekil 9.Transplant öncesi ve sonrası Lenfosit çerçevesindeki HLA-DR ekspresyonu ortalama değerleri (* $p<0.05$) (Veriler % cinsinden olup, $\pm$ standart sapmayı, n gruplardaki birey sayısını göstermektedir.)

Transplant öncesi ve sonrası hastalarda lenfosit populasyonunda NK(CD16+CD56+) hücre oranları normal sınırlar içinde kalmasına rağmen yine hafifçe azalmıştır.

($p<0.05$) (Şekil 10)



Şekil 10. Transplant öncesi ve sonrası Lenfosit çerçevesindeki NK hücre populasyonunun ortalama değerleri (* $p<0.05$) (Veriler % cinsinden olup, $\pm$ standart sapmayı, n gruplardaki birey sayısını göstermektedir.

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Solid organ transplantasyonlarında çalışmalar daha çok adaptif immün sistemin rolü üzerine olsada, doğal immün sisteminde adaptif immün cevabta etkisi olması, onun allograft tanımada etkisi olabileceğini düşündürmüştür. Doğal immün sistem hücrelerince de ekprese edilen patern tanıma reseptörlerinden olan TLR'lerin transplanttaki onemi üzerinde birçok çalışma yapılmış, alınan sonuçlardan transplantta onemli olabileceğini öngörülmüştür (27).

Karaciğer nakli sonrası akut red görülen bireylerde periferik kan monositlerinde TLR2 ve TLR4 ekspresyonu incelendiğinde, artan miktarda TLR2 ve TLR4 ekspresyonunun gözlenmiş, TLR'lerin en azından birkaçının akut redde rolü olabileceğini düşünülmüştür (9).

Monositlerde TLR 4 ve aktivasyon belirteçlerinden CD80(B-7.1) , IL-12 ve TNF- α sekresyonunda kontrol bireylerinde daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Artan TLR4 ekspresyonu ile birlikte allograft endotelyal hücre hasarı gözlenmiş ikisi arasında bir ilişki olabileceği kalp transplantasyon hastalarında gösterilmiştir (7).

Bulgularımızda transplant öncesi ve sonrası KBY olan hastalarda monosit çerçevesinde TLR2 ve TLR4 ekspresyonları incelenmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamasına karşın ortalama florasan yoğunluklarında (OFY) nakil sonrası azalma gözlemlenmiştir. Literatür verileriyle çelişkili gözükken bu verimiz, kullanılan immünosupresanların etkisi ile gerçekleşmiş olabilir. Ek olarak, literatür çalışmaları karaciğer nakillerinde yapılmış olduğu için farklı transplantasyon modellerinde farklı yanıtların gerçekleşiyor olması ile de açıklanabilir.

Kostimülatör moleküller T hücre aktivasyonu için gerekli moleküllerdir (2). Kostimülatör moleküllerden CD80(B7.1) ve CD86(b7.2) ekspresyonunu transplant sonrası ve öncesi hasta monositlerinde incelenmiştir. CD80 (B.7.1) ekspresyonu transplant sonrası monositlerde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma gösterirken, CD86(B.7.2)'nin ise florasan yoğunlunda azalma gözlemlenmiştir. Monositler üzerinde TLR ekspresyonlarındaki bu azalma kullanılan immünosupresanların bir etkisi olabilir. Monositlerde TLR kaynaklı sinyal iletiminde bir azalma olacağından dolayı olarak antijen sunumu için gereken ko-stimülatör

molekül ekspresyonlarında etkilemiş olabilir.

CD16(Fc γ RIII) birçok immün hücrede olduğu gibi monositler üzerinde de ekprese edilen bir moleküldür. CD16, CD14++monositlerde farklı ekspresyon paternlerine sahiptir. CD64+CD16- monosit populasyonun CD16+CD64- monosit popülasyona göre daha yüksek antijen sunum kapasitesine sahip olduğu çalışmalarla gösterilmiştir (38). Bulgularımızda monositler üzerinde transplant sonrasında CD16 ekspresyonunun hafifçe ama anlamlı düzeyde azaldığı, CD64 ekspresyon düzeyinde ise nakil sonrası anlamlı bir artışın olduğu gözlemlenmesi, monositlerin transplant sonrası daha yüksek antijen sunma kapasitesindeki fenotipe dönme eğilimlerinin bir göstergesi olabilir. Fakat immünsüpresanların etkisi ile TLR2 ve TLR4 ekspresyon düzeyindeki azalmanın ko-stimülatör molekül ekspresyonunu da azaltabileceği öngörüsü ile, ortamda ASH ile MHK aracılı antijen sunumu olsa bile eş-uyaran eksikliği ile alloantijene spesifik T lenfosit aktivasyonu gerçekleşmeyecek ve immün cevap oluşmayacaktır.

CD28 T hücre aktivasyonunda çok önemli bir kostimülatör molekül olsa da insan periferik kanındaki T lenfositlerin büyük bir kısmında CD28 bulunmamaktadır. Sağlıklı insanlarda CD28 çoğunlukla CD4+ T hücrelerinde bulunmaktadır. CD28 eksprese eden CD8+ T hücre yüzdesi ise oldukça değişkendir. Periferik kan CD8+CD28- T hücreleri, büyük, granüllü lenfositlerdir. Diğer fenotipik özellikleri bilinmemektedir. (42)

Najafian ve ark. CD28 kostimülasyonu olmadığı durumda CD8+CD28- T hücrelerinin EAE (experimental autoimmune encephalomyelitis) 'e doğal dirençte rol oynadıklarını bulmuşlardır. Bu farelerden, CD8+CD28- hücreleri CD8-/- farelere aktardıklarında farelerin hastalığı baskılayıcı özellik gösterdiklerini gözlemlemişler. CD8+ T hücrelerini immünizasyondan önce ve 14. günde çıkartıldıklarında hastalık yeniden oluştuğu gözlenmiştir. Buna göre, CD8+CD28- supresör T hücrelerinin baskılayıcı özelliklerinin hastalığın hem başlangıç hem de efektör fazında oluştuğunu söylemişler. Aynı çalışmada, wild-tip farelerin CD8+CD28- T hücrelerinin in vivo ve in vitro olarak EAE'yi baskılama özellikleri bulunmuştur (43).

CD8+CD28- T hücreleri için, çeşitli araştırmalarda birbirlerinden farklı supresyon mekanizmaları tanımlanmıştır. Bu mekanizmalardan biri, CD8+CD28- supresör T

hücrelerinin hücre-hücre teması yolu ile immün yanıtı baskıladığı yönündedir (39). Suciu-Foca ve ark.'ın tanımladıkları tip 1 CD8+CD28- supresör hücreler, MHC sınıf I-peptid kompleksini tanıyarak antijene spesifik CD4+ T hücre yanıtını baskılamaktadır. Bu tip supresör T hücreleri, antijen sunucu hücreler ile direkt temas kurmakta, ILT3 ve ILT4 gibi inhibitor reseptör ekspresyonuna sebep olup antijen sunucu hücrelerde ko-stimülator molekül ekspresyon sayılarının azalmasına sebep olurlar, böylece ASH yolu CD4+Th. Yanıtını baskılamış olurlar (40).

Bulgularımızda, CD8+CD28- T h. Popülasyonunun periferik kanda anlamlı derecede azalmış olduğunu gözlemledik. Yabancı dokuya karşı CD4+ Th. yanıtının oluşmuş olabileceğini ve supresör Th.'lerinin graft bölgesine CD4 yanıtını baskılamak için göç ettiği düşünülebilir.

Lenfosit popülasyonunda HLA-DR ekspresyonunun transplant sonrasında neredeyse iki katına yakın bir artış gösterdiğini saptadık. Bu farkın T hücrelerinden kaynaklanmadığı sonucuna nakil sonrası hastalarda CD3+HLA-DR+ popülasyonun bakıp anlamlı derecede azaldığını gözlemleyerek vardık. Bu durumda, HLA-DR artışı antijen sunmak ve hazırlamakla meşgul olan B lenfositlerinin üzerindeki artıştan kaynaklanmaktadır. Bu da monositlerde olduğu gibi transplant sonrası B hücrelerinin de antijen sunma kapasitesi yüksek bir fenotipe döndüklerinin bir göstergesidir.

Sonuç olarak, bu tez çalışmasının sonunda elde edilen verilerden tüm hücre gruplarında azalma gösteren FcγR III ve lenfosit popülasyonunda artan HLA-DR hastalık takibi konusunda umut verici göstergeler olabilir. Bu amaçla, çalışmanın daha geniş bir hasta grubunda, klinik verilerle birlikte longitudinal olarak devam ettirilmesi verilerin değerini artıracaktır.

8. KAYNAKLAR

1. Liu G, Wu Y., Grong S., Zhao Y. Toll-like receptors and graft rejection. Transplant immunology (2006)
2. Cellular and Molecular Immunology Abul K. Abbas 2007
3. Janeway A., Medzhitov R. Innate immune recognition. Annu Rev Immunol 2002; 20:197-216.
4. Sundor F., Folia B.M., Toll-like receptors.I., Structure, Function and their ligands. Biologica 2005
5. Medzhitov R. Recognition of microorganisms and activation of the immun response Nature 2007
6. Akira S., Takeda K., Kaisho T. Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. Nature 2001
7. Methe H, Zimmer E., Grimm C., Nabauer M., Koglin J., Evidence for a role of Toll-like receptor 4 in development of chronic allograft rejection after cardiac trasplantation. Transplantation 2004
8. Goldstein DR, Tesar BM, Akira S., Lakkis FG., Critical role of Toll-like receptor signal adaptor protein MyD88 in acute allograft rejection. C Clin Invest 2003
9. Deng F.,J, Geng L., Qian G., Li H., Wang Y., Xie Y., Feng W., Zeng S. The Role of Toll-Like Receptor 2 and 4 in Acute Allograft Rejection After Liver Transplantation.
10. Ducloux D., Deschamps M., Yannaraki M., Ferrand C., Bamoulid J., Saas P., et al. Relevance of Toll-like receptor-4 polymorphisms in renal transplantation. Kidney Int. 2005
11. Scheibner A., Lutz M., Boodoo S., Fenton M., Powell J., Horton M., Hyaluronan Fragments Act as an Endogenous Danger Signal by Engaging TLR2. J Immunol 2006
12. Ohashi K., Burkart V., Flohe S., Kolb H., Cutting edge: heat shock protein 60 is a putative endogenous ligand of Toll-like receptor-4 complex. J Immunol 2000

13. Nimmerjahn F., Ravetch J.V.; Fcγ Receptors: Old Friends and New Family Members *Immunity* 2006
14. Kalergis A.M., Ravetch J.V., Inducing tumor immunity through the selective engagement of activating Fcγ receptors on dendritic cell. *J. Exp. Med.* 2002
15. Ivan E., Colovai A.I., Human Fc Receptors: Critical Targets in the Treatment of Autoimmune Diseases and Transplant Rejection. *J.Humanimm.* 2005
16. Nimmerjahn F., Ravetch V.J., Fcγ receptors as regulators of immune responses *Nat.rew. Immunol* 2008
17. Nimmerjahn F., Ravetch V.J.; Antibodies, Fc receptors and cancer *Current Opinion in immunology* 2007
18. Bergtold A., Desai D., Gavhane A., Clynes R., Cell Surface Recycling of Internalized Antigen Permits Dendritic Cell Priming of B cell. *Immunity* 2005
19. Kabelitz D., Expression and function of Toll-like receptors in T lymphocytes. *Current Opinion in Immunology* 2007
20. Akira S., Uematsu S., Takeuchi O. Pathogen Recognition and Innate Immunity. *Cell* 2006
21. Ertan G., Deniz G., İmmünolojide Gelişmeler V. 2007
22. Kılıçturgay K. İmmünoloji 2003
23. Akira S., Kawai T. TLR Signaling. *Seminars In Immunology* 2007
24. Akira S., Takeda K. TLR signaling pathways . *Seminars In Immunology* 2004
25. Duquesnoy R.J., Immunogenetics of the human major histocompatibility complex. *Clin Lab Med.* 1991
26. Mizutani K, Terasaki PI, Shih RN, Pei R, Ozawa M, Lee J. Frequency of MIC antibody in rejected renal transplant patients without HLA antibody. *Human Immunol.* 2006
27. Andrade C., Waddell K., Keshavjee S., Liu M., Innate Immunity and Organ Transplantation: The Potential Role of Toll-Like Receptors. *American Journal of Transplantation* 2005

28. Zhai Y, Shen XD, O'Connell R et al. Cutting edge: TLR4 activation mediates liver ischemia/reperfusion inflammatory response via IFN regulatory factor 3-dependent MyD88-independent pathway. *J Immunol* 2004
29. Müller-Ruchholtz W. Galances at the history of transplant immunology. *Transplantation Proceedings*.1999
30. Peng G, Guo Z, Kiniwa Y, Voo KS, Peng W, Fu T, Wang DY, Li Y, Wang HY, Wang RF: Toll-like receptor 8-mediated reversal of CD4⁺ regulatory T cell function. *Science* 2005
31. Crellin N.K, Garcia R.V, Hadisfar O, Allan S.E, Steiner T.S, Levings M.K: Human CD4⁺ T cells express TLR5 and its ligand flagellin enhances the suppressive capacity and expression of FOXP3 in CD4⁺CD25⁺ T regulatory cells. *J Immunol* 2005
32. Wesch D, Beetz S, Oberg HH, Marget M, Krenzelok K, Kabelitz D: Direct costimulatory effect of TLR3 ligand poly(I:C) on human $\delta\gamma$ T lymphocytes. *J Immunol* 2006
33. Komai-Koma M, Jones L, Ogg GS, Xu D, Liew FY: TLR2 is expressed on activated T cells as a costimulatory receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004,
34. Raffener B., DeJaco C., Duftner C., Kullich W., Goldberger C., Vega S.C., Keller M., Grubeck-Loebenstein B., Schirmer M. : Between adaptive and innate immunity: TLR4-mediated perforin production by CD28null T-helper cells in ankylosing spondylitis. *Arthritis Res Ther* 2005
35. Komai-Koma M., Jones L., Ogg G.S., Xu D., Liew F.Y. : TLR2 is expressed on activated T cells as a costimulatory receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004, 101:3029-3034.
36. Meyer-Bahlburg A., Rawlings D.J., B cell autonomous TLR signaling and autoimmunity. *Autoimmunity Reviews* 2008
37. Bourke E., Bosis D., Golay J., Polentarutti N., Mantovani A. The Toll-like receptor repertoire of human B lymphocyte: inducible and selective expression of TLR9 and TLR10 in normal and transformed cell. *Blood* 2003

38. Heitbrock L., The CD14⁺CD16⁺ blood monocytes: their role in infection. *J. of leucocyte biology*. 2007
39. Jiang S., Lechler R., He X., Huang J., Regulatory T cell and Transplantation tolerance. *Human Immunology* 2006
40. Chang C.C., Ciubotariu R., Manavalan J.S., Yuan J., Colovai A.I., Piazza F., Lederman S., Colonna M., Cortesini R., Dalla-Favera R., Suci-Foca N.: Tolerization of dendritic cells by t(s) cells: The crucial role of inhibitory receptors ilt3 and ilt4. *Nat Immunol*, 3(3): 237-43, 2002.
41. Demiralp E., (Transplantasyonda Klasik ve Klasik Olmayan Doku Grupları. *İmmünolojide Gelişmeler V*. 2007. s39-49.)
42. M. Azuma, J.H Philips, L.L Lanier, CD28-T Lymphocytes. Antigenic and functional properties. *J. Immunology* 1993.
43. Najafian N., Chistnis T., Salama D.A., Zhu B., Benou C., Yuan X., Clarkson M. R., Sayegh M.H., Khoury S.J. :Regulator functions of CD8⁺CD28⁺-T cells in an autoimmune disease model. *J. Clin. Invest.* 2003

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Rayfe	Soyadı	Pehlivan
Doğum Yeri	Bulgaristan	Doğum Tarihi	13/06/1983
Uyruğu	T.C.	TC Kimlik No	53491120498
E-mail	rayfe@mynet.com	Tel	02125923250

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Lisans	Ege Üniv. Fen Fak/ Biyoloji	2006
Lise	Hasan Polatkan Süper Lisesi	2001

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Biyolog	Memorial Hastanesi İmmünoloji Lab.	3 Yıl

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	iyi	orta	orta

* Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

Yabancı Dil Sınav Notu #								
KPDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
	68.000							

Başarılmış birden fazla sınav varsa, tüm sonuçlar yazılmalıdır

KPDS: Kamu Personeli Yabancı Dil Sınavı; ÜDS: Üniversitelerarası Kurul

Yabancı Dil Sınavı; IELTS: International English Language Testing System; TOEFL IBT: Test of English as a Foreign Language-Internet-Based Test TOEFL PBT: Test of English as a Foreign Language-Paper-Based Test; TOEFL CBT: Test of English as a Foreign Language-Computer-Based Test; FCE: First Certificate in English; CAE: Certificate in Advanced English; CPE: Certificate of Proficiency in English

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	55	56	
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office (Word/Excel/PowerPoint)	İyi

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin