

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

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**CANLI VERİCİDEN BÖBREK NAKLİ OLAN
HASTALARDA NAKİL SONRASI AKUT VE KRONİK
REJEKSİYON GELİŞİMİ İLE GLUTATYON S-
TRANSFERAZ (GST) POLİMORFİZMLERİ VE ANTI-
GSTT1 ANTİKORU İLİŞKİSİ**

SEBAHAT USTA AKGÜL

**DANIŞMAN
PROF.DR.FATMA SAVRAN OĞUZ**

**TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIBBİ BİYOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2010

TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

10/08 /2010

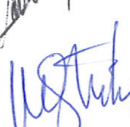
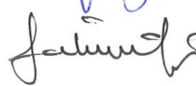


Enstitü Müdürü

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
 Program Adı : TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
 Programın seviyesi : Yüksek Lisans ☒ Doktora ☐
 Anabilim Dalı : TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
 Tez Sahibi : SEBAHAT USTA AKÇİL
 Tez Başlığı : Canlı Vericiden Böbrek Nakli Olan Hastalarda Nakil Sonrası Akut ve Kronik Rejeksiyon Gelişimi İle Glutasyon-S Transferaz (GST) Polimorfizmleri ve Anti-GSTT1 Antikoru İlişkisi
 Sınav Yeri : İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Kütüphanesi
 Sınav Tarihi : 27 / 07 / 2010

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı

1. Prof. Dr. Filiz AYDIN (İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı) 
2. Prof. Dr. Aydın TÜRKMEN (İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Bilim Dalı Nefroloji Bilim Dalı) 
3. Prof. Dr. Melek ÖZTÜRK (İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı) 
4. Prof. Dr. Fatma SAVRAN OĞUZ (İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı) 
5. Doç. Dr. Arzu ERGEN (İstanbul Üniversitesi DETAE Moleküler Tıp Anabilim Dalı) 

BEYAN

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

Sebahat Usta Akgül



İTHAF

Anne ve babama ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamı yapabilmem için bana tüm olanakları sağlayan Prof. Dr. Mahmut Çarin'e, çalışmam esnasına bana her konuda destek veren değerli danışmanım Prof.Dr. Fatma Savran Oğuz'a, değerli katkılarından dolayı Prof.Dr. Filiz Aydın, Prof.Dr. Aydın Türkmen, Prof. Dr. Mehmet Gürtekin'e; tez çalışmamın her aşamasında bana yardımcı olan Dr. Hakan Gürkan, Uzm. Dr. Yaşar Çalışkan, Dr. Çiğdem Kekik'e; tez çalışmam esnasında bana destek veren Bio. Sonay Temurhan, Araş.Gör.Gonca Karahan, Lab. Ayşe Sinaz, Lab. Emrah Korkmaz, Bio. Yusuf Gelmez, Araş.Gör. Hayriye Çiftçi, Doç.Dr. Gülbu Işıtmangil, Doç.Dr. Sebahat Aksaray ve tüm Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı çalışanlarına, her zaman beni destekleyen aileme, eşim Selim ve sevgisini tarif edemediğim oğlum Mehmet Ali'ye teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 3891

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	ii
BEYAN	iii
İTHAF	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	x
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xi
ÖZET	xv
ABSTRACT.....	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİ	3
2.1.1.TEDAVİ SEÇENEKLERİ.....	5
2.2. BÖBREK NAKLİ.....	5
2.2.1. TRANSPLANTASYON İMMÜNOBİYOLOJİSİ.....	5
2.2.2. BÜYÜK DOKU UYGUNLUK KOMPLEKSİ.....	7
2.2.2.1. MHC Sınıf I Antijenleri.....	7
2.2.2.2. MHC Sınıf II Antijenleri.....	8
2.2.2.3. MHC Sınıf III Antijenleri.....	8
2.2.3. ALLOİMMÜN YANIT.....	9
2.3. REJEKSİYON TİPLERİ.....	11
2.3.1. Hiperakut Rejeksiyon.....	11
2.3.2. Akut Rejeksiyon.....	11
2.3.2.1.Hücre Aracılı Akut Rejeksiyon.....	11
2.3.2.2. Antikor Aracılı Akut Rejeksiyon.....	11
2.3.3. Kronik Rejeksiyon.....	12
2.4. BÖBREK NAKLİNDE STANDART İMMÜNSUPRESİF TEDAVİ.....	12
2.4.1. Kalsinörin İnhibitörleri	13
2.4.2. Anti-Metabolitler	13

2.4.3. Kortikosteroidler.....	13
2.4.4. TOR İnhibitörleri.....	13
2.5. SERBEST RADİKALLER VE ANTİOKSİDAN SİSTEM.....	14
2.5.1. Serbest Oksijen Radikallerinin Kaynakları.....	16
2.5.2. Reaktif Oksijen Türleri	18
2.5.2.1. Süperoksit Radikali.....	18
2.5.2.2. Hidrojen Peroksit.....	19
2.5.2.3. Hidroksil Radikali.....	19
2.5.2.4. Peroksil Radikali.....	20
2.5.2.5. Nitrik Oksit.....	20
2.5.3. Serbest Radikallerin Etkileri.....	20
2.5.3.1. DNA ve Nükleik Asitlere Etkileri	20
2.5.3.2. Proteinlere Etkileri.....	20
2.5.3.3. Karbonhidratlara Etkileri.....	20
2.5.3.4. Lipidlere Etkileri.....	21
2.5.4. Reaktif Oksijen Türleri ve KBY İlişkisi.....	21
2.6. GLUTATYON S-TRANSFERAZLAR	24
2.6.1. Glutasyon S-Transferaz Aileleri.....	25
2.6.1.1. Sitozolik GST Gen Aileleri.....	25
Tablo 2.3 Glutasyon S-Transferaz ailesi.....	26
2.6.1.1.1. Alfa (A) Sınıfı GST Gen Ailesi.....	27
2.6.1.1.2. Mü (M) Sınıfı GST Gen Ailesi.....	27
2.6.1.1.3. Teta (T) Sınıfı GST Gen Ailesi.....	27
2.6.1.1.4. Pi (P) Sınıfı GST Gen Ailesi.....	28
2.6.1.1.5. Kappa (K) Sınıfı GST Gen Ailesi	28
2.6.1.2. Mikrozomal GST Gen Ailesi	29
2.6.2. GST Polimorfizmleri ve KBY İlişkisi	29
2.6.3. ANTİ GSTT1 ANTİKORU.....	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	33
3.1. GEREÇLER.....	33
3.1.1. Hasta Grubu.....	33
3.1.2. Kontrol Grubu.....	33
3.1.3. Kimyasal Malzemeler.....	33

3.1.4. Kullanılan Tamponlar	34
3.1.5. Agaroze Jel.....	35
3.1.6. Elektroforez Analizinde Kullanılan Standartlar.....	35
3.1.7. Kullanılan Cihazlar.....	35
3.2. YÖNTEMLER.....	36
3.2.1. DNA İzolasyonu.....	36
3.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR).....	36
3.2.2.1. Primerin Hazırlanması.....	37
3.2.2.2. PZR Reaksiyon Karışımı.....	37
3.2.2.3. PZR Programları.....	37
3.2.2.4. Agaroze Jelin Hazırlanması.....	39
3.2.2.5. PZR Ürünlerinin Jel Elektroforezinde Görüntülemesi.....	39
3.2.3. Restriksiyon Enzim Kesimi.....	39
3.2.4. ELİSA YÖNTEMİ İLE ANTİ-GSTT1 ANTİKOR TARAMA TESTİ.....	40
3.2.5. İstatistiksel Analiz.....	41
4. BULGULAR	42
4.1. HASTA GRUBUNA AİT BULGULAR	42
4.1.1.Hasta ve Kontrol Gruplarına Ait Demografik Bulgular.....	42
4.1.2.Hasta ve Kontrol Gruplarının GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 Genotip Bulguları.....	46
5. TARTIŞMA	55
KAYNAKLAR.....	64
ETİK KURUL KARARI.....	76
ÖZGEÇMİŞ.....	77

TABLolar LİSTESİ

- Tablo 2.1:** Kronik böbrek yetmezliği evreleri
- Tablo 2.2:** 2008 yılı KBY hastalarının etiyolojik nedenlere göre dağılımı
- Tablo 2.3:** GST aileleri
- Tablo 3.1:** Kullanılan primer dizileri
- Tablo 4.1:** Hasta ve kontrol gruplarının demografik özellikleri
- Tablo 4.2:** R+HG rejeksiyon tipleri
- Tablo 4.3:** Hasta-verici HLA uyumu
- Tablo 4.4:** Hasta grubu sensitizasyon bilgileri
- Tablo 4.5:** Hastaların kullandığı immüsupresif tedavi
- Tablo 4.6:** Hasta ve kontrol grubu arasında GST genotiplerinin karşılaştırılması
- Tablo 4.7:** R+HG ve vericilerinin genotip dağılımları
- Tablo 4.8:** R-HG ve vericilerinin genotip dağılımları
- Tablo 4.9:** SKG'nun genotip dağılımı
- Tablo 4.10:** GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 genotip dağılımları
- Tablo 4.11:** Rejeksiyon tipine göre GST polimorfizm dağılımları
- Tablo 4.12:** Hasta grubunda alıcı ve vericide GSTP1 uyumu
- Tablo 4.13:** Hasta grubu ve diyaliz süresi ilişkisi
- Tablo 4.14:** GSTM1(-) genotipli R+HG'nda kullanılan kalsinörin inhibitörleri
- Tablo 4.15:** Hasta ve kontrol gruplarında GST genotip frekans dağılımı
- Tablo 4.16:** Rejeksiyonlu HG ve anti-GSTT1 antikoru ilişkisi
- Tablo 4.17:** ARHG ile anti-GSTT1 antikoru ilişkisi

ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 2.1:** MHC lokusunun genleri
- Şekil 2.2a:** MHC sınıf I molekülünün yapısı
- Şekil 2.2b:** MHC sınıf II molekülünün yapısı
- Şekil 2.3:** Alloantijenlerin doğrudan ve dolaylı yolla tanınması
- Şekil 2.4:** T lenfositlerin aktivasyonuna yol açan moleküller
- Şekil 2.5:** T lenfositlerin aktivasyonunda CD40 molekülünün rolü
- Şekil 2.6:** Radikallerin yol açtığı hücre hasarı
- Şekil 2.7:** Hücrede oksidatif ve antioksidan sistemi
- Şekil 2.8:** Mitokondride radikal üretimi
- Şekil 2.9:** L-Arjininden serbest radikal oluşumu
- Şekil 2.10:** Vücuttaki önemli serbest radikaller ve serbest radikal hasarı
- Şekil 2.11:** ROS'a bağlı gelişen endotel disfonksiyonu
- Şekil 4.1:** Rejeksiyon (+) hasta grubunun rejeksiyon tipleri
- Şekil 4.2:** Hasta-verici yakınlık ilişkisi
- Şekil 4.3:** β -globin ve GSTM1 genotip analizi
- Şekil 4.3.1:** GSTM1 genotip analizi
- Şekil 4.3.2:** GSTT1 genotip analizi
- Şekil 4.3.3:** GSTP1 genotip analizi

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ABY:	Akut böbrek yetmezliği
AHR :	Akut humoral rejeksiyon
ALG:	Anti-lenfosit globin
AMR:	Antikor aracılı rejeksiyon
AR :	Hücre aracılı akut rejeksiyon
ASH :	Antijen sunan hücre
ATG:	Anti-timosit globulin
AZA:	Azatiyoprin
bç:	baz çifti
Ca+	kalsiyum
CAT:	Katalaz
CCl ₄ :	Karbontetraklorür
CCl ₃ :	Triklorometil
CD:	Cluster of differentiation-Ayırım kümesi
CDNB:	1.2-dikloro-4-nitrobenzen
CMV:	Sitonemegalovirus
CSA :	Siklosporin A
CTAB:	Hexa-dodesil Trimetil Ammonyum Bromid
DH :	Dendritik hücre
DN :	Diyabetik nefropati
dNTP:	Deoksiribonükleozid trifosfat
DSA :	Donör spesifik antikor
DTAB:	Dodesiltrimetilamonyum bromür
FLAP:	5-lipooksijenaz aktive edici protein
FDH :	Foliküler dendritik hücre
FK506 :	Takrolimus
FKBP :	Takrolimus bağlayan protein
GFR :	Glomeruler filtrasyon hızı

GS:	Glutasyon sentaz
GSH :	Glutasyon
cGS:	gama glutamil transpeptidaz
G6PD:	Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz
GST :	Glutasyon-S Transferaz
GSTM1 :	Glutasyon-S Transferaz sınıf M
GSTP1 :	Glutasyon-S Transferaz sınıf P
GST-Px:	Glutasyon peroksit
GST-Rd:	Glutasyon redüktaz
GSTT1 :	Glutasyon-S Transferaz sınıf T
HD:	Hemodiyaliz
HG:	Hasta grubu
HLA :	Human Leukocyte Antigen-İnsan Lökosit Antijen
HOCl:	Hipokloriz asit
HT :	Hipertansiyon
H ₂ O ₂ :	Hidrojen peroksit
IL :	İnterlökkin
IgM:	immünglobulin M
INF:	İnterferon
İle:	İzolösin
KAN:	Kronik allograft nefropatisi
KBY :	Kronik böbrek yetmezliği
KGN :	Kronik glomerulonefrit
KPN :	Kronik pyelonefrit
KVH:	Kardiyovasküler hastalıklar
LOOH:	hidroperoksil
LTC4S:	Lökotrien C4 sentaz
MAPEG:	Araşidonik asit ve glutasyon metabolizmasındaki membranla ilişkili proteinler
MDA:	malondialdehit
MHC :	Major Histocompatibility Complex-Büyük doku uygunluk kompleksi

MgCl ₂ :	Magnezyum klorur
MICA:	MHC sınıf I zincir ilişkili gen A
MMF:	Mikofenolat mofetil
MMP:	Mikofenolat mofetilin
MNL:	Mononüklear lenfosit
MPA:	Mikofenolik asit
MPGN:	Membranoproliferatif glomerulonefrit,
MPO:	myeloperoksidaz
MRP:	multidrug rezistans protein
N :	Negatif
NADPH :	nikotin adenin dinükleotid fosfat
NH ₂ :	amin grubu
NK :	Naturel killer-Doğal öldürücü
NO [•] :	Nitrik oksit
NOS:	Nitrikoksit sentaz
ONOOH:	peroksinitröz asit
OKT3:	Muromonab-CD3
OH [•] :	Hidroksil radikali
O ₂ ^{-2•} :	Peroksil radikali
O ₂ [•] :	Süperoksit radikali
¹ O ₂ [•] :	Singlet radikali
ONOO [•] :	Peroksinitrit
P :	Pozitif
PD:	Periton diyalizi
PKBH :	Polikistik böbrek hastalığı
PMNL:	Polimorfonüklear lenfosit
PZR:	Polimeraz zincir reaksiyonu
RAPA :	Sirolimus
RNS :	Reaktif nitrojen türü
ROS :	Reaktif oksijen türü

R+HG:	Rejeksiyon atağı geçirmiş hasta grubu
R-HG:	Rejeksiyon atağı geçirmemiş hasta grubu
SDBY:	Son dönem böbrek yetmezliği
-SH:	sülfitril grubu
SKG:	Sağlıklı kontrol grubu
SOD:	Süperoksitdismutaz
SSP :	Sequence specific primer-Diziye özgü primer
SPSS :	Statistical Package for the Social Sciences
STL :	Sitotoksik T hücre
XO:	ksantin oksidaz
TAP1:	antijen sunulumu ile ilişkili taşıyıcılar
TAP2:	antijen sunulumu ile ilişkili taşıyıcılar
TBE:	Tris-Borik asit-EDTA
TGF :	Tumor growth factor- Tümör büyüme faktörü
THR :	T hücre reseptörü
Th :	Yardımcı T hücre
TNF :	Tümör nekrotizan faktör
TND:	Türk Nefroloji Derneği
TOR :	Target of Rapamycin-Rapamisin'in hedefi
TRX:	Tiyoredoksin
Val:	Valin

ÖZET

Akgül Usta S. Canlı Vericiden Böbrek Nakli Olan Hastalarda Nakil Sonrası Akut ya da Kronik Rejeksiyon Gelişimi ile Glutasyon S-Transferaz (GST) Polimorfizmleri ve Anti-GSTT1 Antikoru İlişkisi. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ABD. Yüksek Lisans. İstanbul. 2010

Anahtar Kelimeler: Böbrek nakli, allogreft rejeksiyonu, GST polimorfizmleri, Anti-GSTT1 antikoru, oksidatif stres

Böbrek nakli, son dönem böbrek yetmezliği olan hastalar için en güncel tedavi seçeneğidir. Rejeksiyon, solid organ naklindeki başarıyı kısıtlayıcı en önemli komplikasyonlarından biridir. Böbrek naklinde, nakil öncesi ve sonrası risk değerlendirmesi uygun tedavi stratejilerinin belirlenmesi açısından önemlidir.

Böbrek, pek çok ksenobiyotik ve serbest oksijen radikali için önemli bir hedef organdır. GST (Glutasyon S-Transferaz) enzim ailesi, oksidatif strese bağlı oluşabilecek hasarı engeller. Antioksidan enzimlerin aktivitesini azaltan tipte genotipe sahip bireylerin oksidatif hasar gelişimi açısından risk altında olduğu düşünülmektedir. Kronik böbrek yetmezlikli (KBY) hastaların eritrositlerinde GST enzimlerinin aşırı üretimi gösterilmiş ve araştırmalar KBY gelişimi ve GST enzimlerinin ilişkisinin araştırılmasına doğru yönelmiştir.

Tez çalışmamıza, canlı vericiden nakil olmuş, akut ya da kronik rejeksiyon atağı geçirmiş 57 hasta/verici ve rejeksiyon atağı geçirmemiş 65 hasta/verici ile 51 sağlıklı kontrol dahil edildi. Hasta ve kontrol grubuna ait GSTM1 ve GSTT1 genotiplenmesi polimeraz zincir reaksiyonu ile yapıldı. GSTP1 ve 105 Val polimorfizmleri ise PZR'yi takiben restriksiyon enzim kesimi ile tespit edildi. GSTT1 null genotipine sahip hastalarda anti-GSTT1 antikoru durumu ELISA yöntemi kullanılarak incelendi.

Rejeksiyonlu ve rejeksiyonsuz gruptaki hastalar ile vericilerinin ve sağlıklı kontrol grubunun GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 genotip sonuçları değerlendirildiğinde hasta grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunamadı. GSTT1 null genotipli 46 hastada anti-GSTT1 antikoru taraması sonucunda 12 hastada antikoru bulundu. Anti-GSTT1 antikoru tespit edilen hastaların 5 tanesi akut rejeksiyon, 3 tanesi de kronik rejeksiyon geçirmiş hastalardı. Anti-GSTT1 antikoru pozitif olan hastalarda, anti-GSTT1 antikoru negatif olan hastalara göre akut rejeksiyon gelişme riski daha fazla olarak saptandı.

GSTM1 null genotipine sahip olan hastalar kullandıkları kalsinörin inhibitörüne göre 2 gruba ayrıldığında CsA tedavisi altındaki hastalarda, takrolimus (FK) tedavisi altındaki hastalara göre daha fazla Anti-GSTT1 antikoru saptandı. Takrolimus kullanımının, anti-GSTT1 antikorusunun oluşma riskini azalttığı düşüncesindeyiz. Ayrıca, rejeksiyon gelişiminin CsA kullanan hastalarda GSTM1 null genotipi taşıyan takrolimus kullanan hastalara göre daha fazla olduğu görüldü.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 3891

ABSTRACT

Akgül Usta S. Association of acute or chronic rejection development with glutathion-S-transferase (GST) polymorphisms and anti-GSTT1 antibody in patients transplanted from living-related kidney donors. Istanbul University, Institute of Health Sciences, Department of Medical Biology, MSc thesis. Istanbul. 2010.

Key Words: Renal transplantation, allograft rejection, GST polymorphisms, anti-GSTT1 antibody, oxidative stress.

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. T-72/15122006

Renal transplantation (tx) is the best current treatment option for patients with end stage renal disease. However, rejection of the allografts remains to be the most important barrier for a successful transplantation. Risk estimation before and after renal transplantation is important for designing the appropriate treatment strategies.

Kidney is an important target for xenobiotics and free oxygen radicals. The family of GST enzymes prevents the injury resulting from the oxidative stress. Individuals with a genotype which decreases the antioxidant enzyme activity are classified as the risk group for the development of oxidative damage. Over-production of GST enzymes in the erythrocytes of patients with chronic renal failure (CRF) has been demonstrated and this finding targeted the studies to the association of CRF development and GST enzymes.

The present study included 57 renal transplants with acute or chronic rejection and 65 patients without any rejection episodes in addition to 51 healthy controls. GSTM1 and GSTT1 genotyping of the patients and controls were performed by polymerase chain reaction (PCR). GSTP1 and 105 Val polymorphisms were detected by restriction enzymes following PCR. ELISA method was used to detect the anti-GSTT1 antibodies in patients with GSTT1 null genotype.

There was no significant difference in patients with and without rejection, their donors and the healthy controls for GSTM1, GSTT1 and GSTP genotype distribution. Of the 46 patients with GSTT1 null genotype, 12 of them had anti-GSTT1 antibodies. In patients with anti-GSTT1 antibodies, 5 had acute rejection, 3 had chronic rejection and 4 did not experience any rejection episodes. This finding suggested a trend for development of acute rejections in patients with anti-GSTT1 antibodies.

When the patients with anti-GSTT1 antibodies were divided into 2 groups according to the calcineurin inhibitors administered, the number of patients with anti-GSTT1 antibodies were higher in CsA group than in FK group, suggesting that FK might decrease formation of the anti-GSTT1 antibody. Furthermore, the development of rejections in patients with GSTM1 null genotypes were found to be higher in patients under CsA than that of who are under FK.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kronik böbrek yetmezliği, fonksiyone böbrek kitlesinin kaybına bağlı glomerül filtrasyon hızının kalıcı olarak azaldığı ve biriken üremik toksinlerin tüm sistemleri etkilediği klinik durumdur. Etiyolojide birçok hastalık bulunsa da diabetes mellitus, hipertansiyon ve glomerulonefritler altta yatan temel nedenleri oluşturmaktadır. SDBY’i olan hastalarda renal replasman tedavileri hemodiyaliz, periton diyaliz ya da böbrek naklidir (10).

Serbest radikaller, dış orbitallerinde bir veya birden fazla paylaşılmamış elektron içeren moleküllerdir. Dış orbitallerinde paylaşılmamış elektron bulunması serbest radikallerin reaktivitesini artırır (42-44).

Serbest radikal kaynakları, oksijen ve nitrojen molekülleridir. Oksijen molekülünün kısmi indirgenmesinden reaktif oksijen ürünleri (ROS) oluşur. Serbest radikalleri doğrudan nötralize eden, işleyen, bunların oluşumunu önleyen ya da bu reaktif ürünlerden hücreleri arındıran moleküller antioksidanlardır (43).

Fizyolojik şartlarda insan vücudunda oluşan ROS ile antioksidan savunma bir denge halindedir. Yoğun ROS üretimi ya da antioksidan savunmanın azalması, biyomoleküller de yapısal ve fonksiyonel modifikasyonlara yol açarak oksidatif strese neden olur. KBY de sebep-sonuç ilişkisi bilinmeyen oksidatif stres ile seyreden klinik tablolardan birisidir (1,2).

Yapılan çalışmalarda ROS’ların iskemik, toksik, immünolojik kaynaklı böbrek hasarı oluşturabildikleri gösterilmiştir. İskemi/reperfüzyon sırasında oluşan ROS’lar, hücre hasarın patogeneğinde rol oynayan en önemli faktörlerdir. Son dönem KBY hastalarında uygulanan tedavi seçeneklerinden bir tanesi olan hemodiyaliz oksidatif stresi artırır. Hemodizyaliz süresine paralel olarak artan oksidatif stres daha sonra gerçekleşecek muhtemel böbrek nakli içinde önemlidir (3,4).

Renal transplantasyondaki önemli gelişmelere rağmen sağkalım, nakil sonrası mortalitenin en önemli sebebi olan kardiyovasküler hastalık (KVH)’larla sınırlıdır. Nakil sonrası KVH gelişimindeki risk faktörlerine bakıldığında inflamasyon ve oksidatif stres gibi ‘yeni’ risk faktörlerinin varlığından söz edilmektedir (5). Oksidatif stresin hasar verici etkisine karşı bir bariyer GST enzimleridir. GST genetik varyasyonlarının, oksidatif metabolizmaların kaybolan etkileri ile ilişkili hastalıklarda bireysel yatkınlıkları arttırdığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (6).

GST polimorfizmleri en yaygın olarak, sitozolde bulunan 3 izoenzimde incelenmiştir. Bunlar GSTM1, GSTT1 ve GSTP1'dir. GSTM1 ve GSTT1 null genotipi olan bireylerde bu GST'lerin aktivasyonu tamamen kaybolur. Aksine, GSTP1 varyasyonu, kodlanan iki bölgede tek nükleotid polimorfizmi gösterir ve aktiviteyi yok etmez ama bazı substratlara karşı düşük aktiviteyi tetiklerken bazılarına karşı yüksek aktiviteyi uyarır (7).

Transplantasyon başarısını etkileyen en önemli engel, alıcı ve verici arasındaki genetik farklılıklardır. İnsan lökosit antijen (HLA) sisteminin yanı sıra GSTT1 geni ve MICA gibi farklı antijenlerde immün cevap için bir hedef oluşturabilir ve antikor ilişkili rejeksiyon gelişimine yardımcı olabilir (8).

Transplantasyon sonrası kullanılan immünsupresif tedavi hem toksisite hem de rejeksiyon için bir risk oluşturmamalıdır. Bu dengenin korunması güçtür. Siklosporin A (CsA) ve Takrolimus (Fk) gibi kalsinörin inhibitörleri kullanımı, nefrotoksisiteye bağlı olarak allograft sağkalım süresinin kısılmasına neden olabilir. GST'lar kullanılan immünsupresif ilaçların toksik artıklarının metabolizmasında önemlidirler (149).

Bu tez çalışmasının amacı, rejeksiyonlu ve rejeksiyonsuz hastalarda GSTM1, GSTT1, GSTP1 genotip tayini ve anti-GSTT1 antikoru taraması yaparak, bu genotiplerin ve anti-GSTT1 antikorlarının son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) ve rejeksiyon ile ilişkisini araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİ

Kronik böbrek yetmezliği (KBY), çeşitli hastalıklara bağlı olarak nefronların ilerleyici ve geri dönüşümsüz kaybı ile karakterize bir sendromdur. KBY’de glomerüler filtrasyon hızında (GFR) azalma söz konusudur (Tablo 2.1) (9,10). Böbreklerin vücudun gereksinimini karşılayamadığı döneme, son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) denir. SDBY tanısı konulan hastaya kronik düzenli hemodiyaliz, kronik peritoneal diyaliz veya böbrek transplantasyonu gibi replasman tedavi yöntemlerinden birini uygulamak şarttır (10).

Tablo 2.1. Kronik böbrek yetmezliğinin evreleri

Evre	Tanım	GFR (ml/dk/1.73m ²)
1	Normal veya artmış GFR ile birlikte böbrek hasarı	> 90
2	Hafif düzeyde azalmış GFR ile böbrek hasarı	60-89
3	Orta derecede azalmış GFR	30-59
4	Ciddi derecede azalmış GFR	15-29
5	Böbrek yetmezliği	<15

İlerleyici böbrek hasarının oluşum mekanizmaları henüz yeterince aydınlatılamamıştır. Hastalığın ilerlediği dönem süresince nefron sayısı azaldığı gibi sağlam kalan nefronlarda da anatomik ve fonksiyonel adaptasyon dönemi başlamaktadır. Bu dönemde sağlam nefronlarda hipertrofi, artmış solüt yükü (hiperfiltrasyon), afferent arteriyollerde rezistans değişiklikleri, lipid, karbonhidrat ve aminoasit metabolizmalarındaki değişiklikler, artmış amonyak yapımı, proteinüri,

nitrikoksitde azalma ve serbest oksijen radikallerinde artma gibi multifaktöriyel mekanizmaların etkileşimi söz konusudur (9,10,11).

Ülkemizde SDBY'ı gelişimi nedenleri arasında, çocukluk döneminde genel olarak konjenital anomaliler ve enfeksiyonlar ilk sırayı alırken, erişkinlerde kronik glomerülonefritler, hipertansiyon, diabetik nefropati, ürolojik hastalıklar ve kronik tubulointerstitiyel/pyelonefritler ön sıraları almaktadır. Etiyolojide birçok hastalık bulunsa da diabetes mellitus, hipertansiyon ve glomerulonefritler altta yatan temel nedenleri oluşturmaktadır (10,11,12). Bu konuda Türk Nefroloji Derneği'nin (TND) yaptığı çalışmada elde edilen veriler Tablo 2.2'de gösterilmiştir (12).

Tablo 2.2. 2008 yılı KBY hastalarının etiyolojik nedenlere göre dağılımı

ETİYOLOJİ	HASTA SAYISI	YÜZDE
Diabetes Mellitus	10762	%27,9
Hipertansiyon	10177	%26,4
Glomerülonefrit	9001	%8,7
Polikistik böbrek hastalıkları	1707	%4,4
Piyelonefrit	1616	%4,2
Amiloidoz	793	%2,2
Renal vasküler hastalıklar	477	%1,2
Bilinen diğer nedenler	3005	%7,8
Nedeni bilinmeyenler	6210	%16,1
Kayıp (bilgi yok)	514	%1,3
Toplam	38604	%100

Fizyolojik şartlarda insan vücudunda oluşan reaktif oksijen türleri (ROS) ile antioksidan savunma bir denge halindedir. Yoğun ROS üretimi ya da antioksidan defansın azalması, biyomoleküllerde yapısal ve fonksiyonel modifikasyonlara yol açarak oksidatif strese neden olur. Kronik böbrek yetmezliği de sebep-sonuç ilişkisi bilinmeyen oksidatif stres ile seyreden klinik tablolardan birisidir (1,2).

2.1.1. TEDAVİ SEÇENEKLERİ

SDBY’i olan hastalarda renal replasman tedavileri hemodiyaliz, periton diyaliz ya da böbrek naklidir. SDBY olan hastalar her üç tedaviden de zaman içerisinde yararlanmak durumunda kalabilirler (11,13).

Hemodiyaliz (HD): Diyaliz yarı geçirgen bir membran aracılığı ile hastanın kanı ve uygun diyaliz solüsyonu arasında sıvı-solüt değişimini esas alan bir tedavi şeklidir. Diffüzyon ve ultrafiltrasyon olmak üzere iki temel prensibi vardır (14). Hastanın kanının antikoagülasyonla vücut dışında bir makine yardımıyla yarı geçirgen bir membrandan geçirilerek sıvı-solüt içeriğinin yeniden hastaya verilmesi işlemidir (9,11). Ülkemizde 2008 yılı değerlendirmelerine göre 46659 SDBY hastası (%77) hemodiyalize girmektedir (12).

Periton diyalizi (PD): Peritonun, sıvı ve solüt geçirgenlik özelliklerinin endojen bir diyaliz membranı olarak kullanıldığı periton diyalizi, hemodiyalize alternatif olarak yaygın bir uygulamadır (15). Periton boşluğundaki solüt ve su absorpsiyonu, periton zarındaki kapiller dolaşım ve lenfatikler yardımıyla olur (11,16). Ülkemizde 2008 yılı değerlendirmelerine göre 6109 periton diyalizi yapan SDBY hastası (%10.1) vardır (12).

Böbrek nakli: SDBY hastaları için en etkin tedavi şeklidir. Ülkemizde 2008 yılı değerlendirmelerine göre SDBY hastalarının 7824’ü (%12.9) böbrek nakli olmuştur (12).

2.2. BÖBREK NAKLİ

Günümüzde böbrek nakli SDBY’nin en seçkin tedavi şeklidir. Nakil, canlı ya da kadavra vericiden yapılabilir. İlk başarılı böbrek ameliyatı 1954 yılında Murray ve arkadaşları tarafından Amerika Birleşik Devletlerinde yapılmıştır. Günümüz koşullarında ülkemizde 25 merkezde böbrek nakli başarı ile yapılmaktadır (12).

2.2.1. TRANSPLANTASYON İMMÜNOBİYOLOJİSİ

Transplantasyonun bugünkü başarılı konumuna ulaşmasında immünolojideki gelişmeler ve rejeksiyon mekanizmalarının anlaşılması etkili olmuştur. Transplantasyon başarısını etkileyen en önemli engel, alıcı ve verici arasında genetik farklılıktır. Böbrek

nakli öncesinde alıcı ve verici arasındaki uyumu belirlemek için ABO kan grubu tayini, insan lökosit antijenleri (Human Leukocyte Antigen-HLA) doku grubu tiplendirmesi, anti-HLA antikorlarının ölçülmesi, cross-match testi gibi immünolojik değerlendirmeler yapılmaktadır. Bir böbrek naklinin başarısı, yapılan immünolojik testlerin sonuçlarına ve uygun immünsüpresif tedaviye bağlıdır (18,19).

ABO kan grubu uyumu:

ABO kan grubu antijenleri kuvvetli nakil antijenleri gibi davranırlar ve kan transfüzyonu kurallarına uyulmadan yapılan organ nakilleri, genellikle geri dönüşümsüz hiperakut rejeksiyon ile sonuçlanır (18,20)

HLA doku tiplendirmesi:

Doku uyumunu araştırmak için alıcı ve verici arasında HLA tiplendirmesi serolojik ya da DNA tipleme yöntemleri ile yapılmaktadır. HLA uyumunun uzun dönem greft kayıp oranlarına etkisi sürmektedir. Nakledilen böbreğin sağkalımı, HLA uyumsuzluğunun artmasıyla orantılı olarak azalmaktadır (18,21).

Anti-HLA antikorlarının ölçülmesi (Panel Reaktif Antikor-PRA):

Kan transfüzyonu, gebelik ve önceki nakil hikayesi sonucu hastada oluşmuş anti-HLA antikorlarının belirlenmesi esasına dayanır. Belirlenen antikorlar IgG sınıfı antikorlardır. IgM antikorları genel olarak otoantikordur ve genellikle ihmal edilirler (18,21,22).

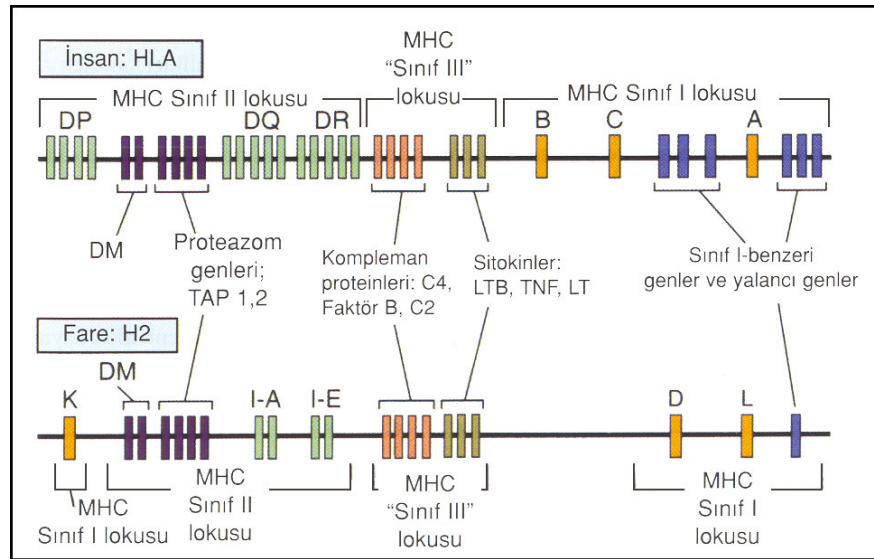
Cross-match (Çapraz karşılaştırma) testi:

Cross-match testinde olası verici lenfositleri, hasta serumunun hedef hücreleri olarak kullanılır. Alıcıda, vericiye karşı oluşmuş anti-HLA antikorlarının bulunup bulunmadığına bakılır. Böbrek naklinde bu antikorların hedefi vasküler endoteldeki HLA antijenleridir. Endotelde oluşan HLA antijeni-antikor kompleksi, komplemanı aktive ederek hücre hasarına yol açar (23).

2.2.2. BÜYÜK DOKU UYGUNLUK KOMPLEKSİ (Major Histocompatibility Complex-MHC)

Büyük doku uygunluk kompleksi, insanda 6. kromozomun kısa kolu üzerinde yer almaktadır (Şekil 2.1). Polimorfik yapıdaki bu bölge, HLA olarak bilinen hücre yüzeyi molekülleri olan antijenleri kodlar. Hastaya takılan greftin yabancı bir doku olup olmadığının tanınması MHC'nin görevidir. Yabancı HLA molekülleri immün cevabın ana hedefleridir ve nakil edilen organ ve dokuların reddi bunların tanınıp yok edilmeye çalışılması nedeni ile gelişir (24,25).

MHC kompleksinde immünolojik işlevlerine, hücrelerdeki dağılımına, şimik ve kristallografik yapılarına göre üç grup gen bölgesi tanımlanmıştır (26).



Şekil 2.1. MHC lokusunun genleri

2.2.2.1. MHC Sınıf I Antijenleri:

MHC sınıf I antijenleri, tüm hücre yüzeylerinde bulunmaktadır. MHC sınıf I molekülleri, farklı iki zincirden oluşmaktadır. Bunlardan biri, 6. kromozom üzerindeki MHC genleri tarafından kodlanan ve ileri derecede polimorfik polipeptid zinciri olan alfa ağır zinciri ($\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$) ile, diğeri 15. kromozomdaki genler tarafından kodlanan monomorfik beta-2 mikroglobulin zincirinden oluşmaktadır (Şekil 2.2a) (24,25). MHC sınıf I gen bölgesinde HLA-A, B, C, D,E, F, G, H, J ve X lokusları vardır. Böbrek nakli

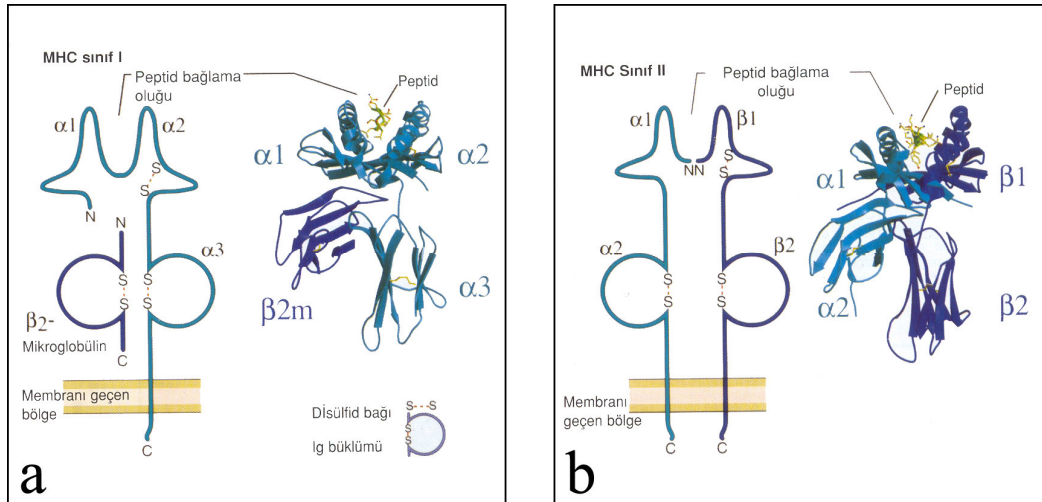
öncesi immünolojik değerlendirmeler yapılırken HLA-A, B, C antijenleri uyumuna bakılır (26).

2.2.2.2. MHC Sınıf II Antijenleri:

MHC sınıf II antijenleri, antijen sunan hücreler (ASH), immün sistemin timik epitelyal hücreleri ve aktive T lenfositler gibi belirli hücre gruplarında dağılım gösterirler.

MHC sınıf II molekülleri, MHC genleri tarafından kodlanan iki polimorfik zincirden oluşmaktadır (α ve β zinciri). α ve β zincirlerinin hücre dışında kalan kısmı, iki bölümden oluşmaktadır ($\alpha 1$, $\alpha 2$ ve $\beta 1$, $\beta 2$) (Şekil 2.2b). $\beta 2$ alt birimi CD4+ T yardımcı lenfositlerin bağlanma noktasını içerir. CD4+ T yardımcı (Th) lenfositleri aktive ederek immün yanıtı başlatır.

MHC sınıf II gen bölgesinde, HLA-DR, DQ, DP, TAP1, TAP2, LMP2 ve LMP lokusları yer alır. Bunlardan HLA-DR, DQ, DP antijenleri nakil öncesi immünolojik açıdan değerlendirilir (24,25,26).



Şekil 2.2: a) Sınıf I MHC molekülünün yapısı, b) Sınıf II MHC molekülünün yapısı

2.2.2.3. MHC Sınıf III Genleri:

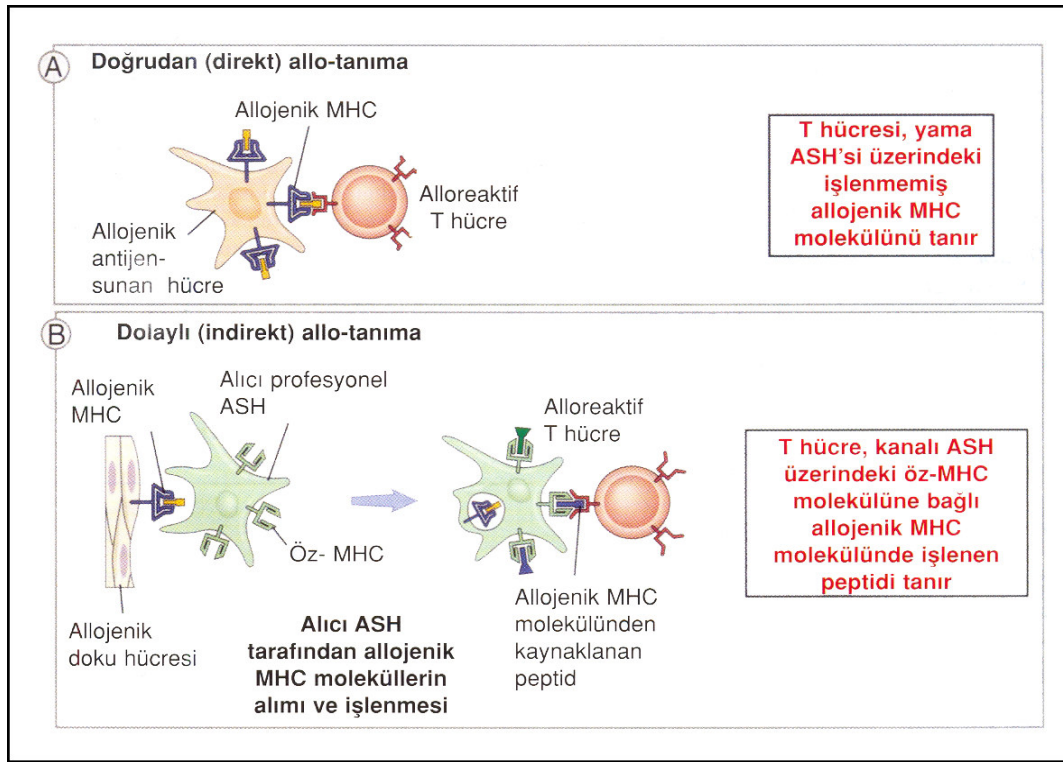
MHC sınıf I ve sınıf II genleri arasında yer alan birkaç kompleman geni (C2, C4a, C4b ve Faktör B), Tümör Nekrozis Faktör (TNF- α , TNF- β) ve 151 şok proteinlerini kodlayan genler bulunmaktadır (26).

2.2.3. ALLOİMMÜN YANIT

İmmün yanıtın temel hedefi, yabancı MHC molekülünün T hücre tarafından tanınmasıdır.

T hücreleri, allojenik MHC moleküllerini iki farklı yolla tanır (24,27).

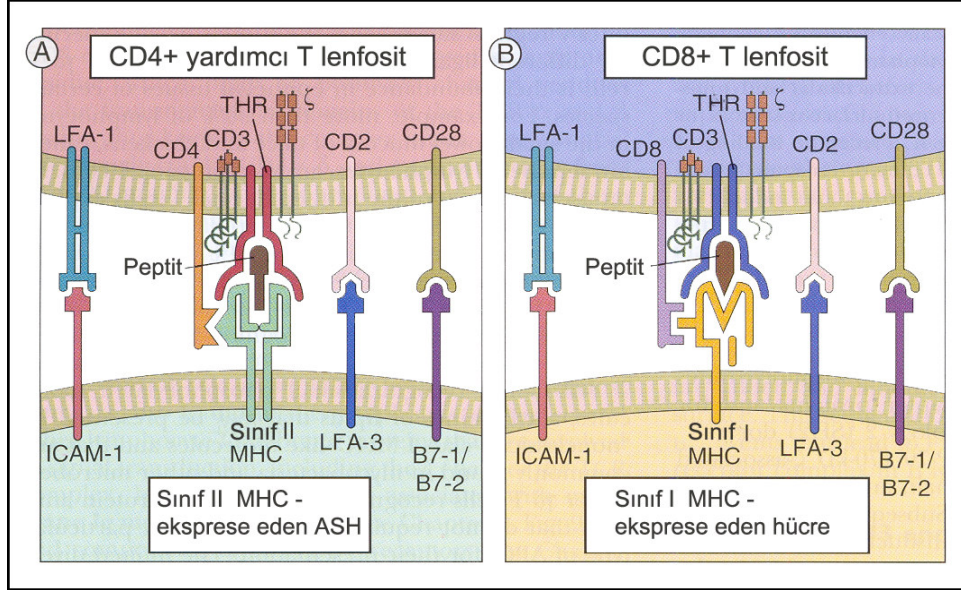
- 1) Doğrudan tanıma; alıcının T hücreleri, verici ASH'leri tarafından sunulan MHC moleküllerini tanıyarak T hücrelerinin aktive olmasını sağlar.
- 2) Dolaylı tanıma; alıcı ASH tarafından allojenik MHC moleküllerin alınması, işlenmesi ve T hücre reseptörlerine sunulması ile hem Th lenfositleri hem de alloreaktif sitotoksik T lenfosit (STL)'leri uyarabilir (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Alloantijenlerin doğrudan ve dolaylı yolla tanınması

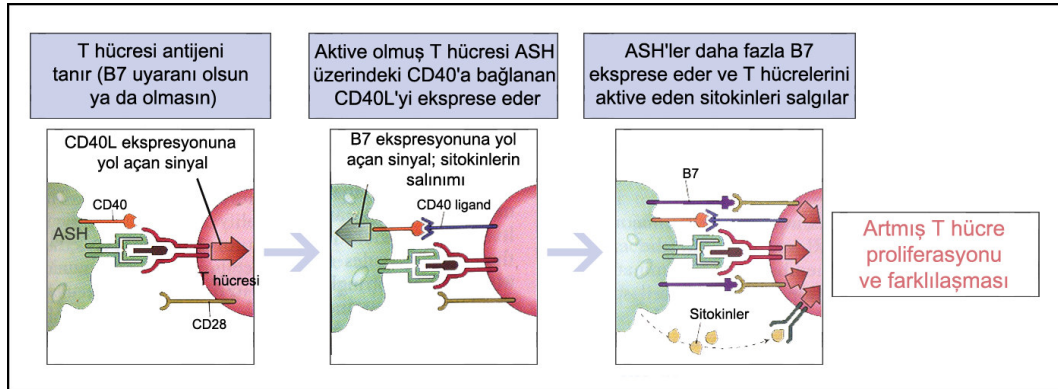
2.2.3.1. T lenfosit aktivasyonu: Uyarılar sonucu antijene özgül T lenfosit sitokinleri salgılanır. Bu sitokinler, T lenfositlerin çoğalmasını uyarır (klonal genişleme). T hücre molekülleri antijeni tanıyarak hücre içerisine sinyal iletirler. Sinyalin başlayabilmesi için iki veya daha fazla reseptörün çapraz bağlantı yapması gerekir. T hücre reseptörü (THR), CD3 ve ζ zinciri, THR kompleksini oluşturur. THR kompleksinde antijeni

tanıma görevi, THR α ve β zinciri tarafından yapılırken, sinyal iletimi CD3 ve ζ proteinleri tarafından gerçekleştirilir (24,28,29).



Şekil 2.4. T lenfositlerin aktivasyonuna yol açan moleküller

T hücrelerindeki adezyon molekülleri ASH'deki ligantlarını tanırlar ve bağlanırlar. T hücre aktivasyonu, ASH'deki eş-uyaranların tanınmasını da gerektirir. T hücre için en iyi tanımlanmış eş-uyaranlar B7-1(CD80) ve B7-2 (CD86) olarak adlandırılan proteinlerdir (Şekil 2.4). T hücre eş-uyaran sinyallerini artıran diğer bir molekül T hücrelerinde CD40 ligandı (CD154) ve ASH üzerinde yer alan CD40 molekülüdür (Şekil 2.5) (24,29,30).



Şekil 2.5. T hücre aktivasyonunda CD40 molekülünün rolü

2.3. REJEKSİYON TİPLERİ

Günümüzde, immünsüpresif tedavide büyük başarılar elde edilmesine karşın, rejeksiyon halen büyük sorun olarak görülmektedir. Rejeksiyonları üç bölümde incelemek mümkündür (24,27,30).

2.3.1. Hiperakut rejeksiyon (HAR):

Transplantasyondan hemen sonra ya da 2-3 gün içinde oluşur. Sıklıkla polimorf çekirdekli lökositler içeren trombüslerin oluştuğu, arter, arteriol ve glomerülleri tutan, hızlı ve yaygın vasküler trombozisle seyreder. Genellikle alıcının verici antijenlerine karşı önceden duyarlı olması (antikor varlığı) nedeniyle oluşur. Alıcı ve verici arasındaki ABO uyumsuzluğu da hiperakut rejeksiyona sebep olabilir. Operasyon sırasında greftin çıkarılması gerekir (24,31,32).

2.3.2. Akut rejeksiyon

Nakil sonrası herhangi bir dönemde grefte yönelik immünolojik hasar ile birlikte fonksiyonlarının akut olarak bozulmasıdır. Akut rejeksiyon nakilden sonraki 3-6 ay içinde gerçekleşirse erken akut rejeksiyon olarak adlandırılır. Genellikle akut rejeksiyonların %75 kadarı erken dönemde ortaya çıkar. Sonraki dönemde çıkan akut rejeksiyonlar geç akut rejeksiyon olarak adlandırılır ve hem tedaviye olan yanıtları hem de prognoza olan etkisi daha kötüdür. İki farklı immünopatolojik mekanizma akut rejeksiyonu iki alt gruba ayırır (24,30).

2.3.2.1. Hücre Aracılı Akut rejeksiyon (AR):

Akut rejeksiyonun en sık görülen türüdür. Serum kreatinin asemptomatik artışı, ateş, greft duyarlılığı, idrar miktarında azalma, tansiyonda yükselme gibi belirtilerle ortaya çıkar. Akut hücre aracılı rejeksiyonda histopatolojik olarak, intertisyumun mononükleer hücreler (MNL) ya da bazen eozinofiller ile infiltrasyonu, tubülitis denen, tubüler epitelyum hücrelerindeki dejeneratif değişikliklere eşlik eden, tubül lümen ve duvarına yayılmış lenfosit ve monosit görüntüsü ile karakterizedir. Polinükleer hücre (PNL) infiltrasyonu görülmez. Hücre aracılı akut rejeksiyonların büyük kesimi yüksek doz steroid tedavisine cevap verir (24,31,32).

2.3.2.2. Antikor Aracılı Akut Rejeksiyon (Akut Humoral Rejeksiyon) (AHR):

Antikor aracılı akut rejeksiyon, vericinin kan grubu ya da HLA antijenlerine karşı nakilden sonraki hafta ya da aylarda yeni oluşan antikörlerin yarattığı tablodur.

Histopatolojik olarak, peritübüler kapillerde kompleman 4 (C4)'ün bir yıkım ürünü olan C4d'nin birikimi ya da arteriyel fibrinoid nekroz görülür (33,34,35).

2.3.3. Kronik rejeksiyon (KR):

KR, uzun dönemdeki greft fonksiyon bozuklukları için kullanılan genel bir tanımlamadır. Bugün için kronik allogreft nefropatisi (KAN) terminolojisi tercih edilir. Uzun dönemdeki allogreft fonksiyon bozukluğunun altında immünolojik ve immünolojik olmayan nedenler yatar. İmmünolojik nedenler arasında HLA uyumu, geçirilmiş akut rejeksiyon atakları, PRA düzeyi, donör spesifik antikor (DSA) varlığı, sitomegalovirüs (CMV) enfeksiyonu ve yetersiz immünsupresyon yer alır. İmmünolojik olmayan faktörler, nakil zamanındaki iskemik hasar, hipertansiyon, hiperlipidemi, proteinüri, ilaç toksisitesi, alıcı verici yaşı, ırk, cinsiyet ve greftteki nefron sayısıdır. Histopatolojik olarak, interstisyel infiltrasyon ve fibrozis, tubüler atrofi, glomerüloskleroz, bazal membranda Membranoproliferatif Glomerülonefrit (MPGN)'ye benzer çift kontur görünümü, damar duvarında kalınlaşma, lümende daralma gözlenir (24,30,35,36).

2.4. BÖBREK NAKLİNDE STANDART İMMÜNSUPRESİF TEDAVİ

1950 yılında identik ikizler arasında yapılan böbrek naklinde immünsupresyon tekniği olarak tüm vücut ışınlanmıştır. 1960'lı yılların başında azathioprin kullanılırken, kısa bir süre sonra prednizolan ile ikili tedaviye başlanmıştır. 1970'li yılların ortalarına gelindiğinde poliklonal antikor preparatları olan anti-timosit globulin (ATG) ve antilenfosit globulin (ALG), indüksiyon ya da steroide dirençli rejeksiyon tedavisinde kullanılmaya başlandı. Böylece o yıllarda bir yıllık başarı oranı %50 ve mortalite oranı da %10-20 olmuştur.

1980'li yıllarda siklosporinin keşfi daha etkin immünsupresyon tedavi, daha az kortikosteroid kullanılmasını sağlamış ve 1 yıllık greft sağkalım oranı %80'e çıkmış ve mortalite oranı da belirgin olarak azalmıştır. Siklosporin ve kortikosteroid ikili tedavisine azathioprin'in de eklenmesiyle bugün kullanılan standart üçlü tedavi protokolü şekillenmiştir.

1990 yılından sonra takrolimus ve mikofenolat mofetil (MMF) kullanıma girmiştir. Takrolimus, siklosporine alternatif olarak üretilmiştir. Başlangıçta karaciğer

nakillerinde kullanılsa da daha sonra böbrek nakillerinde de kullanılmaya başlandı. 1999 yılında da sirolimus (RAPA, rapamisin) kullanıma girmiştir (37).

Günümüzde organ naklinde kullanılan ilaçlar, kalsinörin inhibitörleri, antimetabolitler, kortikosteroidler ve mTOR (rapamisinin memelilerdeki hedefi) inhibitörleridir. Nakil sonrası hastalar genellikle kalsinörin inhibitörü, antimetabolit ve kortikosteroidten oluşan standart üçlü tedavi kullanmaktadır. Anti-rejeksiyon tedavisi olarak intravenöz metilprednizolon, muro monab (OKT3), ATG ve Humanize anti-CD25 kullanılmaktadır (38,39).

2.4.1. Kalsinörin inhibitörleri: Siklosporin A (CsA) ve takrolimus (FK), biyokimyasal olarak farklı olsalar da etki mekanizmaları açısından benzerdirler. İmmünsüpresif etkileri, kendilerine özgü sitoplazmik reseptör proteinleri, CsA'nın siklofilin, FK'nın takrolimus bağlayıcı protein (FKBP) ile bileşik oluşturmaya bağlıdır. Bu bileşikler, NF-AT (nuclear factor of activated T cell)'yi defosforile ederek FK'ya bağlanırlar. FK'ların inhibisyonu, T hücre aktivasyonunu artıran sitokinlerin (interlökin (IL)-2, IL-4, interferon (IFN)-gama, TNF-alfa) ekspresyonunu bozar. Sonuç olarak kalsinörin inhibisyonunun, sitokin ekspresyonu ve lenfosit farklılaşması üzerine etkileri vardır (40).

2.4.2. Anti-Metabolitler: Azathioprin (AZA) ve MMF bu grupta yer alan immünsüpresiflerdir. RNA sentez ve metabolizmasını bozan bir pürin analogudur. AZA, hücresel DNA ile birleşerek pürin nükleotid sentezini inhibe eder. AZA gen aktivasyonunu önlemez fakat gen kopyalanmasını ve sonuç olarak T hücre aktivasyonunu, kemik iliğinde promiyelositlerin farklılaşmasını inhibe eder. MMF, aktif maddesi mikofenolik asit (MPA)'dır. MMF, T ve B hücre farklılaşmasını inhibe eder, antikor oluşumunu, STL oluşumunu ve lenfositlerin vasküler endotelial hücrelere bağlanmasını engeller (37,40).

2.4.3. Kortikosteroidler: Kortikosteroidler, T ve ASH'lerden salınan sitokin (IL-1, IL-2, IL-3, IL-6, TNF-alfa, IFN-gama) ve sitokin reseptörleri ile dendritik hücrelerin işlevlerini inhibe ederler (24,41).

2.4.4. TOR inhibitörleri: Sirolimus-RAPA, yapısal olarak FK'ya benzeyen bir makrolid antibiyotiktir. FK gibi FKBP'ye bağlanır. Sirolimus-FKBP bileşiği kalsinörin yerine TOR (Rapamisinin hedefi) proteinine bağlanır. TOR'un inhibisyonu, sitokin bağımlı hücresel proliferasyonu, hücre bölünme siklusunun G1-S fazında yavaşlatmaktadır (37).

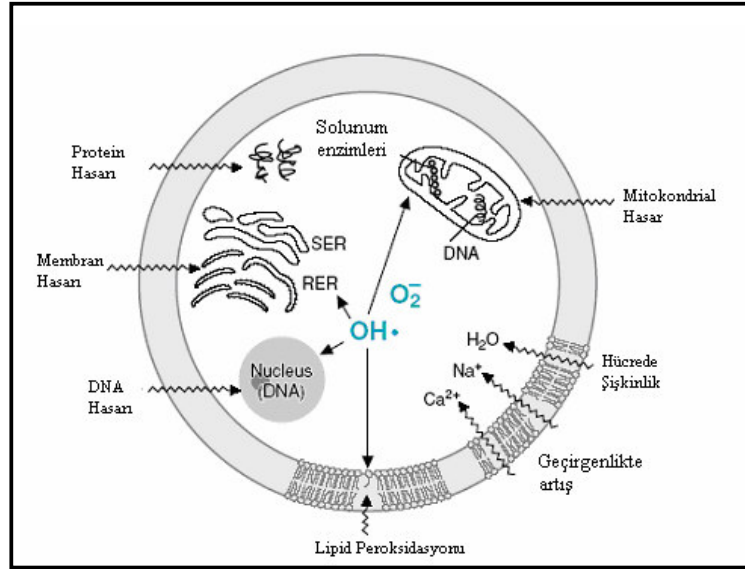
2.5. SERBEST RADİKALLER VE ANTİOKSİDAN SİSTEM

Serbest radikaller, dış orbitallerinde bir veya birden fazla paylaşılmamış elektron içeren moleküllerdir. Dış orbitallerinde paylaşılmamış elektron bulunması serbest radikallerin reaktivitesini artırır (42-44).

Serbest radikal kaynakları, oksijen ve nitrojen molekülleridir. Oksijen molekülünün kısmi indirgenmesinden ROS olan hidroksil ($\text{OH}^\bullet$) radikali, peroksit ($\text{O}_2^{\bullet -}$) radikali ve süperoksit radikali ($\text{O}_2^{\bullet -}$) oluşmaktadır. Ayrıca tekli oksijen (O_2^1) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) molekülleri radikal olmayan reaktif oksijen türevleridir. Oksijen kaynaklı olmayan diğer serbest radikaller ise nitrik oksit ($\text{NO}^\bullet$), peroksinitrit ($\text{ONOO}^\bullet$), lipidlerin peroksidasyonu sırasında oluşan lipid peroksil ($\text{ROO}^\bullet$) ve karaciğerdeki karbon tetraklorür (CCl_4) metabolizması sırasında oluşan triklorometil ($\text{CCl}_3^\bullet$) radikalidir (45-48).

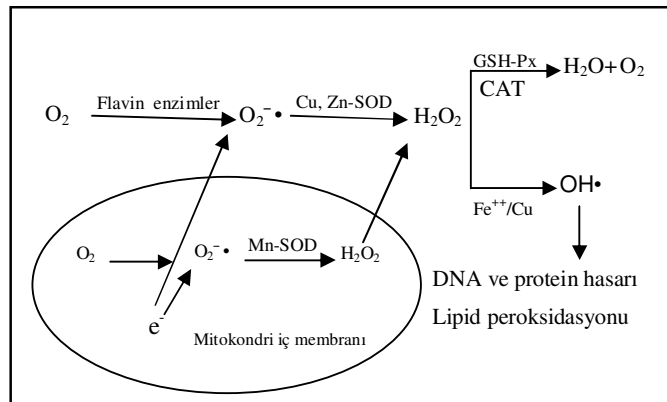
Serbest radikalleri doğrudan nötralize eden, işleyen, bunların oluşumunu önleyen ya da bu reaktif ürünlerden hücreleri arındıran moleküller antioksidanlardır. Antioksidanlar, okside olabilen substrata kıyasla düşük konsantrasyonda bulunurlar ve bu substratın oksidasyonunu belirgin şekilde geciktirir veya önlerler (49,50).

Fizyolojik koşullarda, organizmada oksidan ve antioksidan mekanizmalar bir denge halinde (redoks homeostazı) bulunmaktadır. Serbest radikallerin artması veya antioksidanların azalması oksidatif strese, bu da oksidatif hasara neden olmaktadır. Geri dönüşümsüz oksidatif hasarın birikimi ile önce hücre daha sonra doku ve organ sistemlerinde yapısal ve işlevsel bozukluklar ortaya çıkabilir (Şekil 2.6). Oksidatif stresin inflamasyon, yaşlanma, ateroskleroz, hipertansiyon, iskemik hasar, karsinogenez, mutagenez, immünolojik, nörolojik, ürolojik hastalıklar ve sindirim sistemi, göz, deri, akciğer, böbrek, karaciğer hastalıklarının patogeneğinde ve ilerlemesinde rolü olduğu kanıtlanmıştır (51-54).



Şekil 2.6: Radikallerin yol açtığı hücre hasarı

ROS oluşumu ve antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki denge, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, nitrik oksit sentaz (NOS), glutatyon s-transferaz (GST), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GSH-Rd), çoklu ilaç direnç proteini (multidrug resistans protein-MRP), glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD), gama glutamil transpeptidaz (cGS), gama glutamil sisteinil sentetaz (cGCS), glutatyon sentaz (GS) gibi enzimlerin aktivitesine, bir tiyol olan glutatyon (GSH) ve tiyoredoksin (TRX) gibi antioksidan moleküllere bağlıdır. Ancak bu çevresel faktörlere bağlı, öngürülmesi zor ve oldukça hassas bir dengedir (Şekil 2.7) (49,54,55).



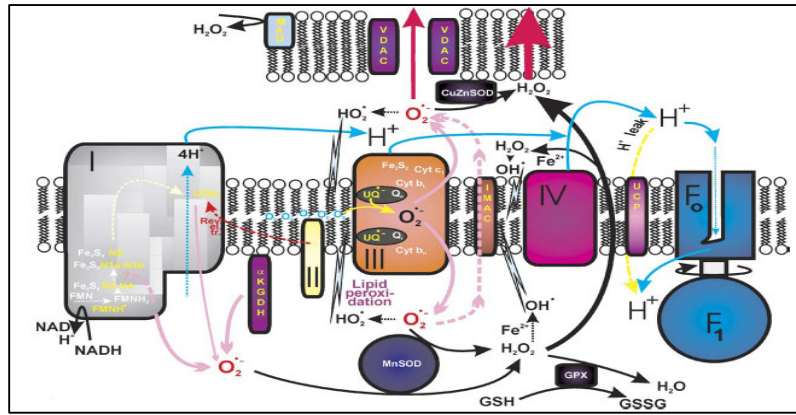
Şekil 2.7: Hücrede oksidatif ve antioksidan sistemi

Organizmada oksidatif strese neden olan radikal yapımı, iç ve çevresel faktörleri içeren çeşitli mekanizmalarla gerçekleşir. İç faktörler, mitokondriyal elektron taşıma

sistemi, solunumsal patlama, enzim reaksiyonları (monoamin oksidaz, ksantin oksidaz), yaşlanma ve otooksidasyon tepkimeleridir. Çevresel faktörler ise sigara dumanı, ilaçlar, alkol, kükürt dioksit, karbon monoksit, hava kirliliği, ultraviyole ışınları, iyonize radyasyon ve ksenobiyotiklerdir (56-58).

2.5.1. Serbest Oksijen Radikallerinin Kaynakları

1. Fagositler: Aktive olmuş fagositik hücreler daha fazla oksijen tüketir, artmış bu oksidatif durum da daha fazla süperoksit oluşmasıyla sonuçlanır .
2. Mitokondriyal Elektron Transport Sistemi: Mitokondri, hücrede oksijenin esas tüketildiği yerdir. Solunumu düzenleyen endojen faktörler mitokondride radikal üretime neden olur (Şekil 2.8) (54).



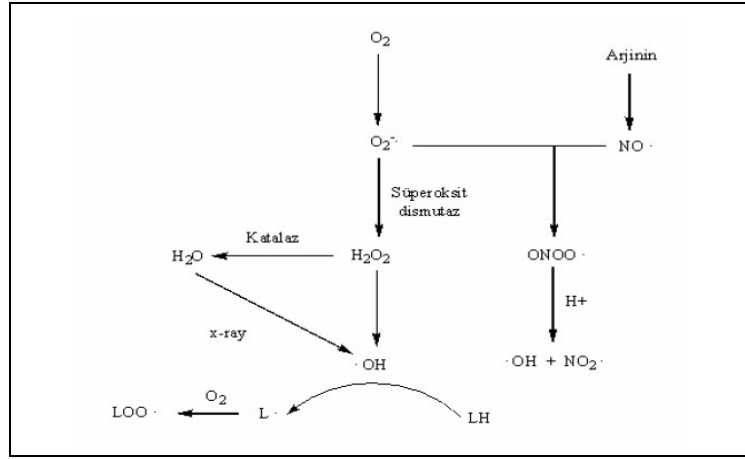
Şekil 2.8: Mitokondride radikal üretimi

3. Mikrozomal Elektron Transport Sistemi: Endoplazmik retikulum ve nükleer membranlarda, serbest radikal üretime neden olan birçok oksidaz enzim sistemi bulunur (59,60).
4. Oksidan enzimler: Siklooksijenaz, lipooksijenaz, ksantin oksidaz gibi birçok enzim katalitik siklus sırasında serbest radikal oluşturur. Bunlardan ksantin oksidaz (XO), iskemi sonrası reperfüzyon hasarına neden olur (61).
5. Endojen Substratların Otooksidasyonu: Noradrenalin ve dopaminin otooksidasyonu sonucu reaktif oksijen türleri oluşur.
6. Peroksizomal Enzimler: Deaminoasitoksidaz, uratoksidaz, H_2O_2 oluşumuna neden olurlar.
7. Vasküler Endotel: $NO^\bullet$, vasküler endotel kaynaklı bir radikaldir (54,62).

8. Transizyon (Geçiş) Metalleri: Demir (Fe) ve bakır (Cu) oksidatif hasarı hızlandırır (63).

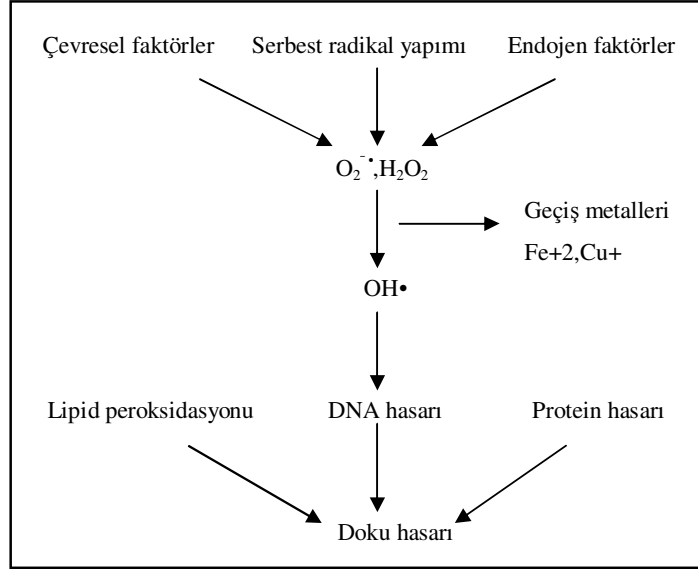
9. Plazma membranı: Membrandaki doymamış yağ asitleri, fosfolipid, glikolipid, gliserid ve steroller, okside olabilen aminoasit içeren proteinler serbest radikal hasarına karşı hassastırlar (59).

ROS, fibroblastlar da dahil olmak üzere vasküler ve glomerüler hücrelerden, lökositlerden ve renal interstisyel hücrelerden oluşturulabilir. Mitokondriyal oksidazlar, NADPH oksidaz, XO'ı da içeren farklı hücresel enzimler, L-arginin veya tetrahidrobiopterin eksiltmesi durumunda NOS, ROS üretiminin hücresel kaynakları olarak tanımlanmıştır (Şekil 2.9) (64-66).



Şekil 2.9: L-Argininden serbest radikal oluşumu

Serbest radikaller, hem indirgen, hem yükseltgen olarak ve bazen de her iki etkiyi birlikte göstererek hücre hasarına neden olurlar. Serbest radikallerin DNA'ya, hücresel proteinlere ve lipidlere zararlı etkileri vardır. Aynı zamanda kalsiyum metabolizmasına etki ederek hücre içi serbest kalsiyumun kontrolsüz yükselmesine ve dolayısıyla hücrenin zarar görmesine ya da ölmesine sebep olmaktadırlar (Şekil 2.10) (67-70).



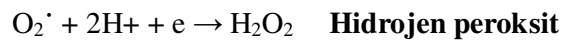
Şekil 2.10: Vücuttaki önemli serbest radikaller ve serbest radikal hasarları

H_2O_2 , $HOCl$ gibi ROS'ların ya da $O_2^{\bullet-}$, $OH^{\bullet}$ ve $NO^{\bullet}$ gibi serbest radikallerin *in vivo*da devamlı olarak oluştukları kabul edilir. ROS'un fizyolojik seviyeleri, transkripsiyonu düzenler, sinyal molekülü gibi iş görür ve patojenlere karşı savunmada görev alır (71,72,73).

2.5.2. Reaktif oksijen türleri

Moleküler oksijen (O_2) elektron transferiyle suya kadar indirgenir. Bu indirgenme reaksiyonunda reaktif ara moleküller oluşur. Bunlar önemli oksidatif stres ajanları olup reaktif oksijen türleri (ROS) olarak adlandırılırlar (74,75).

Oksijenin indirgenme reaksiyonunda oluşan ara reaktif moleküller:



2.5.2.1. Süperoksit ($O_2^{\bullet-}$) radikali

Moleküler oksijenin oksidatif fosforilasyonu esnasında NADPH-oksidaz veya XO gibi enzimlerin katalizörlüğünde bir elektron indirgenmesi, $O_2^{\bullet-}$ radikalini meydana getirmektedir.

İskemi-reperfüzyonda aktive olan flavoenzimler (XO gibi) endojen olarak radikaller oluşturulur. Lipooksijenaz ve siklooksijenaz ise diğer süperoksit oluşturan enzimlerdir (76).

Süperoksit, SOD katalizörlüğünde ya da kendiliğinden H_2O_2 oluşturur. H_2O_2 , GSH-Px ve CAT enzimleri ile su ve dioksijene (O_2) katalizlenir veya geçiş metal iyonları ile kimyasal bir reaksiyonla (Haber-Weiss reaksiyonu) $OH^\cdot$ radikaline dönüşebilir (44,77).

Nötrofil gibi fagositik hücreler bir uyarana maruz kalırsa, yabancı molekülü tanıma yeteneğine sahiptir ve solunumsal patlama denilen bir dizi reaksiyon geçirir. NADPH-oksidaz tarafından hücrede $O_2^{\cdot-}$ radikali üretilmesi patojenle savaşta yıkım için gereklidir. Fagositik olmayan NADPH-oksidaz, nötrofillerde üretilen seviyelerde $O_2^{\cdot-}$ radikali üretirler ve hücre içi sinyal yollarında görev yaptıkları düşünülmektedir (65).

2.5.2.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit serbest radikal olmamasına rağmen biyolojik zarlara nüfuz edebilmesi ve daha reaktif oksijen türlerinin yapım aşamasında aldığı rolden dolayı önemlidir. H_2O_2 , $O_2^{\cdot-}$ radikalinin dismutasyon tepkimesi sonucu oluşur. Ürat oksidaz, glukoz oksidaz, d-aminoasit oksidaz gibi birçok enzim oksijene iki elektron transfer ederek direk hidrojen peroksit oluşturabilir (75).

H_2O_2 'in redoks özelliği nedeni ile geçiş metalleri varlığında yüksek reaktiviteli serbest radikalleri oluşturur. H_2O_2 fizyolojik konsantrasyonlarda, hücre içi sinyal molekülü, savunma sistemi ve mitojenik yanıtın tetiklenmesinde görev alır. İstenmeyen hidrojen peroksit katalaz, GS-Px ve diğer oksidazlar tarafından hücreden uzaklaştırılır (78).

2.5.2.3. Hidroksil radikali ($OH^\cdot$)

Hidroksil radikali, en aktif ve en toksik oksijen radikali olup üretildiği her yerde birçok molekül ile reaksiyon verir. $OH^\cdot$ radikali, iyonlaştırıcı radyasyonun (x-ışınları) etkisiyle su moleküllerinin homolitik kırılması sonucunda oluşabildiği gibi H_2O_2 molekülünün metaller (Fe, Cu) ile reaksiyonunda eksik indirgenmesi sonucu da oluşabilmektedir (Haber-Weiss reaksiyonu) (78,79).

2.5.2.4. Peroksil radikali ($\text{HOO}^\cdot$)

$\text{HOO}^\cdot$ en basit peroksil radikaldır ve $\text{O}_2^{\cdot\cdot}$ 'in protonlanmış halidir. Tipik bir hücrenin sitozolünde bulunan $\text{O}_2^{\cdot\cdot}$ 'in yalnızca %0,03'ü protonlanmış formdur. Çoğunlukla hidroperoksil (LOOH) ya da perhidroksil radikali olarak adlandırılır. LOOH radikallerinin yağ asiti peroksidasyonunu LOOH -bağımsız ve LOOH -bağımlı olarak iki paralel yolakla başlattıkları gösterilmiştir (80).

2.5.2.5. Nitrik Oksit ($\text{NO}^\cdot$)

Nitrik oksit, L-arjinin'den NOS enzimi katalizörlüğünde sentezlenir. Yüksek miktarlarda $\text{O}_2^{\cdot\cdot}$ yapımı $\text{NO}^\cdot$ yapımı ile paraleldir ve birbirlerini etkileyerek $\text{OH}^\cdot$ ve $\text{NO}_2^\cdot$ oluşumuna neden olurlar. Tepkime sırasında ise peroksinitrit ($\text{ONOO}^\cdot$) ve peroksinitröz asit (ONOOH) ara ürünleri oluşur (75).

2.5.3. Serbest Radikallerin Etkileri

2.5.3.1. DNA ve Nükleik Asitlere Etkileri

$\text{OH}^\cdot$ radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer. H_2O_2 , zarlardan kolayca geçip hücre çekirdeğine ulaşır. Oksidatif hasar olaylarından kaynaklanan genetik materyalin kalıcı modifikasyonu mutagenез, karsinogenез , hücrede fonksiyon bozukluğu ve hatta hücre ölümüne neden olabilir (81-84).

2.5.3.2. Proteinlere Etkileri

Proteinler, radikallerin etkilerine lipidlere oranla daha az hassastır ve amino asit dizilişlerine bağlı olarak etkilenirler. Özellikle doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle etkileşimi yüksektir. Bu nedenle triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metiyonin ve sistein gibi amino asitleri içeren proteinler serbest radikallerden daha kolay etkilenirler. IgG ve albumin gibi disülfid bağı fazla olan proteinlerin ise üç boyutlu yapıları bozulur (78,85,86).

2.5.3.3. Karbohidratlara Etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu H_2O_2 , $\text{OH}^\cdot$ ve okzoaldehitler meydana gelir. Açığa çıkan okzoaldehitler proteinlere bağlanabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etki göstererek kanser ve yaşlanmaya neden olabilirler. ROS'lar bağ dokunun önemli bir bileşeni olan hiyalüronik asit gibi karbohidratların parçalanmalarına da yol açabilirler (82,87).

2.5.3.4. Lipidlere Etkileri

Lipid peroksidasyonu kimyasal bir süreç olup serbest radikallerin membrandaki doymamış yağ asitlerini etkilemesi ile başlar. Radikallerin etkisiyle çoklu doymamış yağ asitleri üzerindeki metilen grubundan bir hidrojen atomu uzaklaştırılır (başlangıç reaksiyonu). Hidrojen atomu uzaklaşması ile karbon atomu üzerinde eşleşmemiş elektron kalır ve bunun sonucu yağ asidi zinciri bir lipid radikali (L·) niteliği kazanır. Lipid radikalının moleküler oksijen ile etkileşmesi sonucu lipid peroksil radikali (LOO·) oluşur. LOO·, başka yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşmasına neden olurken kendisi de açığa çıkan hidrojen atomunu alarak LOOH dönüşür. Böylece peroksidasyon başladıktan sonra kendi kendine yayılabilmekte ve çok sayıda yağ asidi zinciri LOOH'a dönüşebilmektedir (ilerleme reaksiyonu) (78,80,82,87,88,89).

Lipid hidroperoksitleri geçiş metallerinin redoks döngüsüyle birlikte lipid peroksidasyonunu başlatabilecek radikallerin oluşumuna neden olabilirler (85).

Lipidlerden araşidonik asit metabolizması sonucu serbest radikal üretimine “enzimatik lipid peroksidasyonu”, diğer radikallerin sebep olduğu lipid peroksidasyonuna ise “enzimatik olmayan lipid peroksidasyonu” denir. Lipid peroksidasyonunun son bileşeni olan malondialdehit (MDA) peroksidasyona uğramış çoklu doymamış yağ asitlerinin bölünmesiyle oluşan üç karbonlu bir dialdehidtir ve oksidatif durumun göstergesi olarak yaygın şekilde kullanılır. Bu dialdehid biyolojik ortamda makromoleküllerin amin grubu (-NH₂) ve/veya sülfitril grubu(-SH) gruplarına bağlı veya serbest olarak bulunur. Oluşan MDA; deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi zar özelliklerinin değişmesine yol açar. Böylece membranın geçirgenliğini ve akışkanlığını etkileyerek geri dönüşümsüz ciddi membran hasarları oluşturur (87,90).

2.5.4. Reaktif Oksijen Türleri ve KBY İlişkisi

ROS'un önemli biyolojik etkileri ışığında, son yıllarda yapılan çok sayıda klinik ve deneysel çalışma böbrek hastalarındaki oksidatif stres bulgularının saptanması üzerine odaklanmıştır.

Böbrek, bütün vücut oksijen tüketiminin %10'undan sorumludur. Yüksek O₂ tüketimi ve metabolik aktiviteye ek olarak, infiltratif hücreler ve kendi yerleşik hücrelerinden de ROS oluşturur. Böbrekteki ROS kaynakları, aktive olmuş makrofajlar, vasküler hücreler ve çeşitli glomeruler hücrelerdir. Dolaşımdaki polimorfonükleer lökositlerin (PMNL) ve monositlerin glomerüllere ve interstisyel dokuya infiltrasyonu

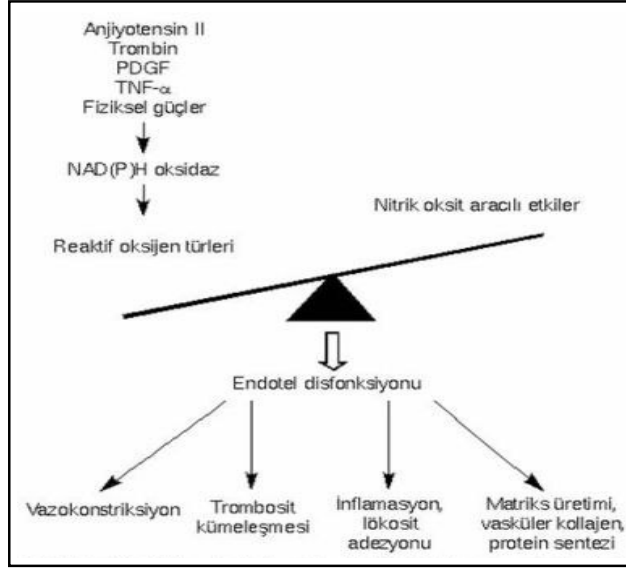
sonucunda böbrekler ek bir oksidan strese maruz kalırlar (91,92). Bu nedenle zaman zaman, antioksidan savunma mekanizmasını aşan oksidatif stresle karşılaşmakta ve ROS'lara bağlı böbreklerde doku hasarı oluşmaktadır (91-93).

Yapılan çalışmalarda ROS'ların iskemik, toksik, immünolojik kaynaklı böbrek hasarı oluşturabildikleri gösterilmiştir (94,95). ROS, hücre ve organel membranlarında lipid peroksidasyonuna neden olarak özellikle proksimal tübül segmentlerinde, tübül yapısını, hücre transport kapasitesini ve enerji üretimini bozarak etkilerini gösterirler.

ROS'un böbrek hasarındaki rolü KBY, akut böbrek yetmezliği (ABY), glomerülonefrit, nefrotik sendrom, transplantasyon, toksik hasar, enfeksiyon gibi patolojilerde invivo hayvan deneyleriyle gösterilmiştir (94,96,97,98).

İmmün glomerülonefritte ROS'lar, PMNL'ler ve monositler gibi infiltratif hücrelerden oluşup, glomerül hücrelere ve mezenşial hücrelere yerleşirler. Bu hücreler, glomerüler hemodinamik yapıyı değiştirerek, proteinüri gelişmesine neden olup glomerüler hasarı tetiklerler. Doku hasarının olduğu bölgede $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 ve $HO^{\cdot}$ gibi ROS'ların varlığı gösterilmiştir (91,92,94,96-99).

ROS'ların oluşması, morfolojik lezyonların meydana gelmesine, proteazların aktive olmasına, proteoglikan sentezinin azalmasına ve bunlara bağlı olarak proteinlere karşı glomerüler permeabilite artışının görülmesine neden olur. ROS'lar prostoglandin, tromboksan, trombosit aktivite edici faktör gibi vazokonstriktör biyoaktif lipidleri serbestleştirerek ve vazodilatör olan nitrik oksiti inaktive ederek glomerül kan akımının ve glomerül filtrasyon hızının düşmesini indüklerler. Proksimal, distal ve toplayıcı segmentlerdeki böbrek tübül hücrelerinin ROS'ları üretebildikleri bildirilmiştir (Şekil 2.11) (91,92,100-102).



Şekil 2.11: ROS'a bağlı gelişen endotel disfonksiyonu

İskemi/reperfüzyon sırasında oluşan ROS'lar, hücre hasarının patogeneğinde rol oynayan en önemli faktördür. İskemi ve reperfüzyon sırasında; mitokondriyal oksidatif fosforilasyonun değişmesi, ATP'nin azalması, hücre içi Ca^{+2} artışı ve hücre iskeleti ile membran fosfolipidlerinin bozulmasına öncülük eden proteaz ve fosfatazların aktive olması sonucu aşırı miktarda ROS oluşarak, oksidatif strese neden olur (103-105). İskemi sırasında az miktarda serbest radikal oluşurken, reperfüzyon döneminde dokunun yeniden oksijenlenmesinin ardından nötrofiller burada toplanır ve daha büyük miktarda serbest radikal oluşur. Oluşan serbest radikaller lipid peroksidasyona yol açarak hasarı arttırırlar (3,106,107).

SDBY'li hastalarında uygulanan tedavi seçeneklerinden olan HD oksidatif stresi artırır. HD esnasında ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin en önemli kaynağı kullanılan membranlar ve diyalizat sıvısının aktive ettiği PMNL'dir. PMNL'in aktive olması ile ortaya çıkan solunum patlamasında rol alan NADPH oksidaz, SOD, NOS ve myeloperoksidaz (MPO) gibi enzimler $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , NO ve HOCl (hidroklorik asit) gibi reaktif ürünlerin ortaya çıkmasına yol açar. Ayrıca kullanılan membran ve diyalizat sıvıları, alternatif kompleman yolunun aktivasyonunu sağlayarak hücre hasarının ilerlemesine yol açar (107).

HD tedavisinin önemli komplikasyonlarından biri anemi olup demir ve eritropoetin tedavisi gerektirir. Tedavi, demirin serbest formunda artışa yol açar ve

serbest demir H_2O_2 ile reaksiyona girerek $OH^\bullet$ radikaline dönüşür ve oksidatif hasara yol açar (fenton reaksiyonu) (3).

HD tedavisi plazma SOD, katalaz (CAT), GST gibi antioksidan enzim aktivitesinde azalmaya yol açar. Bu azalma, böbreklerde bu enzimlerin sentezinin azalmasına bağlı olabileceği gibi, üremik toksinlerin enzimin protein yapısında değişikliğe yol açmasına da bağlı olabilir (4).

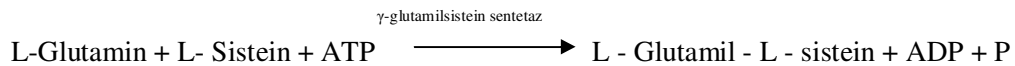
Köken ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada HD tedavi süresi artışına paralel olarak oksidan stresin arttığı antioksidan kapasitenin ise azaldığı gösterilmiştir. Protein oksidasyonunun bir göstergesi olan karbonillerin HD ile atılmadığı ve HD süresiyle paralel olarak arttığı gözlenmiştir (108).

Normal popülasyonda oksidatif strese yol açan diyabet, yaşlanma, hipertansiyon, dislipidemi ve sigara gibi etkenler, HD hastalarının oksidatif stres hasarının daha da artmasına yol açmaktadır. Gentamisin, adriamisin, merkürü kloid radyokontrast madde, sefalosporin, gliserol gibi nefrotoksik ajanlar, serbest radikalleri veya reaktif O_2 moleküllerini uyararak veya kendi antioksidan savunma mekanizmasını baskılayarak böbrek hasarı oluştururlar (109).

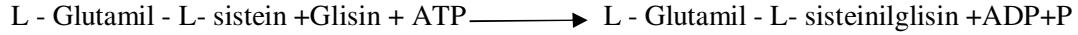
2.6. GLUTATYON S-TRANSFERAZLAR

GST'lar 1961 yılında aril halojenürler, 1,2-dikloro-4-nitrobenzen (CDNB) ve bromosülfotalein ile redükte glutatyonun (GSH) konjugasyonunu katalizme yeteneğinden dolayı fare karaciğer sitozolünde tanımlanmıştır. GST izoenzimleri, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu ve dokuların oksidatif zarardan korunması için önemli enzimlerdir. GST süpergen ailesi karsinogenik potansiyele sahip birçok endojen ve ekzojen kimyasallara karşı hücrel enzim savunmasının önemli bir bölümünü oluşturur, dolayısıyla GST enzimleri birçok elektrofilik maddelerin aktivasyonu ve inaktivasyonunda önemli rol oynarlar (110).

GSH (γ glutamil sisteinil glisin), glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan bir tripeptid'dir. GSH, organizmada L-glutamik asid, L-sistein ve glisinden, γ -glutamilsistein sentetaz ve glutatyon sentetaz enzimlerinin etkisiyle iki aşamada meydana gelmektedir (111).



glutasyon sentetaz



GST, elektrofilik merkez içeren bileşiklerle GSH'yi bağlama kabiliyetindedir (112). Konjugasyon reaksiyonu için gerekli elektrofilik fonksiyonel grupta bir C, bir N veya bir S atomu yer almalıdır (113). GSH ve elektrofiller arasında bir bağ oluşumu ana bileşikten daha az reaktif bir konjugat oluşturur ve böylece detoksifikasyon gerçekleşir (114).

2.6.1. Glutasyon S-Transferaz Aileleri

GST'lar en az yedi izoenzimi olan konjuge edici enzimlerin geniş bir ailesini oluşturur (Tablo 2.3). Hücrede sitozolde ya da mikrozomal kısımlarda bulunabilir. GST izoenzimleri iki alt üniteden oluşan dimer yapısındadır. Bu alt üniteler hangi GST tipinin mevcut olduğunu tanımlar. Alt üniteler belli bir sınıfa özgüdür. Son yıllarda GST'nin fonksiyonlarını inceleyen pek çok araştırma yapılmıştır. Bu fonksiyonlar; (1) endojen elektrofilik bileşiklerin konjugasyonu; (2) hücre içi redoks halinin korunması; (3) lökotrienlerin ve prostoglandinlerin sentez ve modifikasyonudur. İnsan GST'lerinin çoğu polimorfiktir, varyant alellerde enzim fonksiyonu değişmiştir. Elektrofilleri konjüge etme yetenekleri bu enzimleri, epoksitlerin ve çevresel önemi olan pestisitlerin, kemoterapötik ajanların ve beslenme bileşenlerinin detoksifikasyonunda kritik bir noktaya yerleştirmektedir. Bu sebeple ve inflamatuvar süreçleri düzenleme yeteneklerinden dolayı GST'deki polimorfizmlerin hastalıkları etkileme ve yanıtları değiştirmedeki rolleri pek çok epidemiyolojik çalışmanın hedefi olmuştur. Bazı olgularda, GSH ile konjugasyon toksisitesinde artma karsinogenez ile ilişkilidir. Örnek olarak, etilen dibromid ve halojenlenmiş diğer alkanlar veya alkenler verilebilir. Bu nedenle, GST polimorfizmleri teoride, olaya dahil olan hedef organlar ve kimyasallara bağlı olarak artmış ya da azalmış toksisiteye yol açar (110,115-117).

2.6.1.1. Sitozolik GST Gen Aileleri

Sitozolik GST ailesi enzimleri yapılarına, substrat spesifitelerine ve immünolojik özelliklerine göre 7 sınıfa ayrılmıştır: alfa, mü, kapa, pi, sigma, teta, zeta. Bu sınıflar A, M, K, P, S, T, Z harfleri ile kısaltılır ve sınıflara ait üyeler rakamlarla ifade edilir. Bir sınıfa dahil olan GST izoenzimleri amino asit dizisi bakımından en az %40 oranında bir homoloji gösterirken sınıflar arasında %30'dan daha az bir benzerlik

Tablo.2.3: Glutatyon S-Transferaz Gen Aileleri

Süper aile	Sınıf	Kromozom	Protein	Organ	Enzim aktivitesi
Sitozolik	Alfa	6p12	GSTA1	testis, karaciğer, böbrek, adrenal, pankreas	CDNB; NBD-Cl; Δ5 AD; PGE2, PGF2α sentaz
			GSTA2	karaciğer, testis, pankreas, böbrek, adrenal, beyin	CDNB; NBD-Cl; CuOOH; PGE2, PGF2α sentaz
			GSTA3	plesanta	Bilinmiyor
			GSTA4	ince bağırsak, dalak, karaciğer, böbrek, beyin	CDNB (düşük miktarda); EA; 4-hidroksinonenal; 4-hidroksidesenal
Sitozolik	Kappa	bilinmiyor	GSTK1	karaciğer (mitokondrisi)	Bilinmiyor
Sitozolik	Mu	1p13.3	GSTM1	karaciğer, testis, beyin, adrenal, böbrek, akciğer	CDNB; AFB1 - epoksit; trans-4-fenil-3-buten-2-one; Tso
			GSTM2	beyin, iskelet kasi, testis, kalp, böbrek	CDNB(yüksek oranda); DCNB; aminokrom; sinoDMNG
			GSTM3	testis, beyin, ince bağırsak, iskelet kasi	CDNB(düşük oranda); H2O2
			GSTM4	beyin, kalp, iskelet kasi	CDNB(çok düşük oranda)
			GSTM5	beyin, kalp, akciğer, testis	CDNB(düşük oranda)
Sitozolik	Pi	11q13	GSTP1	beyin, kalp, akciğer, testis, böbrek, pankreas	CDNB; akrولين; adenin propenil; BPDE; benzil isotiosiyonat; EA; 4-vinilpridin
Sitozolik	Sigma	4q21-22	GSTS1	fetal karaciğer, kemik iliği	PGD2 sentaz
Sitozolik	Teta	22q11	GSTT1	böbrek, karaciğer, incebağırsak, beyin, prostat	DCM; DEB; EPNP; EO; MB
			GSTT2	karaciğer	CUOOH; 1-menaftil sülfat
Sitozolik	Zeta	14q24.3	GSTZ1	fetal karaciğer, iskelet kasi	diklorasetat; florasetat; maleliasetoastat
Sitozolik	Omega	10q23-25	GSTO1	karaciğer, kalp iskelet kasi, pankreas, böbrek	tioltransferaz; CDNB ve NBD-Cl(çok az miktarda)
Mikrozo- mal		12p13.1-1 9q34.3 4q28-31 1q23 5q35 13q12	MGST-1	karaciğer, pankreas, prostat, kolon, böbrek, beyin	CDNB; NBD-Cl; 4-nitrobenzil klorid; CuOOH
			MGST-1	testis, prostat, ince bağırsak, kolon	PGE2 sentaz
			MGST-2	karaciğer, iskelet kasi, ince bağırsak, testis	CDNB; Lökotrien C4 sentaz; 5-HPETE
			MGST-3	kalp, iskelet kasi, adrenal bez, tiroid	Lökotrien C4 sentaz; 5-HPETE
			LTC4S FLAP	trombosit, akciğer, karaciğer akciğer, dalak, timus, PBL, ince bağırsak	Lökotrien C4 sentaz 5-lipoksijenaz-kative edici protein (araşidonik asit bağlayıcısı)

vardır. GST M sınıfında, beş insan izoenzimi (M1-M5), GST T sınıfında, iki izoenzim (T1 ve T2) ve GST P sınıfında ise bir izoenzim tanımlanmıştır (7,115-117).

2.6.1.1.1. Alfa (A) sınıfı GST (GSTA) gen ailesi:

GSTA gen ailesi, 6. kromozom (6p12) üzerinde 5 tane gen (GSTA1, GSTA2, GSTA3, GSTA4, GSTA5) ve 7 tane pseudogenden oluşur. GSTA1 geni, -567, -69 ve -52 pozisyonlarında genin proksimal promotorunda oluşan 3 tane tek nükleotid polimorfizm (SNP)'nin kombinasyonu ile oluşan iki alel *-GSTA1*A* ve *GSTA1*B* ile polimorfiktir. *GSTA1*A*'nın ekspresyonu *GSTA1*B*'den daha fazladır (7,110,115).

2.6.1.1.2. Mü (M) sınıfı GST (GSTM) gen ailesi:

GSTM gen ailesi, 1981'de Board tarafından karaciğerde tanımlanmıştır. GSTM sınıfı gen ailesi, 1. kromozom (1p13.3) üzerinde 20 kb uzunluğunda ve 5 tane gen bölgesinden meydana gelmektedir. GSTM gen ailesi, 5'-GSTM4-GSTM2-GSTM1-GSTM5-GSTM3-3' şeklinde düzenlenmiştir.

GSTM1 lokusunda 3 alel vardır: GSTM1*0, GSTM1*A ve GSTM1*B. , GSTM1'in yabancıl tipi (wild-type) olan GSTM1*A aleli aktif enzimi kodlarken, ekzon 7'de tek bir bazdaki mutasyonu içeren bir polimorfizm GSTM1*B olarak adlandırılan varyantı ortaya çıkarır. Bu mutasyonun enzim fonksiyonunu etkilemediği düşünülmektedir. Bunun sebebi yaygın olarak kullanılan genotipleme problemlerinin bu varyant ve yabancıl tip arasındaki ayrımı yapamıyor olmasıdır. Ancak, ikinci bir varyant olan GSTM1*0, tüm GSTM1 geninin 15 kb'lık bir delesyonunu temsil ettiği için önemlidir. Homozigot gen delesyonları GSTM1 null veya GSTM1 (-/-) olarak adlandırılarak heterozigot delesyonlardan GSTM1 (+/-) ve homozigot yabancıl tipten GSTM1 (+/+) ayırt edilir. GSTM1 izoenzimleri baskın olarak karaciğerde, az miktarda ise akciğerde eksprese edilir; GSTM3 akciğer dokusundaki önemli bir izoenzimdir. GSTM3-3 varyantı intron 6'da 3 baz çiftlik bir delesyon içerir. Bu delesyonun enzim fonksiyonu üzerindeki etkileri tam olarak incelenmemiş olsa da, GSTM3-3 ilmeğindeki diğer mutasyonların bu enzimin fonksiyonunu düzenleyebildiği belirgindir (110,115-117).

2.6.1.1.3. Teta (T) Sınıfı GST (GSTT) gen ailesi

GSTT sınıf genleri 22. (22q11) kromozomdadır. Bu enzimin yabancıl tipi olan GSTT1-1 tamamen aktifken, tüm genin delesyona uğradığı varyant (GSTT1-0) enzim

aktivitesinden yoksundur. Bu varyant tipinin homozigotları GSTT1 null (-/-) olarak adlandırılırken, heterozigotlar GSTT1 (+/-) olarak adlandırılır ve orta derecede bir aktivitesi vardır ve gen dozaj etkisi gösterir. GSH'nin elektrofillerle konjugasyonunu katalizlemeye ek olarak, GSTT1 fosfolipid hidroperoksitler gibi bir dizi organik peroksite karşı peroksidaz aktivitesi gösterir. Diğer bir izoenzim olan GSTT2 dizi bakımından GSTT1'e benzer ve organik hidroperoksitlere afinitesi vardır ancak bu konu çok derin araştırılmamıştır. GSTT1 başta karaciğer ve böbrek olmak üzere incebağırsak, beyin, prostat dokularının önemli izoenzimleridir. GSTT2'nin GSH peroksidasyonu ve elektrofil detoksifikasyon reaksiyonlarına dahil olduğu düşünülmektedir. GSTT2'deki tek bir baz değişikliğini içeren polimorfizm nadir (Met139-Ile) GSTT2 promotorundaki bir polimorfizm kolorektal kanser gibi bazı hastalıklarla ilişkilendirilebilir. Promotor bölge polimorfizmi in vitro ekspresyon sistemlerinde gen ekspresyonunun azalması ile ilişkilidir (7,110,115-117). GSTT2 daha çok karaciğerde eksprese edilir.

2.6.1.1.4. Pi (P) Sınıfı GST (GSTP) gen ailesi

GSTP alt sınıfı GST'nin en önemli fetal izoformudur ve enzimin geni 11p11.2 (11q13) kromozomdadır. Doğumdan sonra diğer GST seviyeleri artarken, karaciğerde GSTP seviyesi düşer. GSTP1 doğumdan sonraki önemine ek olarak böbrek, akciğer ve diğer dokularda da kantitatif olarak önemlidir. GSTP1*A yabanıl tiptir ve genelde bu sınıfın en aktif formudur. Polimorfizmlerin, GSTP1'in konjüge edici aktivitesi üzerine etkisi substrat spesifiktir. Üç alelik varyant araştırmaların ilgi odağı olmuştur. GSTP1*B, kodon 105'te izoleüsinin valine değişmesi sonucu oluşan bir mutasyondan kaynaklanır; GSTP1*C kodon 105 mutasyonuna ilave olarak kodon 114'te alaninin valine değişmesiyle oluşan bir mutasyon içerir. GSTP1*D, yabanıl tipten kodon 114'teki mutasyonla ayrılır. GSTP1 böbrek, beyin, kalp, akciğer, testis ve pankreas gibi dokulardaki ekspresyonları gösterilmiştir (7,110,116,117).

2.6.1.1.5. Kappa (K) sınıfı GST (GSTK) gen ailesi:

Hücrelerde mitokondride yer alır. Çözünür olduğu halde sitoplazmada bulunmamaktadır.

GST polimorfizmleri en yaygın olarak, sitozolde bulunan 3 izoenzimde incelenmiştir. Bunlar GSTM1, GSTT1 ve GSTP1'dir. Polimorfizmler alfa, omega ve

zeta gibi diğer sitozolik GST'lerin de aktivitesini etkiler ama bu polimorfizmlerin fonksiyonel ve toksikolojik etkileri daha az araştırılmıştır. Bu üç enzim (GSTM1, GSTT1 ve GSTP1), aflatoksin B1 epoksit (GSTM1), 1,3-butadinin epoksit metabolitleri (GSTT1) ve benzo[a]piren diol epoksitler (GSTP1) gibi elektrofillerin konjügasyonu ile ilişkilidir. Ek olarak, bromobenzen, bromodiklorometan, metilen klorid ve trikloroetilen gibi halojenlenmiş çözücülerin GSTT1-aracılı konjügasyonu da detoksifikasyondan ziyade metabolik aktivasyona yol açabilir. GSTM1 ve GSTT1 null genotipi olan bireylerde bu GST'lerin aktivasyonu tamamen kaybolur. Aksine, GSTP1 gen varyasyonu, iki bölgede tek nükleotid polimorfizmi gösterir ve aktiviteyi yok etmez. Ancak bazı substratlara karşı düşük affinite gösterirken bazılarına karşı yüksek affinite gösterir. (7,110,116).

Bu GST polimorfizmleri, birbirleriyle örtüşen substrat spesifitelerine sahip olduklarından tek bir bireyde meydana gelen birden çok polimorfizm hastalığın riskini etkiler (116,117).

2.6.1.2. Mikrozomal (membrana bağlı) GST Gen Ailesi

Mikrozomal GST ve lökotrien C₄ sentaz (LTC₄S) bu grubun önemli üyeleridir. Mikrozomal GST, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonuna katılırken LTC₄S, lökotrien A₄'ü GSH ile konjüge eder. LTC₄S moleküler klonlaması sonucu bu enzimin 5-lipooksijenaz-aktive edici protein (FLAP) ile homoloji gösterdiği bulunmuş olup bu bulgu her iki proteinin de aynı gen ailesinin üyesi olduğuna işaret eder. Mikrozomal GST'ler, araşidonik asit ve glutatyon metabolizmasındaki membranla ilişkili proteinler (MAPEG) olarak adlandırılırlar (110,116).

2.6.2. GST polimorfizleri ve KBY ilişkisi

GST izoenzimlerinin nitel ve nicel dağılımları dokudan dokuya oldukça farklılık gösterir. Bu durum her bir organın GST ile etkileşen toksik ajana yanıtının farklı olmasına yol açar. Bu yönüyle bakıldığında GST'lar organa özgü toksisite oluşumunda önemli rol oynarlar. Toksik maddelerin belirli organlarda toksik etki oluştururken diğer bazı organlarda nasıl olup da toksisite oluşturmadıkları her zaman ilgi çeken ve araştırılan bir konudur. Bu durum açıkça toksik ajanın toksikokinetiğine, duyarlı dokularda spesifik alım mekanizmalarının varlığına, hedef organın aktivasyon detoksifikasyon yapan enzim içeriğine ve dokunun toksik ajanın oluşturduğu hasarı onarma yeteneğine bağlıdır (7).

Birçok ksenobiyotik toksisitesi ve serbest oksijen radikalleri için böbrek önemli bir hedef organdır. Antioksidan enzimlerinin aktivitesini azaltan genotipli bireylerde oksidatif hasar gelişimi açısından risk altında olduğu düşünülür (6).

KBY'li hastaların eritrositlerinde GST enzimlerinin aşırı üretimi gösterilmiştir. Bu durum KBY gelişimi ile GST enzimlerinin ilişkisini araştırmaya sevk eder (118).

Karaciğer nakillerinde, reperfüzyon hasarı, kalsinörin ilaç tüketimi ve enfeksiyonlar serbest radikal üretimini arttırarak doku hasarı ve organ yetmezliğine sebep olurlar. Karaciğer transplantasyon sonrası oksidatif stres ve antioksidan savunma arasında denge allograft yetersizliği gelişimi ve ilerlemesinde önemi olabilir. Oksidatif stresin hasar verici etkisine karşı bir bariyer GST enzimidir. GST genetik varyasyonları, oksidatif metabolizmaların kaybolan etkileri ile ilişkili hastalıklarda bireysel yatkınlıkları arttırabilir (119,120).

Böbrek transplantasyonu sonrası oksidatif stres ve antioksidan savunmalar KAN gelişimi ve ilerleyişi anlamamız açısından önemli olabilir. Özellikle KAN'lı hastalarda dislipidemi ve oksidatif stres ürünleri kombinasyonu, vasküler lezyonların gelişimine ve ilerleyişine sebep olabilir (97,121).

Renal transplantasyondaki önemli gelişmelere rağmen sağkalım, nakil sonrası mortalitenin en önemli sebebi olan kardiyovasküler hastalıklarla (KVH) sınırlıdır. Nakil sonrası KVH gelişimindeki risk faktörlerine bakıldığında arteriyel hipertansiyon, hiperlipidemi, diabetes mellitus, sigara kullanımı, obezite, anemi, sol ventriküler hipertrofi gibi 'geleneksel' risk faktörlerine ek olarak inflamasyon ve oksidatif stres gibi 'yeni' risk faktörlerinin de varlığından söz edilmektedir (5).

2.6.3. ANTİ-GSTT1 ANTİKORU

Son yıllarda yapılan çalışmalar, hem akut hem de kronik böbrek allograft rejeksiyonunun vericiye özgü antijenlere yönelmiş antikorlar tarafından başlatılabileceği yönündedir. Bu antijen-antikor bağlanması süreci greft endotelinde gerçekleşir ve nihayetinde çoğu olguda allograftın hasarına yol açan bir dizi pro-inflamatuvar olayları tetikler. Renal transplantasyon sonrasında, HLA sınıf I ve sınıf II antijenlere karşı yönelmiş *de novo* verici spesifik antikor üretiminin kötü transplant prognozu ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Antikor aracılı rejeksiyonun varlığını gösteren biyolojik kanıt, dolaşımda vericiye özgü antikor varlığı ve sonrasında antijen-antikor

bağlanmasına sekonder olarak gelişen kompleman aktivasyonunun bir sonucu olarak greft endotelinde bir kompleman bileşeni olan C4d'nin birikmesidir (122-124).

Günümüzde antikor aracılı rejeksiyonun tanı kriterleri peritübüler kapillerlerde C4d varlığının gösterilmesi ile inflamasyon ve/veya doku hasarı olarak tanımlanmıştır. Peritübüler kapillerlerin antikor aracılı hasarlanması endotel hasarına bağlı olarak gelişen kapiller devamlılığın kaybına, iskemiye ve miyofibroblastların proliferasyonu sonucunda gelişen ilerleyen intestinal fibrozise neden olmaktadır (125-127).

Antikor aracılı rejeksiyon (AMR) sınıf I ve sınıf II anti-HLA antikorları ile ilişkilendirilse de, AMR'li tüm hastalarda anti-HLA antikorları yoktur. Bu sebeple akut veya kronik rejeksiyon süreçlerine HLA-dışı antijenlerle etkileşen antikorların dahil olduğu düşünülmektedir. AMR'nin HLA-identik kardeş nakillerinde bile ortaya çıkması, HLA'dan farklı histokompatibilite sistemlerinin anti-greft immün yanıtta rol oynadığını düşündürmektedir (125-127).

MHC sınıf I zinciri-ilişkili gen A (MICA) antijenlerine karşı oluşan antikorlar, AMR gelişimine dahil olduğu düşünülen HLA-dışı antikorlardandır. MICA lokusu HLA-B lokusuna çok yakın yerleşmiş olup yüksek bir polimorfizm gösterir. Çalışmalar, nakil öncesi ya da nakil sonrası dönemde tespit edilen anti-MICA antikorlarının kötü allogreft sağkalımı ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Ek olarak, geri dönüşümsüz böbrek transplant rejeksiyonu veya şiddetli akut rejeksiyonu olan kardiyak transplant hastalarında anti-MICA antikorları tespit edilmiştir (8).

Antikor aracılı rejeksiyon sürecine dahil olduğu düşünülen bir diğer HLA dışı sistem ise oksidatif stresin zararlı etkilerine karşı önemli bir bariyer olan GST enzim ailesini kodlayan genlerdir. Bu genlerdeki polimorfizmler oksidatif strese karşı savunmada görev alan enzimlerin yanıtını etkileyebilmektedir. Bu gen ailesinden GSTM1 ve GSTT1 genlerindeki polimorfizmler ya delesyonlu ya da null bir alel içerirler. Null alel için homozigot olan bireylerde enzim aktivitesi tamamen ortadan kalkmıştır (8). Bir çalışmada, karaciğer transplant alıcılarının %50'si GSTT1 null genotipe sahip olup GSTT1 pozitif vericilerden nakil olmuş ve karaciğer grefti üzerinde eksprese edilen GSTT1 proteinine karşı antikor geliştirmiştir. Anti-GSTT1 antikoru geliştiren hastaların %80'inde şiddetli karaciğer greft disfonksiyonuna yol açan *de novo* hepatit gözlenmiş ve bunun GSTT1'e karşı oluşan alloreaktif antikor aracılı bir immün yanıtın sonucu olduğu bildirilmiştir (128).

C4d+ hasta grubunda, antikor ilişkili rejeksiyon ile anti GSTT1 antikorlarının ilişkisi incelendiğinde, bu antikorların geç renal allograft disfonksiyonunda rol alabileceği bildirilmiştir. Araştırmacılar, anti-GSTT1 antikorlarının kronik antikor aracılı rejeksiyon gelişiminde rol aldığını ileri sürmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.GEREÇLER

3.1.1.Hasta grubu

Çalışmaya İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı tarafından takip edilen ve 1986-2009 tarihleri arasında canlı vericiden böbrek nakli olmuş hastalar dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen hastalar iki gruba ayrıldı. Birinci grupta, akut ya da kronik rejeksiyon geçirmiş 57 hasta ve vericileri, ikinci grupta ise rejeksiyon atağı geçirmemiş 65 hasta ve vericileri yer aldı. Hasta grubuna 18 yaşından büyük olan hastalar dahil edildi. Hastaların laboratuvar analizleri İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı. İstanbul Tıp Fakültesi Etik Kurulundan Etik Kurul raporu alındı.

3.1.2.Kontrol grubu

Kontrol grubu olarak hasta grubu ile benzer yaş ve cinsiyette, akut ya da kronik bir hastalığı olmayan 18 yaşından büyük 51 sağlıklı birey (SKG) dahil edildi.

3.1.3. Kimyasal malzemeler

Dodecyl Trimethyl Ammonium Bromid (DTBA)	AppliChem
Hexa-dodecyl Trimethyl Ammonium Bromid (CTBA)	Merck
Sodyum Klorür (NaCl)	Amresco
Trizma Base	AppliChem
Hidroklorik Asit (HCl)	Merck
Ethylene Diamine Tetraacetic Acid (EDTA)	Amresco
Borik Asit	Amresco
Etanol	
dATP	Fermantes
dTTP	Fermantes
dGTP	Fermantes
dCTP	Fermantes
Taq DNA Polimeraz Enzimi	Fermantes
PZR Buffer (Magnezyumsuz)	Fermantes
Magnezyum Klorür (MgCl ₂)	Fermantes

Kesim Enzimi Msa I	Fermantes
Primerler	Fermantes
Distile su	
Agaroz	Sigma
Ethidium Bromid	Sigma
DNA Ladder (Markır-belirteç)	Fermantes
Anti-GSTT1 antikör tarama kiti (ELISA)	Biomedal

3.1.4. Kullanılan Tamponlar

3.1.4.1. DNA izolasyonu aşamasında kullanılan solüsyonlar

%12'lik DTAB: 12gr DTAB, 45ml NaCl, 15ml 1M Tris-HCl, 15ml 0,5M EDTA karışımı hazırlandı. Distile su ile 100ml'ye tamamlandı.

%0,5'lik CTAB: 5gr CTAB, 8ml 5M NaCl karışımı hazırlandı. Distile su ile 100 ml 'ye tamamlandı.

1,2M NaCl: 5M NaCl, 29,22gr NaCl, 100 ml su içerisinde eritilerek çözüldü. 24ml 5M NaCl , 76ml distile su ile karıştırıldı.

%70'lik Etanol: 70ml %99,9 etanol 30 ml distile su ile karıştırıldı.

3.1.4.2. Elektroforez Tamponları

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

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

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

3.1.4.3. Polimeraz Zincir Reaksiyon (PZR) Karışımı

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

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

MgCl₂ (25Mm)

dNTP (2m M)

Primerler (100pmol/µl)

DNA

3.1.4.4. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) Yönteminde Kullanılan Enzimler ve Tamponlar

Restriksiyon Enzimi		Restriksiyon Enzim Tamponu
Msm AI (10U/µl)	↔	NEBuffer 4

3.1.5. Agaroz Jel

2gr agaroz

30µl etidyum bromür

100ml 1XTBE

3.1.6.Elektroforez Analizinde Kullanılan Standartlar

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

3.1.7. Kullanılan Cihazlar

PZR Cihazı	Perkin Elmer
Elektroforez Tankı	Thermo
Güç Kaynağı	Thermo
UV-Transilluminartör	Vilber Lourmat
Kamera	Vilber Lourmat
Yazıcı	Sony
Monitor	Sony
Santrifüj	Heraus, Nüve
Su Banyosu	Braun
Mini Santrifüj	Ependorf
Vortex	Velp SCI
Derin dondurucu (-20°C)	Arçelik
Çeker Ocak	Fagus
Buzdolabı (+4°C)	Arçelik
Mini Santrifüj	Ependorf
Tartı	Sartoris
İnkübatör	Heraus
ELISA Okuyucusu	ELX-80
Otomatik Pipet (10,100 ve 1000µl'lik)	Ependorf
Otomatik Pipet Ucu (2, 10,100 ve 1000µl'lik)	Ependorf
0,5 mililitrelik (ml) polipropilen santrifüj tüpü	
1,5 ml'lik polipropilen santrifüj tüpü	
2 ml'lik polipropilen santrifüj tüpü	
50 ml'lik polipropilen santrifüj tüpü	
Steril pamuk çubuk	

1000 ve 100 ml' lik cam mezur

3.2. YÖNTEMLER

İstanbul Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı tarafından takip edilen canlı vericiden nakil olmuş, akut ya da kronik rejeksiyon atağı geçirmiş 57 hasta ve donörleri ile nakil sonrası rejeksiyon atağı geçirmemiş 65 hasta ve vericilerine analizler İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı.

3.2.1. DNA İzolasyonu

Hastalardan EDTA'lı tüpe 10ml periferik venöz kan alındı. Hastalardan alınan kan örnekleri 2600rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası oluşan lenfosit zengin tabakadan (buffy coat) 450µl alındı. Her hasta için ayrı hazırlanmış 2ml'lik mikrosantrifüj tüpüne konuldu. 450µl buffy coat üzerine 450µl DTAB solüsyonu eklendi. 5 dakika 68 °C'deki su banyosunda bekletildi. Bu karışımın üzerine 900µl kloroform eklendi. Mikrosantrifüj tüpü içindeki karışım homojen olarak karışana kadar vortexlendi. 10000rpm'de 2 dakika santrifüj edildi. 1,5ml'lik mikrosantrifüj tüpü içine 1ml hacminde %10'luk CTAB solüsyonu (100µl CTAB + 900µl dH₂O) hazırlandı. 2ml'lik mikrosantrifüj tüpünde oluşan süpernatant, hazırlanan CTAB solüsyonu üzerine eklendi. 10000rpm'de 2 dakika santrifüj edildi. Üstte oluşan süpernatant döküldü. DNA-CTAB peleti üzerine 1.2M NaCl solüsyonundan 300µl ilave edildi. Tüpün dip kısmındaki pelet yerinden ayrılana kadar vortexlendi. 750µl %99.9 etanol ilave edildi. Mikrosantrifüj tüpü, birkaç kez aşağı yukarı döndürülerek DNA oluşumu gözlemlendi. 13000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi. Üstte oluşan süpernatant döküldü. 1 ml %70 etanol ilave edildi. Ependorf birkaç kez aşağı yukarı döndürülerek DNA gözlemlendi. 13000rpm'de 2 dakika santrifüj edildi. Etanol döküldü ve mikrosantrifüj tüpü iyice kurutuldu. DNA 200-300µl steril distile su içerisinde çözüldü. Spektrofotometri ile DNA yoğunluğu ölçüldü ve DNA konsantrasyonu 50-100 ng/ml olarak kayıt edildi. Elde edilen DNA -20 °C'de saklandı (129).

3.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

PZR, bir çeşit "in vitro klonlama"dır. PZR, DNA'nin iki zincirinin yüksek ısı ile birbirinden ayrılması (denatürasyon), sentetik oligonükleotidlerin hedef DNA'ya bağlanması (hibridizasyonu) ve zincirin uzaması (polimerizasyonu) (çift iplikçikli DNA'ların sentezi) siklusunun belirli sayıda tekrarlanması esasına dayanır. Her adım farklı ısılarda gerçekleştirilir . PZR ile; bir DNA bölgesini 10⁶-10¹² arasında çoğaltmak mümkündür. Yöntemin temeli, çoğaltılmak istenen bölgenin iki ucuna özgü, bu

bölgedeki baz dizilerine tamlayıcı bir çift sentetik oligonükleotid primer (18-20 baz uzunluğunda) kullanılarak, bu iki primer ile sınırlandırıcı genin enzimatik olarak sentezlenmesine dayanır (130-132).

3.2.2.1. Primerlerin Hazırlanması

Test edilen polimorfizmlerin tespiti için kullanılan ileri (Forward=F) ve geri (Reverse=R) primerler, liyofilize halde satın alındı. Primerler, steril, DNaz, RNaz içermeyen saf su ile çözündürüldükten sonra (100pmol/μl), 10pmol/μl'lik stoklar şeklinde hazırlanıp -20°C'de muhafaza edildi. Bu çalışmada kullanılan primer dizileri Tablo3.1' de verilmiştir.

Tablo 3.1: Kullanılan Primer Dizileri

Primer Dizileri		Bağlandığı Gen Bölgesi	Ürün (bp)
İleri primer	TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC	GSTT1	480
Geri primer	TCACCGGATCATGGCCAGCA		
İleri primer	GAAGTCCCTGAAAAGCTAAAGC	GSTM1	219
Geri primer	GTTGGGCTCAAATATACGGTGG		
İleri primer	GACTGTGTGTGATCAGGCG	GSTP1	294
Geri primer	AGCCCTTTCTTTGTTTCAGC		
İleri primer	CAACTTCATCCACGTTACCC	β-GLOBİN	268
Geri primer	GAAGAGCCAAGGACAGGTAC		

3.2.2.2. PZR Reaksiyon Karışımı

GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 (A105G) gen polimorfizmlerinin tespiti için 50μl reaksiyon hacminde PZR karışımı hazırlandı.

GSTM1 ve GSTT1 polimorfizmlerinin herbiri için PZR karışım koşulları aşağıdaki gibidir (Bir örnek için).

dH₂O (31,35 μl)

10XBuffer (5 μl)

dNTP (5μl)

Mg₂Cl (3μl)

İleri Primer (0,2 µl)
 Geri Primer (0,2 µl)
 Taq DNA Polimeraz (0,25 µl)
 DNA (5 µl)

GSTP1 (Kodon 105 A-G) Polimorfizmi için PZR karışım koşulları aşağıdaki gibidir
 (Bir örnek için).

dH₂O (30,85 µl)
 10Xbuffer (5 µl)
 dNTP (5 µl)
 Mg₂Cl (2,5 µl)
 İleri Primer (0,2 µl)
 Geri Primer (0,2 µl)
 Taq DNA Polimeraz (0,25 µl)
 DNA (5 µl)

3.2.2.3. PZR Programları

GSTM1 polimorfizmi:

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

GSTT1 polimorfizmi:

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

GSTP1 polimorfizmi:

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

olarak düzenlendi.

3.2.2.4. Agaroz Jelin Hazırlanması

%2 konsantrasyonda agaroz jel hazırlamak için 2gr agaroz tartıldı, 100 ml 1XTBE tamponu içinde çözüldü ve ısıtıcı blok üzerinde kaynatıldı. Jel 60°C'ye kadar soğutuldu. İçerisine 30µl ethidium bromür ilave edildi. Tarakları yerleştirilen elektroforez kasetine agaroz döküldü. Jel soğuduktan sonra taraklar çıkarıldı ve elektroforez tankına yerleştirildi.

3.2.2.5. PZR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezinde Görüntülenmesi

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

GSTM1 polimorfizmi için 219 bç'lik PZR ürünü ya da null genotip, GSTT1 polimorfizmi için 480 bç'lik PZR ürünü ya da null genotip ve GSTP1 İle105Val polimorfizmi için 294 bç'lik PZR ürünü tespit edildi.

3.2.3. Restriksiyon Enzim Kesimi

Amplifiye edilen gen bölgesindeki polimorfik bölgeye spesifik restriksiyon endonükleazlar kullanılarak restriksiyon enzim kesimi yapıldı.

3.2.3.1. GSTP1 İle105Val Polimorfizmi için PZR ürününün BsmA I Enzimi ile Kesilmesi

GSTP1 genin kodon 105'de meydana gelen İle/Val değişimi BsmA I restriksiyon enzimi için kesim bölgesi oluşturmaktadır.

BsmA I restriksiyon enzimi için kesim koşulları:

2,5µl dH₂O

2µl Buffer O

0,5µl BsmA I restriksiyon enzimi

15µl PZR ürünü

olmak üzere toplam hacim 20µl'dir. Enzim kesimi için 55 °C'de 1,5 saat inkübe edildi.

3.2.3.2. GSTP1 İle105Val Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) Ürününün Agaroz Jel Elektroforezinde İncelenmesi ve Genotip Tayini

GSTP1 İle105Val polimorfizminin tespiti PZR amplifikasyon ürününün restriksiyon enzim kesimini takiben %3'lük agaroz jelde yapıldı.

GSTP1 İle105Val polimorfizmi, 294 bç uzunluğundaki PZR ürününün BsmA I enzimi ile kesilen bant boyları ile tespit edildi:

Homozigot yabanıl form (İle/ İle genotipi) →294bç

Heterozigot mutant form (İle /Val genotipi) → 294 bç, 234 bç, 60 bç

Homozigot mutant form (Val/Val genotipi) → 234 bç, 60 bç şeklinde ayırt edilmektedir.

3.2.4. ELİSA yöntemi ile Anti-GSTT1 antikor tarama testi

Bu testin amacı insan serumundaki GSTT1 proteinine karşı IgG tipi antikor olup olmadığını tespit etmektir. ELİSA yöntemi, antikorları tespit etmek amacıyla kullanılan immünokromatografik bir testtir.

Saflaştırılmış, rekombinant insan GSTT1, mikro-kuyucuklu plağın kuyularına bağlanmıştır. Sulandırılmış örnekler ve kontroller ayrı ayrı kuyulara konur ve var olan anti-GSTT1 antikorlarının sabitlenmiş olan antijene bağlanması sağlanır. Bağlanmayan örnekler yıkamalarla uzaklaştırılır ve alkalın fosfatazla işaretli anti-human IgG konjugat eklenir. İkinci inkübasyon enzim işaretli anti-human IgG'nin mikrokuyulara bağlanmış olan serumdaki antikorlara bağlanmasını sağlar. Bağlanmayan enzim işaretli anti-human IgG yıkama ile uzaklaştırıldıktan sonra, geri kalan enzim aktivitesi kromojenik bir substrat eklenerek ve ortaya çıkan rengin yoğunluğu ölçülerek hesaplanır.

Testin protokolü

Tüm örneklerin ve standartların (negatif kontrol, pozitif kontrol ve blank) çift kuyu çalışılması önerilmektedir. Hacimler 2 kuyu için hesaplanmıştır.

- 1) Kullanmadan önce tüm tamponlar oda ısısına getirildi (20-26°C).
- 2) 4µl örnek ya da kontrolü 396µl seyreltici tampon içinde çözerek 1:100 dilüsyon hazırlandı. Sulandırılan örnekler en kısa sürede analiz edildi. Kullanılmayan örnekler atıldı. Orijinal örnekler ile sulandırılmamış negatif kontrol ve pozitif kontrol bir sonraki kullanıma kadar -20°C'de saklandı.
- 3) Gerekli sayıda ELISA strip plağa yerleştirdi. Kullanılmayacak olan stripler hemen folyonun içine sarılıp +4 °C'ye kaldırıldı.
- 4) İlgili kuyulara, her bir kuyu için 100µl sulandırılmış örnek ve ilgili kontrol kuyularına 100µl kontroller eklendi. Plak kapatıldı ve oda ısısında 1 saat inkübe edildi.
- 5) Bu arada, yıkama tamponu 10x (1:10) sulandırıldı.
- 6) Yıkamalar: Kuyuların içeriği döküldü ve her bir kuyuya 300 µl sulandırılmış yıkama tamponu eklendi, 1-2 saniye inkübe edildi ve döküldü. Bu işlem 5 kez tekrarlandı.

- 7) Her bir kuyuya 100 µl konjuge anti-IgG human-AP eklendi. Plak kapatıldı ve karanlıkta, oda ısısında, 1 saat inkübe edildi.
- 8) Yıkamalar: Kuyuların içeriği döküldü ve her bir kuyuya 300µl sulandırılmış yıkama tamponu eklendi, 1-2 saniye inkübe edildi ve döküldü. Bu işlem 5 kez tekrarlandı.
- 9) Her kuyuya 100µl substrat solüsyonu eklendi. Plak kapatıldı ve oda ısısında, karanlıkta 30 dakika inkübe edildi.
- 10) Her kuyuya 25µl sonlandırma solüsyonu eklendi.

Sonuçların hesaplanması ve değerlendirilmesi

Örneklerin absorbansı (OD), 405 nm dalga boyunda okundu. Pozitif kontrol $OD \geq 1000$, Negatif kontrol $OD \leq 0.5000$ olup, örneklerin absorbans değerleri testin geçerlilik sınırları içindeydi.

3.2.6.İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizler SPSS 15.0 yazılım programı kullanılarak hesaplandı. Genotiplerin ve alellerin gruplara göre dağılımları ki-kare (χ^2) ve Fischer yöntemleri kullanılarak yapıldı. Değerlendirmede $p < 0.05$ olan veriler anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. HASTA GRUBUNA AİT BULGULAR

4.1.1. Hasta ve kontrol gruplarına ait demografik bulgular

Çalışmamıza SDBY tanısı konmuş, canlı vericiden böbrek nakli yapılmış 122 hasta ve vericileri ile 51 sağlıklı kontrol (SKG) dahil edildi. Hastalardan 57 (%46.7)'si nakil sonrası akut veya kronik rejeksiyon atağı geçirmiş rejeksiyonlu hasta grubunu (R+HG) oluştururken, 65 (%53.3)'i nakil sonrası rejeksiyon atağı geçirmemiş rejeksiyonsuz hasta grubunu (R-HG) oluşturmaktadır. Hastaların yaş ortalaması 35.38 ± 11.2 yıl (yaş aralığı: 18-60; K/E: 44/78) idi (Tablo 4.1).

Tablo:4.1: Hasta ve kontrol gruplarının demografik özellikleri

	Hasta Grubu (n=122)	Rejeksiyon (+) Hasta Grubu (n=57)	Rejeksiyon (-) Hasta Grubu (n=65)	Sağlıklı Kontrol Grubu (n=51)	p
Yaş	35.38 ± 11.2 (18-60 yaş)	34.3 ± 10.6 (18-59 yaş)	34.5 ± 10.4 (18-60 yaş)	37.5 ± 12.9 (19-73 yaş)	>0.05
Cinsiyet					
Kadın	44 (%36)	22 (%38.5)	22 (%33.8)	26 (%50.9)	>0.05
Erkek	78 (%64)	35 (%61.5)	43 (%66.2)	25 (%49.1)	
Kan Grubu					
A	68 (%55.7)	31 (%54.3)	37 (%56.5)	26 (%51)	>0.05
B	15 (%12.2)	8 (%14.2)	7 (%11)	7 (%13.7)	
AB	2 (%1.8)	1 (%1.7)	1 (%1.5)	2 (%4)	
O	37 (%30.3)	20 (%29.8)	20 (%31)	16 (%31.3)	
Primer Hastalık Tanısı					
Kronik Glomerülonefrit	37 (%30.2)	16 (%28.3)	19 (% 29.3)	-	>0.05
Kronik taşlı pyelonefrit	20 (%16.2)	10 (%17.5)	10 (% 15.4)	-	
Amiloidoz	9 (%7.2)	4 (% 7)	5 (% 7.6)	-	
Polikistik böbrek hastalığı	3 (%2.4)	1 (%1.7)	2 (% 3)	-	
Diyabetik nefropati	6 (%4)	3 (% 5.2)	3 (% 4.6)	-	
HT'na bağlı nefroskleroz	9 (%7.3)	4 (%7)	5 (% 7.6)	-	
Etiyolojisi bilinmeyen	40 (%32.7)	19 (%33.3)	21 (% 32.5)	-	

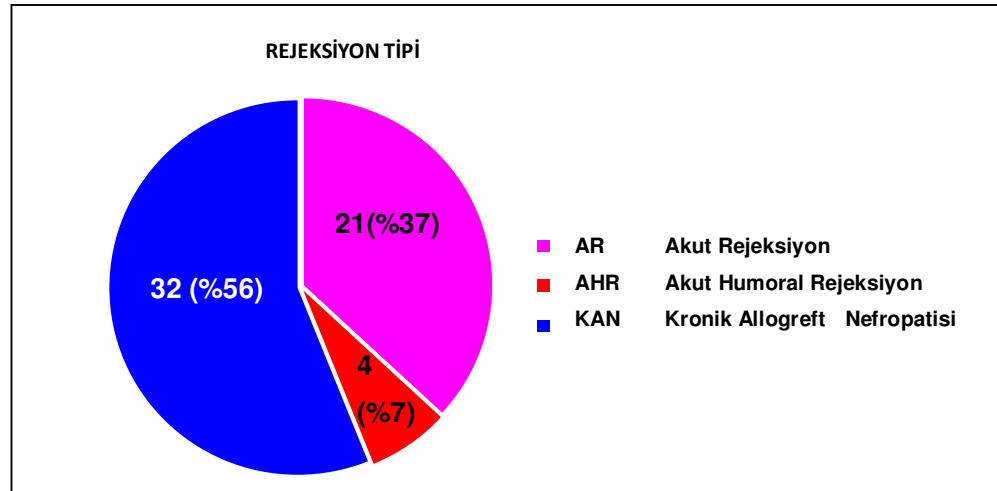
R+HG vericilerinin yaş ortalaması 54.9 ± 11.7 yıl (yaş aralığı: 23-81, K/E: 38/19), R-HG vericilerinin yaş ortalaması 50.8 ± 9.74 yıl (yaş aralığı: 33-75, K/E: 41/24) olarak hesaplandı.

R+HG'daki 25 (%44) hasta akut rejeksiyon atağı geçirmişken 32 (%56) hasta ise kronik rejeksiyon atağı geçirmişti (Tablo 4.2). Rejeksiyonlu hasta grubunun rejeksiyon tipine göre dağılımı Şekil 4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2: R+HG rejeksiyon tipleri

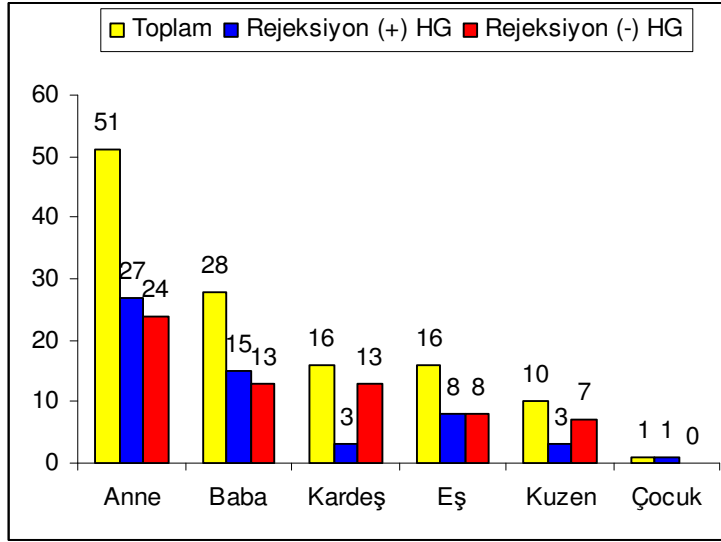
Rejeksiyon tipi	Rejeksiyon geçirme süresi (ay)	Klinik n=9	Biyopsi n=48
Akut Rejeksiyon n=25 (%44)	6.68 ± 10.61 (0-39 ay)	8	17
Kronik Rejeksiyon n=32 (%56)	62.16 ± 53.95 (2-188 ay)	1	31

Şekil 4.1. Rejeksiyon (+) hasta grubunun rejeksiyon tipleri



Hastaların tümü canlı vericilerinden nakil olmuştu. R+HG’da 27 (%47.7) hasta annesinden nakil olurken R-HG’da 24 (%36.9) hasta annesinden nakil olmuştur. Tüm hasta grubunda 51 (%41.8) hasta anneden nakil olmuştu. R+HG ve R-HG vericileri açısından kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$). Şekil 4.2’de hastaların vericilerinin yakınlığı gösterilmiştir.

Şekil 4.2: Hasta-verici yakınlık ilişkisi



Hastaların ve vericilerinin tümünün nakil öncesi HLA tiplendirilmesi yapılmıştı. Rejeksiyonlu gruptaki hastalardan yalnızca birine HLA uyumsuz nakil yapılırken, rejeksiyonsuz grupta 4 hastaya HLA uyumsuz nakil yapılmıştı (Tablo 4.3).

Tablo 4.3: Hasta-verici HLA uyumları

	Doku uyumsuz	1A,1B/1A,1DR/1B,1DR/1DR	1A,1B,1DR ve üstü uyum	2A,2B,2DR	Bilinmiyor
R+HG (n=57)	1 (%1.6)	3 (%5.3)	48 (%84.3)	3 (%5.3)	2 (%3.5)
R-HG (n=65)	4 (%6.3)	3 (%4.6)	49 (%75.3)	7 (%10.7)	2 (%3.1)

Rejeksiyon atağı geçirmiş 6 (%10.5) geçirmemiş 5 (%7.6) hastada Rh uyumsuzluğu vardı.

R+HG ve R-HG'lerinde yer alan hastaların tümü ilk kez böbrek nakli olmuştu. R+HG'da 9 (%15.7), R-HG'da ise 12 (%18.4) hasta ise nakil öncesi hiç diyalize girmemişti.

R+HG'da 38 (%66.6) (kan transfüzyonu n=31, kan transfüzyonu ve gebelik n=7), R-HG'da ise 26 (%40) (kan transfüzyonu n=20, gebelik n=3, kan transfüzyonu ve gebelik n=3) hasta nakil öncesi aldığı kan transfüzyonu ya da gebelik nedeniyle yabancı HLA antijenlerine maruz kalmıştı (Tablo 4.4).

Tablo 4.4: Hasta grubu sensitizasyon bilgileri

	Kan Transfüzyonu		Gebelik		PRA Sınıf I		PRA Sınıf II	
	Var	Yok	Var	Yok	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif
R(+)-HG	38 (%66.7)	19 (%33.3)	7 (%12.3)	50 (%87.7)	55 (%96.5)	2 (%3.5)	56 (%98.2)	1 (%1.8)
R(-)-HG	23 (%35.4)	42 (%64.6)	6 (%9.2)	59 (%90.8)	64 (%98.5)	1 (%1.5)	64 (%98.5)	1 (%1.5)
p değeri	p=0.0005		p>0.05		p>0.05		p>0.05	

R+HG ve R-HG'leri ile kan transfüzyonu karşılaştırıldığında, R+HG'da kan transfüzyonu hikayesi anlamlı olarak yüksek ($p=0,0005$) saptanırken gebelik, PRA Sınıf I ve PRA Sınıf II parametreleri açısından istatistiksel anlamlılık bulunamadı ($p>0,05$).

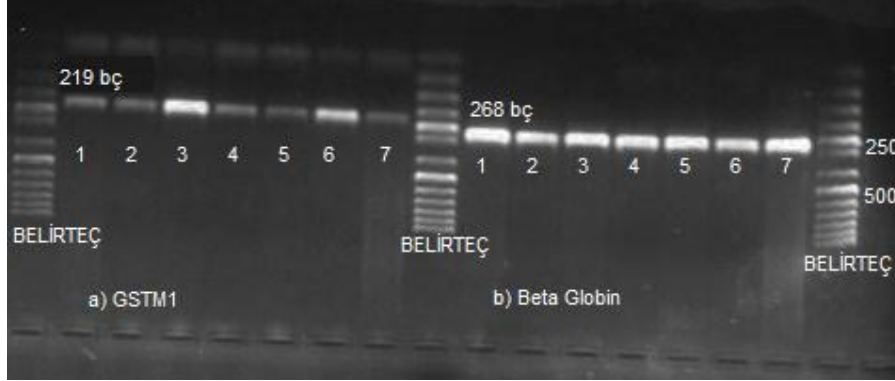
Çalışmaya dahil edilen R+HG ve R-HG'ndaki hastalar aldığı immünsupresif tedavi protokolleri açısından değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlılık bulunamadı ($p>0.05$). Tablo 4.5'de gösterilmiştir.

Tablo 4.5: Hastaların kullandığı immünsupresif tedavi

İmmünsüpresif Tedavi	AR+ HG	KR+ HG	R-HG	p
FK+MMF+STEROİD	12	3	28	>0.05
CsA+MMF+STEROİD	9	14	28	>0.05
CsA+AZA+STEROİD	1	11	0	>0.05
FK+AZA+STEROİD	3	2	3	>0.05
CsA+RAPA+STEROİD	0	0	1	>0.05
MMF+STEROİD	0	1	0	>0.05
RAPA+MM+STEROİD	0	0	5	>0.05
AZA+STEROİD	0	1	0	>0.05

4.1.2. Hasta ve kontrol gruplarının GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 genotip bulguları

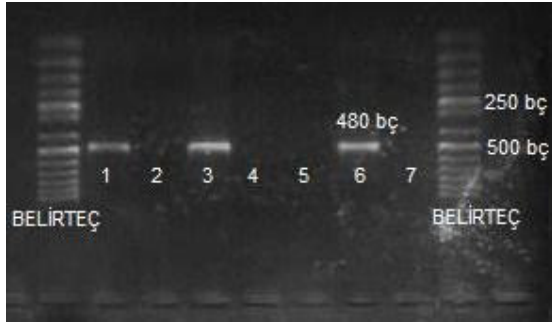
Hasta ve kontrol gruplarına ait internal kontrol β -globin geni, GSTM1 geni, GSTT1 geni, GSTP1 ekzon 5 gen bölgesine ait jel görüntüleri Şekil 4.3, Şekil 4.3.1, Şekil 4.3.2 ve Şekil 4.3.3’de gösterilmektedir.



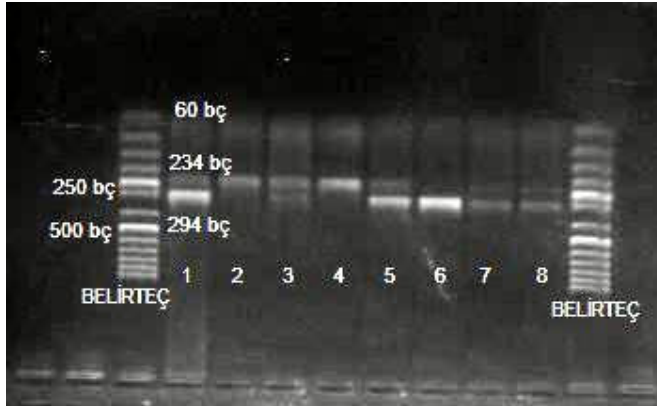
Şekil 4.3: β -globin ve GSTM1 genotip analizi. a) 219 bç'lik GSTM1 geni pozitif saptanan 7 örnek görüntüsü, b)İnternal kontrol için β -globin lokusundan 268 bç'lik ürün görüntüsü



Şekil 4.3.1: GSTM1 genotip analizi. 2,6: GSTM1 null genotip, 1,3,5,7: GSTM1 + genotip



Şekil 4.3.2: GSTT1 genotip analizi. 2,4,5: GSTT1 null genotip, 1,3,6: GSTT1 + genotip



Şekil 4.3.3: GSTP1 genotip analizi. 1,3,5,7,8: GSTP1 AG genotip, 2,4: GSTP1 GG genotip, 6: GSTP1 AA genotip

Tüm böbrek hastalarını kontrol grubu ile GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 açısından karşılaştırdığımızda istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilemedi (Tablo 4.6). Kontrol grubunda genotip dağılımı, Hardy-Wienberg dengesindedir.

Tablo 4.6. Hasta ve kontrol grubu arasında GST genotiplerinin karşılaştırması

GSTM1	HASTA (n=122)	KONTROL (n=51)	p	CI	OR
Genotipler					
GSTM1 (-)	45 (%36.9)	23 (%45.1)	>0,05	0.36-1.38	0.71
GSTM1 (+)	77 (%63.1)	28 (%54.9)			

GSTT1	HASTA (n=122)	KONTROL (n=51)	p	CI	OR
Genotipler					
GSTT1 (-)	46 (%37.7)	16 (%31.4)	>0.05	0.66-2.65	1.32
GSTT1 (+)	76 (%62.3)	35 (%68.6)			

GSTP1	HASTA (n=122)	KONTROL (n=51)	p	CI	OR
Genotipler					
AA	85 (%69.7)	37 (%72.5)	>0.05*	0.42-1.79	0.86
AG	33 (%27)	12 (%23.5)			
GG	4 (%3.3)	2 (%4)	>0.05**	0.14-4.68	0.83
Aleller					
A	203 (%83.2)	86 (%84.3)	>0.05	0.49-1.73	0.92
G	41 (%16.8)	16 (%15.7)			

* AA&GG+AG **GG&AA+GA

Rejeksiyonlu ve rejeksiyonsuz gruptaki hastalar ile vericilerinin ve sağlıklı kontrol grubunun GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 genotip sonuçları Tablo 4.7, Tablo 4.8 ve Tablo 4.9’de gösterilmiştir.

Tablo 4.7. R+HG ve vericilerinin genotip dağılımları

R+HG	HASTA			VERİCİ			R+HG	HASTA			VERİCİ		
	GSTM1	GSTT1	GSTP1	GSTM1	GSTT1	GSTP1		GSTM1	GSTT1	GSTP1	GSTM1	GSTT1	GSTP1
1	N	N	AA	P	N	AA	30	P	P	AG	N	P	AG
2	P	N	AA	P	P	AA	31	P	P	AG	N	P	AG
3	N	P	GG	P	P	AG	32	N	P	AA	P	P	AA
4	P	P	AG	N	P	AG	33	N	P	AA	N	P	AA
5	P	P	AA	N	P	AA	34	P	P	AA	P	P	AA
6	N	P	AA	P	N	AA	35	P	P	AA	P	P	AG
7	P	N	AA	P	P	AA	36	P	N	AA	P	N	AA
8	P	P	AA	P	P	AA	37	N	P	AA	P	P	AA
9	N	P	AA	P	P	AA	38	P	P	AA	P	N	AA
10	P	P	AG	P	P	AG	39	N	N	AG	N	N	AA
11	P	P	AA	N	P	AA	40	N	P	AA	P	P	AA
12	N	P	AA	N	P	AA	41	N	P	AA	N	N	AG
13	P	N	AA	N	P	AA	42	P	P	AA	N	N	AG
14	N	N	AA	P	P	AA	43	N	P	AG	N	P	AG
15	P	P	AG	P	P	AA	44	P	N	AA	N	P	AA
16	P	P	AA	N	P	AA	45	N	P	AG	P	P	AG
17	N	P	AA	P	N	AG	46	N	N	AG	N	N	AA
18	P	P	AA	N	N	AA	47	P	P	AA	N	P	AA
19	N	P	AA	N	P	AA	48	N	P	AG	N	P	AG
20	P	P	AA	N	P	AG	49	N	N	AA	P	P	AA
21	N	P	AA	P	P	AA	50	P	N	AA	P	N	AA
22	P	P	AG	P	N	AA	51	N	N	AA	N	N	AA
23	P	N	AA	P	P	AG	52	P	N	AA	P	N	AA
24	P	N	AG	P	P	AG	53	N	N	AA	P	P	AA
25	P	P	AG	P	P	AA	54	N	N	AG	P	P	AG
26	N	N	AG	P	N	AG	55	N	P	AA	P	P	AA
27	P	P	AG	P	P	AA	56	P	P	AA	P	P	AA
28	P	P	AA	N	P	AA	57	P	N	AA	P	P	AA
29	P	P	AG	P	N	AG							

*N: Negatif (Null) P: Pozitif (Heterozigot/homozigot)

Tablo 4.8. R-HG ve vericilerinin genotip dağılımları

R- HG	HASTA			VERİCİ			R- HG	HASTA			VERİCİ		
	GSTM1	GSTT1	GSTP1	GSTM1	GSTT1	GSTP1		GSTM1	GSTT1	GSTP1	GSTM1	GSTT1	GSTP1
1	N	P	AG	N	P	AG	34	P	P	AG	N	P	AG
2	N	P	AG	P	P	AG	35	P	P	AA	N	P	AA
3	P	P	AA	P	N	AA	36	N	N	AA	N	N	AA
4	P	N	AA	N	N	AG	37	P	P	AA	P	N	AA
5	P	N	AA	P	N	GG	38	P	P	AA	P	P	AG
6	P	P	AG	P	P	AA	39	P	N	AA	P	P	AA
7	P	P	AA	P	P	AA	40	N	P	AA	N	P	AA
8	N	P	AA	N	P	AA	41	P	N	AG	P	N	AA
9	N	N	AA	P	P	AA	42	P	N	AA	N	N	AA
10	P	P	AA	N	N	AA	43	N	P	GG	P	N	AA
11	P	N	AA	P	N	AA	44	N	N	AA	P	P	AA
12	P	N	AA	P	N	AA	45	N	P	AG	P	P	AA
13	P	N	AA	P	P	AA	46	N	N	AA	N	P	AG
14	P	P	AA	N	P	AA	47	P	P	AA	P	P	AA
15	N	P	GG	N	P	GG	48	N	N	AA	N	P	AG
16	P	P	AA	P	P	AA	49	P	P	AG	N	N	AG
17	P	P	AA	N	N	AA	50	N	N	AG	P	P	AG
18	N	P	AA	N	N	AA	51	N	P	AA	P	N	AG
19	P	P	AG	P	N	AG	52	N	N	AA	N	N	AA
20	P	P	AA	P	P	AA	53	P	N	AA	P	N	AA
21	P	N	AA	P	N	AA	54	P	P	AA	P	P	AA
22	N	N	AA	P	P	AA	55	P	P	AA	P	P	AA
23	P	N	AA	P	N	AA	56	P	P	AA	P	N	AA
24	P	P	AG	P	P	AG	57	P	P	AG	P	P	AA
25	P	P	GG	P	P	GG	58	P	P	AA	P	P	AA
26	P	N	AA	P	P	AA	59	P	P	AG	P	P	AG
27	P	N	AA	P	P	AG	60	P	N	AA	N	P	AA
28	N	N	AG	P	P	AG	61	P	P	AA	N	P	AG
29	P	N	AA	P	P	AA	62	P	P	AA	P	P	AA
30	P	P	AA	P	P	AA	63	P	N	AG	P	N	AG
31	N	N	AA	P	P	AA	64	P	P	AA	P	P	AG
32	P	P	AG	P	P	AA	65	P	N	AG	P	P	AG
33	N	P	AA	N	N	AA							

*N: Negatif (Null) P: Pozitif (Heterozigot/homozigot)

Tablo 4.9. SKG'nun genotip dağılımları

SKG	GSTM1	GSTT1	GSTP1	SKG	GSTM1	GSTT1	GSTP1
1	P	P	AA	27	N	N	AG
2	P	N	AA	28	N	P	AG
3	P	N	AG	29	P	P	AA
4	N	P	AG	30	N	P	AA
5	P	N	AA	31	N	N	AG
6	N	P	AA	32	P	P	AA
7	P	P	AG	33	P	N	AA
8	N	P	AA	34	P	P	AA
9	N	P	AA	35	P	N	AG
10	N	N	AA	36	P	N	AA
11	N	N	AA	37	P	P	AA
12	P	P	AG	38	P	P	AG
13	P	N	GG	39	P	P	AA
14	N	P	AA	40	N	N	AA
15	N	P	AA	41	P	P	AG
16	N	P	AA	42	N	P	AA
17	P	P	AA	43	P	P	AA
18	P	P	AA	44	N	N	AA
19	P	P	AA	45	P	P	AA
20	P	N	AA	46	N	P	AA
21	P	N	AA	47	N	P	GG
22	P	P	AA	48	P	P	AA
23	P	P	AA	49	N	P	AG
24	N	P	AA	50	N	P	AA
25	N	P	AA	51	P	P	AG
26	N	N	AA				

*N: Negatif (Null) P: Pozitif (Heterozigot/homozigot)

Rejeksiyon (+) ve (-) hasta grupları ile sağlıklı kontrol grubunun GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 genotip dağılımları Tablo 4.10'da gösterilmiştir. Her üç grup GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 genotipleri açısından istatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlı bir sonuç elde edilemedi ($p>0.05$). GSTP1 A alel frekansı tüm hasta grubunda ($n=122$) %83 olarak tespit edildi. Hasta grubu R+HG ($n=57$) ve R-HG ($n=65$) olarak 2 gruba ayrıldığında, her bir hasta grubundaki GSTP1 A alel frekansının da %83 olduğu bulundu. SKG'da ise %84 idi. G alel frekansı tüm hasta grubunda %17 olarak tespit edildi. R+HG ve R-HG gruplarındaki GSTP1 G alel frekansının da %17 olduğu bulundu. SKG'da ise %16 idi.

Tablo 4.10. GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 genotip dağılımları

	GSTM1 (+)	GSTM1 (-)	GSTT1 (+)	GSTT1 (-)	GSTP1 AA	GSTP1 AG	GSTP1 GG
R(+)HG	32 (%56.1)	25 (%43.9)	38 (%66.7)	19 (%33.3)	39 (%68.4)	17 (%29.8)	1 (%1.8)
R(-)HG	45 (%69.2)	20 (%30.8)	38 (%58.5)	27 (%41.5)	46 (%70.8)	16 (%24.6)	3 (%4.6)
SKG	28 (%54.9)	23 (%45.1)	35 (%68.6)	16 (%31.4)	37 (%72.5)	12 (%23.5)	2 (%4)

R+HG ve R-HG GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 genotipleri açısından karşılaştırdığımızda istatistiksel olarak anlamlı bir değer bulunamadı ($p>0.05$). Rejeksiyonlu hasta grubu rejeksiyon tipine göre her GST genotipi için değerlendirildiğinde anlamlı bir sonuç bulunamadı ($p>0.05$) (Tablo 4.11).

Tablo 4.11. Rejeksiyon tipine göre GST polimorfizm dağılımları

	AR	AHR	KAN
GSTM1 (+)	10 (%47.6)	2 (%50)	20 (%62.5)
GSTM1 (-)	11 (%52.4)	2 (%50)	12 (%37.5)
GSTT1 (+)	12 (%57.1)	4 (%100)	22 (%68.8)
GSTT1 (-)	9 (%42.9)	0	10 (%31.2)
GSTP1 AA	13 (%61.9)	4 (%100)	22 (%68.8)
GSTP1 AG	7 (%33.3)	0	10 (%31.2)
GSTP1 GG	1 (%4.8)	0	0

Tüm böbrek hasta ve vericilerinin GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 genotipleri incelendiğinde; elli dört (%44.3) hasta ve vericisinde GSTM1 (+) iken 19 (%15.6) hasta ve vericisinde ise GSTM1 (-) bulundu. Hasta grubunun rejeksiyon atağı geçirmiş 16'sında GSTM1 genotipi negatif, vericilerinin genotipleri pozitif olarak saptandı. Rejeksiyon geçirmemiş 10 hastanın GSTM1 genotipi negatif, vericilerinin genotipleri pozitif bulundu. Yapılan istatistiksel analizde anlamlı bir sonuç elde edilemedi ($p=0.08$, OR:0.46, CI:0.19-1.13). Elli yedi (%46.7) hasta ve vericisinde GSTT1 (+) iken 20

(%16.4) hasta ve vericisinde ise GSTT1 (-) saptandı. Hasta ve vericilerinde GSTP1 genotip dağılımları tablo 4.12’de gösterilmiştir.

Tablo 4.12: Hasta grubunda alıcı ile vericide GSTP1 uyumu

HASTA	VERİCİ		
	GSTP1 A/A	GSTP1 A/G	GSTP1 G/G
GSTP1 A/A	70 (%57.4)	14 (%11.5)	1 (%0.8)
GSTP1 A/G	11 (%9)	22 (%18)	0 (%0)
GSTP1 G/G	1 (%0.8)	1 (%0.8)	2 (%1.6)

Hasta ve kontrol grupları arasında GST genotip frekansları sıklığı araştırıldığında istatistiksel olarak bir anlamlılık saptanamadı (Tablo 4.15). Rejeksiyon tipi ile genotip frekanslarını karşılaştırdığımızda da anlamlı bir veri elde edilemedi ($p>0.05$).

Hastaları yaşlarına göre sınıflandırdığımızda yaş ile rejeksiyon gelişimi arasında anlamlı bir sonuç elde edilemedi ($p>0.05$)(Tablo:4.1). Hasta grubumuzdaki 122 hastanın primer tanıları ile GSTM1, T1 ve P1 genotiplerini istatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlı bir sonuç elde edilemedi ($p>0.05$)(Tablo:4.1).

Rejeksiyon atağı geçirmiş 32 hasta ile rejeksiyon atağı geçirmemiş 48 hasta diyaliz süreleri açısından incelendiğinde 18 ay veya daha kısa diyaliz süresi olanlarda rejeksiyon gelişiminin anlamlı olarak düşük olduğu bulundu ($p=0.031$)(Tablo4.13). Ancak diyaliz süresi ile GSTM1, T1 ve P1 genotiplerini karşılaştırdığımızda da anlamlılık saptanamadı ($p>0.05$).

Tablo 4.13: Hasta grubu ve diyaliz süresi ilişkisi

	18 ay üstü diyaliz süresi	18 ay altı diyaliz süresi	p
R+HG	32	25	0.031
R-HG	48	17	

GSTM1 null genotipine sahip R+HG’nun kullandıkları immünsupresif ilaçlar (Kalsinörin inhibitörleri) açısından değerlendirildiğinde GSTM1 null genotipi taşıyan CsA kullanan hastalarda GSTM1 null genotipi taşıyan takrolimus (FK) kullanan hastalara göre rejeksiyon sıklığının daha fazla olduğu ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p=0.029$)(Tablo 4.14).

Tablo 4.14:GSTM1(-) genotipli R+HG’nda kullanılan kalsinörin inhibitörleri

Kalsinörin inhibitörü	GSTM1(-)	GSTM1(+)	p
CsA kul. hastalar (n=35)	14 (%40)	21 (%60)	0.029
FK kul.hastalar (n=20)	11 (%55)	9 (%45)	

Tablo 4.15. Hasta ve kontrol gruplarında GST genotip frekans dağılımı

Genotip	R+HG (n=57)	R-HG (n=65)	KONTROL (n=51)	p
GSTM1 ve GSTT1				
M1&T1	22	28	19	>0.05
M0&T0	9	10	7	>0.05
M1&T0	10	17	9	>0.05
M0&T1	16	10	14	>0.05
GSTM1 ve GSTP1				
M1&P1	32	44	27	>0.05
M0&P0	8	7	6	>0.05
M1&P0	10	12	8	>0.05
M0&P1	22	18	22	>0.05
GSTT1 ve GSTP1				
T1&P1	37	35	34	>0.05
T0&P0	5	5	5	>0.05
T1&P0	13	15	9	>0.05
T0&P1	19	27	15	>0.05
GSTT1, GSTM1 ve GSTP1				
P1,M1&T1	22	27	19	>0.05
P0,M0&T0	4	2	2	>0.05
P1,M0&T0	9	10	7	>0.05
P0,M0&T1	4	5	4	>0.05
P0,M1&T0	1	1	2	>0.05
P0,M1&T1	9	9	5	>0.05
P1,M0&T1	14	8	12	>0.05
P1,M1&T0	9	17	8	>0.05
M1,T1:Var				
P1:A aleli				
M0,T0:Yok				
P0:G aleli				

Tüm hasta grubunda GSTT1 null genotipine sahip olanlarda, anti-GSTT1 antikoruna bakıldı. Null genotipine sahip 46 hastanın 12 (%34.7)'sinde anti-GSTT1 antikoru saptandı. Antikor saptanan 12 hastanın 8 (%66.6)'i akut/kronik rejeksiyon atağı geçirmiş hastalardı. Rejeksiyonlu ve rejeksiyonsuz hasta grupları anti-GSTT1 antikoru açısından karşılaştırıldığında, rejeksiyonlu grupta antikor varlığı istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.04$) (Tablo 4.16).

Tablo 4.16. Rejeksiyonlu HG ve anti-GSTT1 antikoru ilişkisi

	R (+) HG (n=19)*			R (-) HG (n=27)	R(+)HG & R(-)HG		
	AR (n=8)	AHR	KAN (n=11)		P	OR	CI
Anti-GSTT1 antikoru	5 (%41.7)	0	3 (%25)	4 (%33.3)	0.04	4.18	1.03-16.94
Verici GSTT1 (-)	1 (%20)	0	1 (%33.4)	2 (%50)			
Verici GSTT1 (+)	4 (%80)	0	2 (%66.6)	2 (%50)			

*R+HG ve R-HG'ları anti-GSTT1 antikoru varlığı açısından karşılaştırıldığında $p=0.04$ değeri bulunmuştur.

Anti-GSTT1 antikoru pozitif olan hastalarda, anti-GSTT1 antikoru negatif olan hastalara göre AR gelişme riski daha fazla olarak saptandı ($p=0.02$) (Tablo 4.17).

Tablo 4.17: ARHG ile anti-GSTT1 antikoru ilişkisi

	AR (+) HG	AR (-) HG	p	OR	CI
Anti-GSTT1 Antikoru(-)	3 (%8.8)	31 (%91.2)	0.02	0.13	0.02-0.70
Anti-GSTT1 Antikoru (+)	5 (%41.7)	7 (% 58.3)			

CsA ve takrolimus (FK) tedavileri altındaki hastalarda anti-GSTT1 antikor gelişimi karşılaştırıldığında FK tedavisi altındaki hastaların 3/21'ünde (%16) antikor saptanırken CsA tedavisi altındaki hastaların 8/21'inde (%38) anti-GSTT1 antikoru saptandı. İki grup arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p=0.08$).

Anti-GSTT1 antikorunun varlığı ile kan transfüzyonu, gebelik, HLA uyumu ve kullanılan immünsüpresif tedavi parametreleri birlikte değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlılık saptanamadı ($p>0.05$).

5. TARTIŞMA

Hücrede oksidatif fosforilasyon, mitokondrial elektron transportu, ksenobiyotik metabolizması ve inflamasyon gibi hücre süreçleri boyunca devamlı olarak reaktif oksijen türleri oluşmaktadır. Hücresel serbest radikaller fizyolojik sınırlar üstüne çıktığında hücre içi reaktif oksijen türleri artar. Bu moleküller, DNA, protein, karbonhidrat, lipid gibi önemli makromoleküller ile reaksiyona girerek fizyolojik sürecin bozulmasına neden olurlar (1,2).

Oksidanların aşırı üretimi ve antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengesizlik sonucu oluşan oksidatif stres, hücre ve doku hasarına neden olur. Oksidatif stres ve oksidatif hasar, kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar ve bazı kanser türlerinde KBY gibi birçok fizyopatolojik süreçte önemli rol oynar. Oksidatif stresi pek çok antioksidan savunma sistemleri enzimatik ve enzimatik olmayan yollarla önleyebilmektedir (96).

KBY, sebep-sonuç ilişkisi bilinmeyen oksidatif stres ile seyreden klinik tablolardan biridir. Bu hastalarda antioksidan sistem zayıflamış aynı zamanda prooksidan aktivite artmıştır. KBY'li hastaların eritrositlerinde GST enzimlerinin aşırı üretimi gösterilmiştir (97-99,118).

Böbrek nakilli hastalarda da oksidatif stresin arttuğu bilinmektedir. Minz ve ark.'ının yaptığı çalışmada stabil böbrek nakilli hastalarda antioksidan mekanizmaların artışıyla dengelenebilecek bir oksidatif stres artışı gösterilmiştir (97).

Birçok ksenobiyotik toksisitesi ve serbest oksijen radikalleri için böbrek önemli bir hedef organdır. Antioksidan enzimlerinin aktivitesini azaltan genotipe sahip bireylerin oksidatif hasar gelişimi açısından risk altında olduğu düşünülür. GST, birçok substratın biyotransformasyonunun faz II'sinde önemli bir rol oynayan ve ROS'lara karşı hücreyi koruyan gen süperailisidir (7). Ayrıca böbrek nakli sonrası kullanılan immünsupresif ajanların neden olduğu toksisiteye ve ksenobiyotik bileşiklere karşı korumada önemlidir (120,121).

Biz bu çalışmada, SDBY gelişimi ile akut ya da kronik rejeksiyonun meydana gelmesinde GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 genlerindeki genetik çeşitliliğin rollerini ve rejeksiyon ile anti-GSTT1 antikor ilişkisini araştırmayı amaçladık.

Türk Nefroloji Derneğinin 2008 yılı içinde canlı vericiden yapılan nakillerin %34.9'u anneden, %19.5'i eşten, %14.8'i babadan yapıldığı bildirilmiştir (12). Bizim çalışmamızda da bu verilerle uyumlu olarak, 122 kişilik hasta grubundan 51 (%41.8)'nin anneden nakil olduğu bilgisine ulaşıldı.

Pek çok çalışma HLA uyumu ve iyi greft sağkalımı arasındaki ilişkiyi göstermiştir. Türk toplumunda da 2008 yılı içerisinde canlı vericiden nakil olan hastaların büyük bir çoğunluğu HLA uyumlu vericiden nakil olurken sadece %6.5 oranında HLA uyumsuz nakil yapılmıştır (12). Tez çalışmamızda, rejeksiyonlu gruptaki hastalardan yalnızca birine HLA uyumsuz nakil yapılırken, rejeksiyonsuz grupta 4 hastaya HLA uyumsuz nakil yapılmıştı.

R+HG ve R-HG'ları sensitizasyon bilgileri açısından karşılaştırıldığında R+HG'nun %66.6'sı, R-HG'nun %40'ı kan transfüzyonu ya da gebelik nedeniyle sensitize olmuş bireylerdi. Anti-HLA antikorları, kan transfüzyonu, gebelik ve daha önce geçirilmiş nakil gibi sensitize edici olaylara maruz kalınması sonucu gelişiyor olsa da bireyden bireye farklılık göstermektedir (39). Bu tez çalışmasında, nakil öncesi R+HG'unda sadece 2 hasta PRA sınıf I ve bir hastada PRA sınıf II, R-HG'da ise bir hasta PRA sınıf I ve bir hastada PRA sınıf II antikorlarını taşımaktaydı ve bu antikorlar DSA olmadığı için nakile bir engel oluşturmadı. Yapılan bir çalışmada nakilden uzun süre önce hastalar duyarlı hale gelmiş olsalar bile, DSA'ler çok düşük düzeyde mevcut olduğundan nakil öncesi PRA'ları negatif çıkabileceğini fakat nakil sonrası bellek B hücreleri vasıtasıyla DSA'lerin sayısı hızla arttığını ve humoral rejeksiyon belirtilerinin ortaya çıktığını göstermiştir (36).

Son dönem KBY hastalarında uygulanan tedavi seçeneklerinden olan hemodiyaliz (HD) oksidatif stresi artırır. HD esnasında ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin en önemli kaynağı kullanılan membranlar ve diyalizat sıvısının aktive ettiği PMNL'dir. Köken ve arkadaşlarının (108) yaptığı bir çalışmada, HD tedavi süresi artışına paralel olarak oksidan stresin arttığı antioksidan kapasitenin ise azaldığı gösterilmiştir. Bu durum protein oksidasyonunun bir göstergesi olan karbonillerin HD ile atılmadığı ve HD süresiyle paralel olarak artması şeklinde bağlamıştır. Bizim çalışmamızda 18 ay ve daha kısa diyaliz süresi olan hastalarda rejeksiyon gelişimi anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Bu sonuç rejeksiyon fizyopatolojisinde oksidatif stresin önemini göstermektedir.

Türk Nefroloji Derneği 2008 yılında 1065 böbrek nakli yapılmış hastaların 169'unda (%15.9) ilk altı ayda akut rejeksiyon görüldüğünü ve bunlarında 54'ünün (%5.1) biyopsi ile kanıtlandığı bilgisini vermiştir (12). Tez çalışmamıza aldığımız 25 (%44) AR geçirmiş hastanın ortalama rejeksiyon geçirmesi süresi 6.68 ay bulunup, TND bilgileri ile uyum göstermektedir. Hastalarımızın %68'inin biyopsi ile rejeksiyonu kanıtlanmıştır.

Ye ve ark.'ları (133) yapmış oldukları meta analiz çalışmasında 13 tanesi Avrupa, 14 tanesi Amerika ve 3 tanesi Asya ülkesine ait toplam 30 çalışmayı inceleyerek, çalışmalara ait kontrol gruplarından GST genotip frekanslarını belirlemişlerdir. Buna göre, Asyalılarda GSTM1 null genotip frekansını %32-53.5, GSTT1 null genotip frekansını %30.2-54.0, Amerikalılarda GSTM1 null genotip frekansını % 27.6-56.9, GSTT1 null genotipi frekansını %13.8-31.6 ve Avrupalılarda GSTM1 null genotip frekansını %44.1-57.8, GSTT1 null genotip frekansını %8-25.5 olarak hesaplamışlardır.

Türkiye'de yapılan çalışmalarda, GSTM1 null genotip frekansını, Balta ve ark.'ları (142) %54.6, Pınarbaşı ve ark.'ları (135) %18, Aras ve ark.'ları (136) %66, Öztürk ve ark.'ları (137) %49.2, Demir ve ark.'ları (134) %52.6, Özbek (138) ve Seyitoğulları (139) grupları ise %47 bulurken, Tursen (141) ve Tamer (140) grupları ise %41 oranında rapor etmişlerdir. Bu çalışmada sağlıklı kontrol grubunda GSTM1 null genotip frekansı %45.1 saptandı. Pınarbaşı ve ark.'ları (135) sadece Türkiye'nin Orta Anadolu Bölgesi'nde yaşayan sağlıklı bireyleri kontrol grubu olarak çalışmalarına dahil ettiklerinden GSTM1 null genotip frekansı diğer çalışmalar ile farklılık göstermektedir .

Türk toplumunda GSTT1 null genotip frekansının araştırıldığı çalışmalarda, Balta ve ark.'ları (142) %22.7, Ekinci ve ark.'ları (143) %20, Altaylı ve ark.'ları (144) % 7 oranlarını bulurlarken bizim çalışmamızda GSTT1 null genotip frekansı %31.4 olarak saptandı. Altaylı ve ark.'ları (144) kontrol grubu olarak sadece Türkiye'nin Karadeniz Bölgesi'nde yaşayan sağlıklı bireyleri çalışmalarına dahil ettiklerinden GSTT1 null genotip frekansı diğer çalışmalar ile farklılık göstermektedir .

National Center for Biotechnology Information (NCBI) SNP verilerine göre GSTP1 A562G (rs1695), genotip frekansları Asyalı Japonlarda AA 0.826, AG 0.163, GG 0.012, Asyalı Çinlilerde AA 0.674, AG 0.302, GG 0.023, Afrikalı Nijeryalılarda AA 0.348, AG 0.482, GG 0.170, Amerikada yaşayan Avrupalılarda AA 0.319, AG 0.549, GG 0.133 bildirilmiştir. GSTP1 A562G (rs1695), (Ile105Val) alel frekansları ise

Asyalı Japonlarda A 0.822, G 0.178, Asyalı Çinlilerde A 0.909, G 0.091, Afrikalı Nijeryalılarda A 0.625, G 0.375, Amerikada yaşayan Avrupalılarda A 0.608, G 0.392 olarak bildirilmiştir (145).

Bu çalışmaya dahil edilen sağlıklı kontrol grubunda GSTP1 A562G (rs1695), genotip frekansları AA 0.725, AG 0.235, GG 0.039, alel frekansları A 0.843, G 0.157 olarak saptandı. Çalışmamızın sonuçları NCBI SNP verileri ile karşılaştırıldığında Türk populasyonunun Asyalı Japon ve Asyalı Çinli populusyona daha yakın, Afrikalı Nijeryalı ve Amerikalı Avrupalılara daha uzak olduğu saptandı. HLA polimorfizminin araştırıldığı bilimsel çalışmalarda, Türklerin tarih sürecinde Orta Asya'dan köken aldığı bildirilmektedir (145). Bu durum gözönüne alındığında; Türk, Japon ve Çin populasyonlarının filogenetik yönden yakın olması beklenen bir sonuçtur. Afrikalı Nijeryalı ve Amerikalı Avrupalılar ile sonuçlarımızın farklı olması populasyonlar arasındaki genetik polimorfik farklılıklardan kaynaklanabilir.

Altaylı ve ark.'larının Türk toplumunda GSTP1 A562G (rs1695) genotip frekanslarını araştırdıkları çalışmalarında AA 0.484, AG 0.453, GG 0.063 olarak rapor etmişlerdir (144). Türk toplumunda yapılmış olan iki çalışmanın (Altaylı ve ark.'ları ile bu çalışmada) sonuçlarının farklılık göstermesinin temel nedeni, Altaylı ve ark.'ları kontrol grubu olarak sadece Türkiye'nin Karadeniz Bölgesi'nde yaşayan sağlıklı kişileri çalışmalarına dahil ederken bu çalışmada kontrol grubumuza dahil olan bireyler Türk toplumunun genelini kapsadığı düşünülen İstanbul Bölgesinden oluşturmaktaydı.

Agrawal ve ark.'ları (146), Kuzey Hindistan bölgesinde yaşayan SDBY tanısı almış 184 hasta ve 569 sağlıklı kontrol ile yaptıkları çalışmada, GSTM1, GSTT1 ve GSTP1-313 A/G polimorfizmlerini değerlendirmişlerdir. Aynı çalışmada GST polimorfizmleri ile böbrek hasarı oluşumu arasında bir ilişkili saptanamamasına rağmen hastalığın durumu ve ilerlemesi ile ilişkili olduğunu gösterilmiştir. GSTM1 null genotipi, GSTT1 null genotipi ve GSTP1 G alelinin ise KBY gelişiminde yüksek risk faktörü olduğu gösterilmiştir. GSTT1 null ve GSTP1 G genotiplerinin birlikte kalıtıldığı durumlarda KBY gelişme riski 4.2 kat artarken, GSTM1 null ve GSTT1 null genotiplerinin birlikte kalıtıldığı durumlarda KBY gelişme riskinin 4.7 kat arttığı rapor edilmiştir. GSTP1 G aleli, GSTM1 ve GSTT1 null genotipleri birlikte bulunan bireylerde hastalık gelişme riskinin 9 kat arttığı bildirilmiştir. Agrawal ve ark.'ları (146) çalışmalarında, GSTP1 G aleli, GSTM1 ve GSTT1 null genotiplerinin SDBY için güçlü

risk faktörü oluşturdıklarını ve bu genotiplerin birlikte olması durumunda riskin daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Cannagnol ve ark.'ları (147), İtalyan popülasyonunda GSTP1 AG ya da GG genotip varlığını böbrek yetmezliğinde artan risk ile ilişkilendirmişlerdir. Bu çalışmada ise GSTP1, GSTM1 ve GSTT1 genlerinde meydana gelen polimorfizmler ve homozigot delesyonlar ile SDBY gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı.

Yang ve ark.'ları (148) GSTT1 null genotipinin diyabetik hastalarda SDBY gelişiminde önemli bir risk faktörü olduğunu gösterirken, hipertansiyonlu hastalarda bu ilişkiyi gösterememişlerdir. Bu çalışmada SDBY tanılı ve aynı zamanda böbrek nakli olan hastaların primer tanıları ile GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 genotipleri arasında istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunamamıştır.

Serbest radikallerin zararlı etkilerini en aza indirmek ya da ortadan kaldırmaya çalışmak allograft fonksiyonu için gereklidir. Özellikle KAN'lı hastalarda vasküler lezyonların oluşumu ya da ilerlemesini sağlayan oksidatif stresin ortadan kaldırılması gerekmektedir. KAN da serbest radikallerin vasküler hasarı nasıl oluşturdıkları açık değildir. Böbrek nakli sonrasında oksidatif stres ürünlerinde azalma gözlenirken KAN'lı hastalarda oksidatif stresin arttığı gözlenmiştir. KBY'li hastalardaki oksidatif stres ürünleri nakilden sonra azalırken KAN gelişiminde bu ürünlerin arttığı gösterilmiştir. Bu bulgular KAN gelişimi ve ilerlemesinin fizyopatolojisinde oksidatif stresin rolü olduğunu desteklemekte olup böbrek nakli sonrası antioksidan savunma ile oksidatif stres arasındaki dengenin KAN gelişimi ve greft sonlanımında önemli olabileceğini bildirilmiştir (121).

KAN'lı hastalarda GSTM1 ve GSTT1 genotiplerinin incelendiği bir çalışmada GST genlerindeki polimorfizmlerle KAN gelişimi arasında bir ilişki gösterilememiştir (121). Bu çalışmada da bu veriyi destekler nitelikte olup, GSTM1 ve GSTT1 genotipleri ile KAN gelişimi arasında bir ilişki saptanamamıştır.

Böbrek nakli SDBY'de en güncel tedavi şeklidir. Nakil sonrası hem immünsupresif tedavinin toksisitesini hem de rejeksiyon riski arasındaki dengeyi sağlamak güçtür. GST'lar, nakil sonrası kullanılan immünsupresif ilaçlar ve çeşitli ksenobiyotiklerinde dahil olduğu toksik artıkların metabolizmasında önemlidirler (149).

CsA ve takrolimus (FK) gibi kalsinörin inhibitörleri kullanımı, nefrotoksisiteye bağlı olarak allograft sağkalım süresinin kısalmasına sebep olabilirler. CsA'nin böbrek hasarı oluşturma mekanizmasının açık olmamasına rağmen, CsA kullanım sonucu artan

oksidatif stresin, böbrek ve kardiyovasküler toksisiteye neden olabileceği düşünülmektedir. GST'lar serbest radikallere karşı majör bir savunma olarak insan böbreğinde çok miktarda üretilir. Singh ve ark'ları (149), GSTM1 null genotipine sahip hastalarda immünsupresif ajanların aşırı birikmesine bağlı olarak nefrotoksisite ihtimalinin daha fazla olduğu, GSTTM1 null genotipteki hastaların GSTM1(+) hastalara göre daha düşük CsA dozlarına ihtiyaç duyduklarını göstermiştir. GSTTM1 null genotipteki hastaların GSTM1(+) hastalara göre takrolimus (FK) düzeyleri ile CsA'dakine benzer ilişki gösterilememiştir. Bu çalışma da, GSTM1 null genotipine sahip R+HG'nun kullandıkları immünsupresif ilaçlar (Kalsinörin inhibitörleri) açısından değerlendirildiğinde, GSTM1 null genotipi taşıyan CsA kullanan hastalarda GSTM1 null genotipi taşıyan ve takrolimus (FK) kullanan hastalara göre rejeksiyon gelişimi açısından istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır.

Singh ve ark.'ları (149) böbrek nakilli hastalarda allograft sonlanımı üzerine GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 gen polimorfizm sıklığını araştırdıkları çalışmalarında; GSTM1 null genotipinin böbrek nakilli hastalarda kontrol grubuna göre 1.5 kat daha fazla olduğunu rapor etmişlerdir. Buna göre GSTM1 null alelini taşıyan bireylerde SDBY'i gelişiminde artış olabileceği gösterilmiştir. R+HG'nda GSTM1 null genotipi görülme sıklığının yüksel olduğu fakat istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır. R+HG ve R-HG hasta gruplarını karşılaştırdıklarında GSTM1 null genotipini taşıyan böbrek nakilli hastalarda rejeksiyon gelişme riskini 3.35 kat artırdığını göstermişlerdir. Buna karşılık bu çalışmada SDBY, R+HG ve R-HG'ları ile GSTM1 null genotipleri ilişkisi karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunamadı. Rejeksiyonlu hasta grubunda, rejeksiyon tipi ile GSTM1 genotipi irdelendiğinde de anlamlı bir ilişki saptanamadı.

Singh ve ark.'ı (149) gecikmiş greft fonksiyonu görülen hastalarda GSTP1 GG genotip sıklığını rejeksiyonsuz hasta grubuna oranla daha yüksek olarak saptamışlardır. R-HG ve gecikmiş greft fonksiyonu görülen hastalar arasındaki karşılaştırmada GSTP1 G aleli varlığının 5.52 kat riske neden olduğu bildirilmiştir. Buna karşılık bu çalışmada SDBY, R+HG ve R-HG'ları GSTP1 GG genotip sıklığı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. Rejeksiyonlu hasta grubunda rejeksiyon tipine göre GSTP1 genotip sıklığı incelendiğinde anlamlı bir fark bulunamadı. Sing ve ark.'ları allograft sonlanımı ile GSTT1 genotipi arasında bir ilişki saptayamamışlardır (149). Bu çalışmada da buna uygun olarak SDBY, R+HG ve R-HG'larında, GSTT1 genotip sıklığını açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark

saptanmadı. Rejeksiyonlu hasta grubu rejeksiyon tipine göre GSTT1 genotipi için değerlendirildiğinde anlamlı bir sonuç bulunmadı.

Karaciğer nakilli hastalarda yapılmış bir çalışmada akut rejeksiyon ile GTSM1 ve GSTT1 polimorfizm sıklıklarının ilişkisi araştırıldığında, karaciğer nakillerinde akut rejeksiyonla GTSM1 ve GSTT1 genotipleri arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır (150).

Anti-GSTT1 antikor ve nakil sonrası rejeksiyon ilişkisi ilk kez karaciğer nakilli hastalarda 2001 yılında araştırılmıştır. Karaciğer nakli sonrası *de novo* immün hepatit ile bu antikorların ilişkisini gösterilmiştir (150).

Allogreft rejeksiyonun mekanizmaların biri DSA'lere karşı antikorların alıcıda tespit edilmesidir. Antikor ilişkili rejeksiyon, DSA'lerin varlığı ve böbrek endotelinde C4d kompleman bileşenlerinin birikmesi ile belirlenir. Antikor ilişkili rejeksiyon büyük oranda mevcut anti-HLA antikorları ile ilişkili olsada bazı vakalarda anti-HLA antikorları gösterilememiştir (124).

Wichmann ve ark.'ları (127) solid organ nakilli hastalarda anti-GSTT1 antikorlarını inceledikleri çalışmada hasta ve vericisinde GSTT1 null genotipi mevcut iken hastada anti-GSTT1 antikoru varlığını göstermişlerdir. Bu antikorların transplantasyonun sonlanımında önemli olduğunu ve bu duruma daha önce yapılmış kan transfüzyonu, gebelik ya da geçirilmiş naklin sebep olduğunu bildirmişlerdir. Alvarez-Marquez ve ark.'ları yaptıkları bir çalışmayla bu bulguyu desteklemişlerdir (8). Bu çalışmada da iki hasta da muhtemelen daha önce alınan kan transfüzyonu ya da gebelik nedeniyle oluşmuş anti-GSTT1 antikoru tespit edildi.

Başka bir çalışmada (122), antikor ilişkili rejeksiyonda C4d+ hasta grubunda anti-GSTT1 antikorlarının önemini incelemişlerdir. Anti-GSTT1 antikorları, antikor ilişkili geç renal allogreft disfonksiyonunda non-HLA antikorların rol alabileceğini desteklemektedir. Rejeksiyonlu hastada anti-HLA antikorları ve anti-GSTT1 antikorlarının birlikte saptandığı durumlarda allogreft disfonksiyonuna hangisinin sebep olduğunu belirleyememişlerdir. GSTT1 null genotipine sahip nakilli bireylerin böbrek biyopsi materyalinde bulunan GSTT1 enziminin GSTT1 antikorları aracılığıyla gerçekleşen aktif humoral rejeksiyonda hedef olabileceğini öne sürmüşlerdir. GSTT1'nin başlıca distal tubüllerde yer aldığını, glomerüllerde yer almadığını göstermişlerdir. Glomerüllerde GSTT1 enziminin yokluğuna paralel olarak bu hastaların glomeruler kapsüllerinde C4d birikimi de bulunamadı. Araştırmacılar, anti-

GSTT1 antikoru saptanan hastalarda buna bağılı allogreft rejeksiyon gelişme riskinin öngörülebileceğini ileri sürmüşlerdir. Bu bulgular ışığında anti-GSTT1 antikorlarının kronik antikor aracılı rejeksiyonun önemli bir kısmını oluşturduğu düşünülmektedir.

Alvarez-Marquez ve ark.'ları (8) allogreft rejeksiyonlu hastalarda HLA, GSTT1 ve MICA'ya karşı gelişen donör spesifik antikorları ve böbrek biyopsilerinde C4d birikimini araştırmışlardır. Böbrek biyopsilerinde C4d birikimi ve greft disfonksiyonu olan 19 hastanın %80'inde donör spesifik HLA sınıf I ve HLA sınıf II, MICA veya GSTT1 antijenlerine karşı antikorları tespit etmişlerdir. GSTT1 uyumsuz 8 hastanın 3'ünde anti-GSTT1 antikoru saptanırken diğer üç hastada anti-GSTT1 antikoru yanısıra diğer antikorlarda saptanmıştır. C4d+ hastalarda anti-HLA sınıf I antikorları görülme sıklığı C4d- hastalara göre daha yüksek olarak bulunmuştur. GSTT1 antikorları iyi çalışan greftte de rastlanmıştır. Fakat C4d+ rejeksiyonlu hastalarda C4d- rejeksiyonlu hastalara göre GSTT1 antikor sıklığının yüksek oranda olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada da benzer şekilde R-HG'nda yer alan iki hasta anti-GSTT1 antikoru bulundu.

Alvarez-Marquez ve ark.'ları (8) böbrek nakli sonrası anti-GSTT1 antikoru gelişim süresini 43.6 ay olarak belirlemişlerdir. Anti-GSTT1 antikoru taşıyan 6 hastanın 4'ünde nakilden sonra kronik antikor aracılı rejeksiyonun gelişimi için geçen süre 65,4 ay olarak bulunmuştur . Colvin'in (33) bulgularına göre anti-GSTT1 antikoru olan olgularda doku harabiyeti gelişmesi anti-HLA antikorlarına göre daha yavaş olmaktadır. Çalışmada anti-GSTT1 antikor tayinini ortalama 12. ayda yapıldı ve GSTT1 uyumsuz hasta grubunda %26 oranında antikor saptandı. Oranın düşük olması antikor ölçüm süresinin kısa olmasına bağılı olduğunu düşündürmektedir.

HLA sisteminin yanı sıra GSTT1 proteinleri ve MICA gibi başka antijenlerde immün cevap için bir hedef oluşturabilir ve antikor ilişkili rejeksiyon gelişimine yardımcı olabilirler. Burada önemli olan MICA ve GSTT1 antijenleri periferik kan lenfositlerin yüzeyinde bulunmadığı için bunlara karşı antikorların tayininde klasik sitotoksikite yöntemi kullanılmamaktadır. GSTT1 null alıcı GSTT1(+) vericili nakiller tüm nakillerin yaklaşık %16'sını oluşturmaktadırlar. Bunlarda anti-GSTT1 antikorunun izlenmesi antikor aracılı rejeksiyon takibi açısından özellikle birden fazla nakil olmuş hastalarda önemlidir (8).

Çalışmalarda anti-GSTT1 antikorunun greft rejeksiyonunda doğrudan ilişkisi ispatlanmamış olmakla birlikte, GSTT1 uyumsuz nakillerde antikor ilişkili rejeksiyonla güçlü bir ilişki olduğu gösterilmiştir (8,122,125-127).

Kalsinörin inhibitör seçimi karaciğer naklini takiben anti-GSTT1 antikorları ile ilişkili *de novo* immün hepatit gelişimini etkileyebileceği, 2004 yılında GSTT1 uyumsuz karaciğer nakilli hastalarda gösterilmiştir. Karaciğer nakilli hastalarda anti-GSTT1 antikoru gelişimi, FK kullanan hastalarda CsA kullanan hastalara göre daha az bulunmuştur (128). Kalsinörin inhibitör seçimi, karaciğer nakilli hastalarda anti-GSTT1 antikorları aracılığıyla oluşan *de novo* immün hepatit gelişimi yönünden önemli bulunmuştur (151). Bu çalışmada CsA ve takrolimus (FK) tedavileri altındaki hastalarda antikor gelişimi karşılaştırıldığında daha önceki bulgulara benzer olarak, takrolimus (FK) tedavisi altındaki hastalarda CsA tedavisi altındaki hastalara göre anti-GSTT1 antikoru gelişiminin daha az olduğu bulundu.

Sonuç olarak; Anti-GSTT1 antikoru pozitif olan hastalarda, negatif olanlara göre AR gelişme riskinin yüksek saptanması, birden fazla nakil olan hastalarda immunolojik parametrelere GSTT1 genotip analizinin dahil edilmesinin önemini açıkça vurgulamaktadır. GSTM1 null genotipine sahip CsA kullanan hastalarda, aynı genotipe sahip takrolimus (FK) kullanan hastalara göre rejeksiyon gelişiminin yüksek olması, GSTM1 genotipinin CsA detoksifikasyonunda ve ilaç nefrotoksitesine bağlı allograft sonlanımında önemli olduğunun bir kanıtıdır. Yine CsA tedavisi altındaki hastalarda anti-GSTT1 antikorusunun takrolimus (FK) kullananlara göre yüksek olması, GSTT1 null genotipi taşıyan hastalar da kalsinörin inhibitörü olarak takrolimus kullanmasının tedavinin başarısını arttırabileceğini fakat bu konunun daha fazla sayıda hasta grubu ile yapılacak çalışma ile desteklenmesi gerektiğini düşünmekteyiz. GSTM1, GSTT1 ve GSTP1 genotip varyasyonlarının tek başına değerlendirildiğinde SDBY ve rejeksiyon gelişimi açısından Türk toplumu için bir risk faktörü oluşturmadığı öngörüsündeyiz.

KAYNAKLAR

1. Loughrey CM, Young IS, Lightbody JH, et al. Oxidative stress in haemodialysis. *Q J Med*, 1994; 87:679-683.
2. Canaud B, Cristol JP, Morena M, et al. Imbalance of oxidants and antioksidants in haemodialysis patients. *Blood Purif*, 1999; 17:99-106.
3. Zimmerman BJ, Granger DN. Mechanisms of reperfusion injury. *Am. J. Med. Sc*, 1994; 307:284-292.
4. Malliaraki N, Mpliamplias D, Kampa M, Perakis K, Margioris NA, Castanas E. Total and corrected antioxidant capacity in hemodialyzed patients. *BMC Nephrology* 2003; 4:4.
5. Lauzurica R, Pastor MC, Bayes S, Malumbres S, Homs M, Liopis MA, Bonet J, Romero R. Subclinical Inflammation in Renal Transplant Recipients: Impact of Cyclosporine Microemulsion Versus Tacrolimus. *Transplant Proc*. 2007;39:2170-2172.
6. Ahmadpoor P, Eftekhari E, Nourooz-Zadeh J, Servat H, Makhdoomi K. Ghafari. A. Glutathione, Glutathione-Related Enzymes, and Total Antioxidant Capacity in Patients on Maintenance Dialysis. *IJKD* 2009;3:22-7
7. Ginsberg G, Smolenski S, Hattis D, Guyton KZ, Johns DO, Sonawane B. Genetic Polymorphism in Glutathione Transferases (GST): Population Distribution of GSTM1, T1, and P1 Conjugating Activity, *J Toxicol Environ Health* 2009; 12(5), 389 - 439.
8. Alvarez-Márquez A, Aguilera I, Gentil MA, Caro JL, Bernal G, Alonso JF, Acevedo MJ, Cabello A, Wichmann I, Gonzalez-Escribano MF, Núñez-Roldán A, Donor-Specific Antibodies Against HLA, MICA, and GSTT1 in Patients with Allograft Rejection and C4d Deposition in Renal Biopsies. *Transplantation* 2009;87: 94-99.
9. Titiz İ. Renal Transplantasyonu Pratik Yaklaşım. İkinci baskı. 2004; Bölüm 2:101-235.
10. Akoğlu E, Süleymanlar G. Kronik Böbrek Yetersizliği, Temel İç Hastalıkları, 1996; 769-776, Güneş Kitapevi.
11. Erek E. Nefroloji. Böbrek Yetmezliği, 1995; 258-294.
12. Türk Nefroloji Derneği, Ulusal Kayıt Raporları 2008.
13. Hishida A. Diagnosis and treatment of kidney failure. *Nippon Naika Gakkai Zasshi* 2002; 91:127-31.
14. Akpolat T, Utaş C, Süleymanlar G: Nefroloji El Kitabı. 3. Basım; 2002; 328-329, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul.

15. Gabriel M. Danovitch. Böbrek Nakli El Kitabı. Üçüncü baskı. Çeviri Editörü: Tuncer Karpuzoğlu. Güneş Kitabevi Ltd., Ankara, 2003; Bölüm1:1-16.
16. Ayköse G. M. Kronik Böbrek Yetmezliği Nedeni İle Hemodiyaliz Tedavisi Gören Cinsel Disfonksiyonlu Erkeklerde Gonadal Fonksiyonların Ve Testesteron Replasman Tedavisinin Değerlendirilmesi. T.C. Sağlık Bakanlığı Dr. Lütü Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2. Üroloji Kliniği, Uzmanlık Tezi, İstanbul 2006.
17. Büyüköztürk K. İç Hastalıkları Kitabı 2007; 2. cilt, pp 2599-2617.
18. Gabriel M. Danovitch. Böbrek Nakli El Kitabı. Üçüncü baskı. Çeviri Editörü: Tuncer Karpuzoğlu. Güneş Kitabevi Ltd., Ankara, 2003; Bölüm3:39-61.
19. Yasavul Ü. The Immunology of kidney transplantation and evaluation of the immunological matching between recipient and donor. *Türkiye Klinikleri J Nephrol-Special Topics* 2008;1:53-58.
20. Ishida H, Tanabe K, Toma H, et al. Therapeutic apheresis therapy for ABO incompatible renal transplantation. *Therapeutic Apheresis and Dialysis* 2003;7:520-8.
21. Opelz G, Wujciak T, Döhler B. Is HLA matching worth the effort? *Transpl Proc* 1999;31:717-20.
22. Opelz G. Importance of HLA antigen splits for kidney transplant matching. *Lancet* 1988;1:154-9.
23. Utzig MJ, Blumke M, Wolf-Vorbeck G, Lang H, Kriste G. Flow cytometry crossmatch: a method for predicting graft rejection. *Transplantation* 1997;63:551-4.
24. Gabriel M. Danovitch. Böbrek Nakli El Kitabı. Üçüncü baskı. Tuncer Karpuzoğlu Çeviri Editörü. Güneş Kitabevi Ltd., Ankara, 2003; Bölüm2:17-37.
25. Abbas AK, Lichtman AH. Temel immünoloji. İmmün Sistemin İşlev ve Bozuklukları. Yıldız Camcıoğlu, Günnur Deniz, editörler. 1. baskı. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık; 2007.p. 41-61.
26. Bender K. The HLA system medical services industry and investment Ltd, *Biotest Diagnostics* 1991;19-23.
27. Abbas AK, Lichtman AH. Temel immünoloji. İmmün Sistemin İşlev ve Bozuklukları. Yıldız Camcıoğlu, Günnur Deniz, editörler. 1. baskı. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık; 2007.p. 177-192.
28. Abbas AK, Lichtman AH. Temel immünoloji. İmmün Sistemin İşlev ve Bozuklukları. Yıldız Camcıoğlu, Günnur Deniz, editörler. 1. baskı. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık; 2007.p. 1-20.

29. Abbas AK, Lichtman AH. Temel immünoloji. İmmün Sistemin İşlev ve Bozuklukları. Yıldız Camcıoğlu, Günnur Deniz, editörler. 1. baskı. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık ;2007.p. 83-103.
30. Titiz İ. Renal Transplatasyona Pratik Yaklaşım. İkinci baskı. 2004;Bölüm 1:15-52.
31. Mathew R. Weir, Medical Management of Kidney Transplantation. 1.basım Philadelphia, Lipincot Williams&Wilkins; 2005;153-187.
32. Cecka JM, Terasaki PI. Early rejection episodes. Clinical Trans-plants, Terasaki PI, UCLA Tissue Typing Laboratory, Los Angeles; 1989. P. 425.
33. Colvin BR. Antibody- Mediated Renal allograft rejection: diagnosis and patogenesis. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 1046-1056.
34. Bickerstaff A, Pelletier R, Wang J.J, Nadasdy G, et all. An Experimental model of acute humoral rejection of renal allograft associated with concomitant cellular rejection. *J Am Soc Nephrol* 2008; 173:347-357.
35. Mauiyyedi S, Crespo M, Collins AB, et al. Acute humoral rejection in kidney transplantation : II.Morphology, immunopathology, and patohology classification. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:779-787.
- 36.Meier-Kriesche HU, Ojo AU, Hanson JA, et al. İncresed impact of acuted rejection on chronic allograft failure in recent era. *Transplantation* 2000(70):1089-1100.
37. Gabriel M. Danovitch. Böbrek Nakli El Kitabı. Üçüncü baskı.: Tuncer Karpuzoğlu, Çeviri Editörü. Güneş Kitabevi Ltd., Ankara,2003; Bölüm4:62-110.
- 38.Denton MD, Magee CC, Sayegh MH. İmmunosuppressive strate gies intransplantation. *Lancet*1999; 353:1083-1091.
39. Aydınöz SE, Takematot SK, Pinsky BW et al. The impact of human leukocyte antigen matching on transplant complications and immunosypression dosage. *Human Immunol* 2007; 68:491-499.
- 40.Halloran PF.İmmunosuppressive drugs for kidney transplantation. *N.Engl J Med*.2004;351:2715-2729.
41. Carpenter CB, Milford EL, Sayegh MH. Transplantation in the treatment of renal failure. Harrison's Principles of İnternal Medicine. 16th ed.S1668.
42. Uzun K., Vural H., Öztürk T, Özer F., İmecik İ. Diagnostic value of lipid peroxidation in lung cancer. *Eastern Journal of Medicine*, 2001;5(2):48-51.
43. McGee, S.A., Wiggins, S.A., Pierce, J.D. What advanced practise nurses to know about free radicals. *The int j of advanced nursing practice*, 2003; 6:1-10.

44. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.* 2002; 82: 47–95.
45. Autrup H. Genetic polymorphism in human xenobiotica metabolizing enzymes as susceptibility factors in toxic response. *Mutation Research* 2000;464:65-76.
46. Sheen D, Meade G, Foley VM and Dowd CA. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian member of ancient enzyme superfamily. *Biochem J* 2001;360:1-16.
47. Hallwell, B. 1984. Oxygen radicals: A commonsense look at their nature and medical importance. *Medical Biology* 62:71-77.
48. Sodergen E. 2000. Lipid peroxidation in vivo. Uppsala University. Uppsala, 61s
49. Cadenas E. Basic mechanisms of antioxidant activity. *Biofactors*. 1997;6: 391–397.
50. Sies H. Strategies of antioxidant defense. *Eur. J. Biochem.* 1993; 215: 213–219.
51. Loughrey CM, Young IS, Lightbody JH, et al. Oxidative stress in haemodialysis. *Q J Med* 1994; 87:679-683.
52. Canaud B, Cristol JP, Morena M, et al. Imbalance of oxidants and antioksidants in haemodialysis patients. *Blood Purif* 1999; 17:99-106.
53. Kargın, F., Fidancı, U.R. Böbrek hastalıklı köpeklerde antioksidatif metabolizma. *Turk J Vet Anim Sci* 2001;25:607-613.
54. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, *Int J Biochem Cell Biol* .39 2007; 44–84
55. I.Fridowich, The superoxide radical is an agent of oxygen toxicity:superoxide dismutases provide an important defense, *Science*, 201;1978: 875-880
56. Gerschman R, Gilbert DL, Nye SW, Dwyer P, Fenn WO. Oxygen poisoning and x-irradiation—A mechanism in common. *Science*. 1954; 119: 623–626.
57. Commoner B, Townsend J, Pake GE. Free radicals in biological materials. *Nature*. 1954; 174(4432): 689–691.
58. Harman D. Aging—A theory based on free-radical and radiation-chemistry. *J. Gerontol*. 1956; 11: 298–300.
59. Bergendi L, Benes L, Durackova Z, Ferencik M. Chemistry, physiology and pathology of free radicals. *Life Sci*. 1999; 65: 1865–1874.

60. Shen D, Dalton TP, Nebert DW, Shertzer HG. Glutathione redox state regulates mitochondrial reactive oxygen production. *J. Biol. Chem* 2005; 280: 25305–25312.
61. Vorbach C, Harrison R, Capecchi MR. Xanthine oxidoreductase is central to the evolution and function of the innate immune system. *Trends Immunol* 2003; 24: 512–517
62. Ridnour LA, Thomas DD, Mancardi D, Espey MG, Miranda KM, Paolocci N et al. The chemistry of nitrosative stress induced by nitric oxide and reactive nitrogen oxide species Putting perspective on stressful biological situations. *Biol. Chem* 2004; 385(1):1-10.
63. Valko M., Morris H, Cronin MTD. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr. Med. Chem* 2005; 12: 1161–1208.
64. Kovacic P, Pozos RS, Somanathan R, Shangari N, O'Brien PJ. Mechanism of mitochondrial uncouplers, inhibitors, and toxins: Focus on electron transfer, free radicals, and structure–activity relationships. *Curr. Med. Chem* 2005; 12: 2601–2623.
65. DeCoursey TE, Ligeti E. Regulation and termination of NADPH oxidase activity. *Cell. Mol. Life Sci* 2005; 62: 2173–2193.
66. Ghafourifar P, Cadenas E. Mitochondrial nitric oxide synthase. *Trends Pharmacol Sci.* 2005; 26: 190–195.
67. Eşrefoğlu M. Cell Injury and Death: Oxidative Stress and Antioxidant Defense System: Review. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2009; 29(6):1660-76.
68. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol* 2001; 54: 176-186
69. Marnett LJ. Lipid peroxidation—DNA damage by malondialdehyde. *Mut. Res-Fund. Mol. Mech Mutagen* 1999; 424(1-2): 83–95.
70. Wang MY, Dhingra K, Hittelman WN, Liehr JG, deAndrade M, Li DH. Lipid peroxidation-induced putative malondialdehyde–DNA adducts in human breast tissues. *Cancer Epidemiol. Biomark Prev* 1996; 5: 705–710.
71. Thannickal V J, Fanburg BL. Reactive oxygen species in cell signaling. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol* 2000; 279(6): L1005–L1028.
72. Poli G, Leonarduzzi G, Biasi F, Chiarpotto E. Oxidative stress and cell signalling. *Curr. Med. Chem* 2004; 11(9):1163–1182.
73. Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide— A physiological messenger. *Ann. Intern. Med* 1994; 120(3): 227–237.

74. Fridovich I. Oxidative Stres. Encyclopedia of Life Sciences. *Nature Publishing Group*, 2001.
75. Nordberg J, Arner ESJ. Reactive Oxygen Species, Antioxidants and The Mammalian Thioredoxin System. *Free Radical Biology and Medicine* 2001; 31(11): 1287-1317
76. Borges F, Fernandes E, Roleira F. Progress towards the discovery of xanthine oxidase inhibitors. *Curr. Med. Chem* 2002; 9:195–217.
77. Hinder RA, Stein HJ Oxygen-derived free radicals. *Arch Surg* 1991;126:104-105
78. Gutteridge J M C. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chemistry* 1995;41:1819-1828
79. Liochev SI, Fridovich I. The role of O₂ in the production of HO: In vitro and in vivo. *Free Radic. Biol. Med* 1994; 16: 29–33.
80. Aikens J, Dix TA Perhydroxyl radical (HOO•) Initiated lipid peroxidation—The role of fatty-acid hydroperoxides. *J. Biol. Chem* 1991;266: 15091–15098.
81. Meram İ, Aktaran Ş. Serbest Radikallerin Biomoleküller Üzerine Etkileri. *Arşiv*. 2002;11:299.
82. Özkan A, Fışkın K. Serbest Oksijen Radikalleri, Karsinogenez ve Antioksidant Enzimler. *Türk Hem Onk Dergisi* 2004; 14:52-60.
83. Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol. Cell. Biochem.* 2004; 266: 37–56.
84. Kovacic P, Jacintho JD. Mechanisms of carcinogenesis: Focus on oxidative stress and electron transfer. *Curr. Med. Chem* 2001; 8: 773–796.
85. Akkuş İ. Serbest Oksijen Radikalleri ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Basım Yayın ve Dağıtım, Konya:1995;1-15.
86. Klatt P, Lamas S. Regulation of protein function by Sglutathiolation in response to oxidative and nitrosative stress. *Eur. J. Biochem* 2000; 267: 4928–4944.
87. Kurutaş Belge E, İnanç Güler F, Kılınç M. Serbest Radikaller. *Arşiv*, 2004; 13:120-130
88. Sodergen E. Lipid Peroxidation *İn vivo* Evolution and Application of Methods for Measurements, Sweeden, Tryck&Medier,2000.
89. Abuja PM, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clinica Chimica Acta.* 2001; 306:1-17.

90. Cighetti G, Duca L, Bortone L, Sala S, Nava I, Fiorelli G, Cappellini M.D. Oxidative Status and Malondialdehyde in β -thalassaemia Patients. *Eur J Clin Invest.* 2002; 32:55-60.
91. Waz WR, Feld LG. Reactive oxygen molecules in the kidney. *Adv Exp Med Biol* 366:171-183, 1994.
92. Baud L, Ardaillou R. Reactive oxygen species: production and role in the kidney. *Am J Physiol* 1986; 251: F765-F776.
93. Baud L, Ardaillou R: Involvement of reactive oxygen species in kidney damage. *British Med Bulletin* 1993;49(3):621-629.
94. Zhu H, Zhang L, Amin AR, Yunbo LIA. Coordinated upregulation of a series of endogenous antioxidants and phase 2 enzymes as a novel strategy for protecting renal tubular cells from oxidative and electrophilic stress. *Exp Biol Med* 2008;233(6):753-760.
95. Borros P, Bromberg SJ. New cellular and molecular immune pathways in ischemia/reperfusion injury. *Am J Transplantation* 2006; 6:652-658.
96. Gobe G, Crane D. Mitochondria, reactive oxygen species and cadmium toxicity in the kidney. *Toxicol. Lett.* 2010, doi:10.1016/j.toxlet.2010.04.013.
97. Minz M, Heer M, Arora S, Sharma A, Khullar M. Oxidative status in stable renal transplantation. *Transplant Proc* 2006; 38, 2020–2021.
98. Galle J. Oxidative stress in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant.* 2001;16:2135-2137.
99. Singh D, Kaur R, Chander V, Chopra K. Antioxidants in the Prevention of Renal Disease. *J Med Food* 9 (4) 2006; 443–450.
100. Malliaraki N, Mpliamplias D, Kampa M, Perakis K, Margioris A, Castanas E. Total and corrected antioxidant capacity in hemodialyzed patients. *BMC Nephrology* 2003; 4:4
101. Descamps-Latscha B, Jungers P, Witko-Sarsat V. Immune system dysregulation in uremia: role of oxidative stress. *Blood Purif* 2002;20:481–484
102. Locatelli F, Canaud B, Eckardt KU, Stenvinkel P, Wanner C, Zoccali C. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant.* 2003;18: 1272-1280.
103. 2. Laurent B, Ardaillou R. Reactive oxygen species: production and role in the kidney. *Am J Physiol* 1986; 251: F765-F776.

104. Nath KA, Norby SM. Reactive oxygen species and acute renal failure. *Am J Med* 2000; 109: 655-678.
105. Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in rat. *J Clin Invest* 1984; 74: 1156-1164.
106. Paller MS. The cell biology of reperfusion injury in the kidney. *J Invest Med* 1994; 42: 632-639.
107. Dobashi K, Ghosh B, Orak JK, Singh I, Singh AK. Kidney ischemia-reperfusion: Modulation of antioxidant defenses. *Mol Cell Biochem* 2000; 205: 1-11.
108. Köken T, Kahraman A, Serteser M, Gökçe Ç. Hemodialysis and oxidative stress. *Kocatepe Tıp Dergisi* 5 2004; Ek Sayı 9-13
109. Usberti M, Gerardi G, Bufano G, Tira P, Micheli A, Albertini A, Floridi A, Di Lorenzo D, Galli F. Effects of erythropoietin and vitamin E-modified membrane on plasma oxidative stress markers and anemia of hemodialyzed patients. *Am J Kidney Dis*, 2002; 40:590- 599.
110. John D, Hayes Richard C. Strange. Glutathione S-Transferase Polymorphisms and Their Biological Consequences. *Pharmacology* 2000; 61:154–166.
111. Whalen R, Boyer TD . Human Glutathione S-Transferases . *Sem Liver Dis* 1998; Vol.18, No.4
112. Katoh T, Inatomi H, Kim H, Yang M, Matsumoto T, Kawamoto T. Effects of Glutathione S-Transferase (GST) M1 and GSTT1 genotypes on urothelial cancer risk. *Cancer Lett* 1998; 132,147-152.
113. Stroombergen MCMJ, Waring RH. Determination of glutathione S transferase mu and theta polymorphisms in neurological disease. *Hum Exp Toxicol* 1999; 18,141-145.
114. Hatagima A, Costa EBC, Marques CFS, Koifman RJ, Boffetta P, Koifman S. Glutathione S-Transferase polymorphisms and oral cancer: A case control study in Rio de Janeiro Brazil. *Oral Oncology*.2008;44:200-207.
115. Coutinho P, Sandim V, Oliveira JA, Alves G, Hatagima A. Lack of association between glutathione S-transferase polymorphisms and primary glioma in a case-control study in Rio de Janeiro. *Genet Mol Res* 2010; 9 (1): 539-544
116. Hayes JD, Pulford DJ. The glutathione s-transferase supergene family: regulation of GST* and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 1995;30(6):445-600.

117. Giuliano DP, Mango LA, S FR. Glutathione S-transferases: an overview in cancer research. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol* 2010; 6(2):153-170.
118. Galli F, Rovidati S, Benedetti S, Buoncristiani U, Covarelli C, Floridi A, Canestrari F. Overexpression of erythrocyte glutathione s-transferase in uremia and dialysis. *Clinical Chemistry* 1999;45:10 1781–1788
119. Mieli-Vergani G, Vergani D. De novo autoimmune hepatitis after liver transplantation. *J Hepat* 2000;40:3–7.
120. Huguet S, Vinh J, Johanet C, Samuel D, Gígou M, Zamfir O, Duclos-Vallée JK, Ballot E. Identification by proteomic tool of atypical anti-liver/kidney microsome autoantibodies targets in de novo autoimmune hepatitis after liver transplantation. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2007;1109: 345–357
121. Pagliuso RG, Abbud-Filho M, Alvarenga MPS, MAS. Ferreira-Baptista, Biselli JM, Biselli PM, Goloni-Bertollo EM, Pavarino-Bertelli EC. Role of glutathione s-transferase polymorphisms and chronic allograft dysfunction. *Transplant Proc* 2008;40: 743–745.
122. Aguilera I, Alvarez-Marquez A, Gentil MA, Fernandez-Alonso J, Fijo J, Saez C, Wichmann I, Nunez-Roldan A. Anti-glutathione s-transferase T1 antibody-mediated rejection in C4d-positive renal allograft recipients, *Nephrol Dial Transplant* 2008;23: 2393–239
123. Aguilera I, Sousa JM, Gavilán F, Bernardos A, Wichmann I, Núñez-Roldán O. Glutathione S-Transferase T1 mismatch constitutes a risk factor for *de novo* immune hepatitis after liver transplantation. *Liver Transpl* 2004;10: 1166–1172.
124. Aguilera I, Wichmann I, Sousa JM, Bernardos A, Franco E, Garcia Lozano JR. Antibodies against glutathione S-transferase T1 (GSTT1) in patients with de novo immune hepatitis following liver transplantation. *Clin Exp Immunol* 2001;126: 535–539
125. Aguilera I, Wichmann I, Gentil MA. Alloimmune response against donor glutathione S-transferase T1 antigen in renal transplant recipients. *Am J Kid Dis* 2005; 46: 345–350
126. Aguilera I, Wichmann I, Sousa JM. Antibodies against glutathion S-transferase (GSTT1) in patients with de novo immune hepatitis following liver transplantation. *Clin Exp Immunol* 2001;126:535-539.
127. Wichmann I, Aguilera I, Sousa JM. Antibodies against glutathione S-transferase T1 in non-solid organ transplanted patients. *Transfusion* 2006; 46: 1505-1509.

128. Aguilera I, Sousa JM, Gavilán F. Glutathione S-transferase T1 mismatch constitutes a risk factor for de novo immune hepatitis after liver transplantation. *Liver Transpl* 2004; 10: 1166–1172
129. Gustincich S, Manfiolette G, Del Sal G, Schreider C, Carnince P. A fast method for high quality genomic DNA extraction from whole human blood. *Bio Techniques* 1991; 11: 298-302
130. Boussiotis VA, Nadler LM, Strominger JL, Oldfeld AE. Tumor necrosis factor alpha is an autocrine growth factor for normal human B cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 7007-7011.
131. Olerup O, Zetterquist H. HLA-DRB1*01 subtyping by allele specific PCR amplification: A sensitive, specific and rapid technique. *Tissue Antigens* 1991; 37: 197-204
132. Zetterquist H, Olerup O. Identification of HLA-DRB1*04 - DRB1*07 and DRB1*09 alleles by PCR amplification with sequence specific primers in 2 hours. *Human Immunology* 1992; 34: 64-74
133. Ye Z, Song H. Glutathione S-transferase polymorphisms (GSTM1, GSTP1 and GSTT1) and the risk of acute leukaemia: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Cancer* 2001; 41: 980-989.
134. Demir R, Altin S, Pehlivan D, Demir E, Yakar F, Seyhan EC, Dinçer Sİ. The role of GSTM1 Gene polymorphism in lung cancer development in Turkish population. *J Carcinog* 2007; 6: 13
135. Pınarbaşı P, Silig Y, Çetinkaya O, Seyfitli Z, Pınarbaşı E. Strong association between the GSTM1-null genotype and lung cancer in a Turkish population. *Cancer Genet Cytogenet* 2003; 46 (2): 125-129.
136. Aras S. An Investigation on the frequency of GSTM1 gene in Turkish population by RFLP: A Correlation between null allele gene frequency and lung cancer. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2001; 1: 1–14.
137. Ozturk O, Isbir T, Yaylim I, Kocaturk CI, Gurses A. GSTM1 and CYP1A1 gene polymorphism and daily fruit consumption in Turkish patients with non-small cell lung carcinomas. *In Vivo* 2003; 17: 625–32.
138. Ozbek U, Aydın M, Hatirnaz O. Metabolizing enzyme polymorphisms (GSTM1, GSTT1, CYP1A1, CYP2D6) and their association as a potential susceptibility to pediatric ALL. *Am J Hematology* 2001; 7–11.

139. Seyitoglu A, Hatirnaz O, Ozbek U. Detoksifikasyon Enzim Gen Polimorfizmlerinin Akut Lösemi Etiyolojisindeki Rollerini. *Turkish Soc Hematology* 2003; 30:10–14.
140. Tamer L, Calikoglu M, Ates NA, Yildirim H, Ercan B, Saritas E, Unlu A, Atik U. Glutathione-S-transferase gene polymorphisms (GSTT1, GSTM1, GSTP1) as increased risk factors for asthma. *Respirology*. 2004;9:493–498.
141. Tursen U, Tamer L, Eskandari G, Kaya TI, Ates NA, Ikizoglu G, Atik U. Glutathione S-transferase polymorphisms in patients with Behcet's disease. *Arch Dermatol Res*. 2004;296:185–187.
142. Balta G, Yüksek N, Ozyürek E. Characterization of MTHFR, GSTT1, GSTM1, GSTP1 and CYP1A1 genotypes in childhood acute leukaemia. *Am J Hematology* 2003;73:154-160.
143. Ekinci M. Bronşial çocuklarda Glutathion S-Transferaz gen polimorfizminin bir risk faktörü olarak belirlenmesi. TC. Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi.Uzmanlık tezi. 2006.İstanbul.
144. Altaylı E, Gunes S, Yilmaz AF, Goktas S, Bek Y, CYP1A2, CYP2D6, GSTM1, GSTP1, and GSTT1 gene polymorphisms in patients with bladder cancer in a Turkish population. *Int Urol nephrol* .2009;41 (2):259-266.
145. Machulla HKG, Batnasan D, Steinborn F, Uyar FA, Saruhan-Direskeneli G, Oguz FS et al. Genetic affinities among Mongol ethnic groups and their relationship to Turks. *Tissue Antigens* 2003; 61(4): 292-9.
146. Agrawal S, Tripathi G, Khan F, Sharma R, Baburaj VP. Relationship between GSTs Gene Polymorphism and Susceptibility to End Stage Renal Disease among North Indians. *Renal Failure* .2007; 29:947–953
147. Cannagnol F, Sine PM, Rapin J, Jerome H. GST of human RBC assay, values in normal subjects and in two pathological circumstances: Hyperbilirubinemia and impaired renal function. *Clin Chim Acta*. 1981;117:209–217.
148. Yang Y, Kao MT, Chang CC et al. Glutathione S-Transferase T1 deletion is a risk factor for developing end-stage renal disease in diabetic patients. *Int J Mol Med* 2004;14:855.
149. Singh R, Manchanda PK, Kesarwani P, Srivastava A, Mittal RD. Influence of genetic polymorphisms in GSTM1, GSTM3, GSTT1 and GSTP1 on allograft outcome in renal transplant recipients. *Clin Transplant* 2009; 23: 490–498

150. Azarpira N, Nikeghbalian S, Geramizadeh B, Darai M. Influence of glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms with acute rejection in Iranian liver transplant recipients. *Mol Biol Rep* 2010; 37:21–25

151. Aguilera I, Sousa JM, Praena JM, Gómez-Bravo MA, Núñez-Roldan A. Choice of calcineurin inhibitor may influence the development of de novo immune hepatitis associated with anti-GSTT1 antibodies after liver transplantation. *Clin Transplant* 2010 (Epub ahead of print)



İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
YEREL ETİK KURUL TUTANAĞI

Toplantı Tarihi : 22/04/2009

Toplantı Yeri : Behçet Kütüphanesi Etik Kurul Toplantı Salonu

Toplantı Sayısı : 4

Sorumlu araştırmacılığını Fakültemiz Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç.Dr. Fatma SAVRAN OĞUZ'un üstlendiği ve Biyolog Sebahat USTA AKGÜL'ün yürüteceği 2009/1338 protokol numaralı "Canlı vericiden böbrek nakli olan hastalarda nakil sonrası akut ve kronik rejeksiyon gelişimi ile Glutasyon-S transferaz (GST) polimorfizmleri ve Anti-GSTT1 antikoru ilişkisi" başlıklı yüksek lisans tez çalışması kurumumuzda incelendi.

Etik yönden bir sakınca taşımadığı görüldü, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklendiği takdirde uygulamaya konulabileceğine karar verildi.

Prof.Dr. Güher SARUHAN DİREKENELİ
Etik Kurul Başkanı (Dekan Yardımcısı)

Prof.Dr. A.Yağız ÜRESİN
Farmakoloji ve Kli.F. A.D

Prof.Dr. Ahmet GÜL
İç Hast. A.D, Romatoloji Bilim Dalı

Prof.Dr. Berrin UMMAN
Kardiyoloji A.D.

Prof.Dr. Kamil PEMBEÇİ
Anesteziyoloji A.D.

Prof.Dr. Sevinç EMRE
Çocuk Sağ. Ve Hast. A.D

Prof.Dr. Nuran YILDIRIM
Deontoloji ve Tıp Tarihi A.D.

Prof.Dr. Oğuzhan ÇOBAN
Nöroloji A.D.

Prof.Dr. Pınar SAİP (T:Katılmadı)
İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü

Prof.Dr. Ümit TÜRKÖĞLU
Biokimya A.D

Prof.Dr. Neşe ÇOLAK (T:Katılmadı)
İç Hast.A.D. End. Ve Metabolizma Hast. B.D.

Prof.Dr. Nurhan ENGİNAR (izinli)
Farmakoloji ve Kli.F. A.D

Fatma Ceyda DÖNMEZER
Sivil Toplum Örgütü Üyesi

Av. Dilek TEMİZ ÖZBEK
Hukukçu

Prof.Dr. Y. Sumer YAMANER
Genel Cerrahi A.D.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	SEBAHAT	Soyadı	USTA AKGÜL
Doğ.Yeri	KASTAMONU	Doğ.Tar.	09/10/1978
Uyruğu	TC	TC Kim No	29755982928
Email	sebahatakul@gmail.com	Tel	506 301 83 83

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	İ.Ü. İ.T.F. TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI	2006-
Lisans	İ.Ü. FEN FAKÜLTESİ BİYOLOJİ BÖLÜMÜ	2004
Lise	SAFRANBOLU LİSESİ	1995

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	BİYOLOG	İ.T.F. TIBBİ BİYOLOJİ A.B.D.	2005-
2.	HEMŞİRE	İ.T.F. NÖROŞİRÜRJİ A.B.D.	1998-2005
3.	HEMŞİRE	İ.T.F.GENEL CERRAHİ AB.D.	1996-1998

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İYİ	İYİ	İYİ		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	İYİ

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

1) GE Karahan, H. Tozır, Y.Seyhun, **S.Usta**, F.Oguz, M.Carin. An overview of Istanbul Medical Faculty Cadaveric Kidney Waiting List (2006). 21st EFI Conference, Tissue Antigens Volume 69 Number 5 May 2007.

2) Y. Seyhun, G. Karahan, C. Kekik, H. Tozır, **S. Usta**, F. Oguz, M. Carin. Quality control program for HLA antigen/alele typing and antibody screening tests. 1st International Proficiency Testing Conference 2007

3) Y. Seyhun, G. Karahan. Ç. Kekik, H. Tozır, **S. Usta**, F. Oğuz, M. Çarin. HLA Alel, Antijen ve Antikor Kalite Kontrol Programı. Klinik Biyokimya Uzmanlar Derneği Tıbbi Laboratuar Sempozyumu 2006, Kıbrıs

Özel İlgi Alanları (Hobileri):

Seyahat etmek, bulmaca çözmek, kitap okumak