

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

RENAL TRANSPLANT ALICILARINDA
DONÖR SPESİFİK VE NON DONÖR SPESİFİK
ANTİKORLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr.Burak SUVAK

İÇ HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof.Dr. Kenan KEVEN

2010

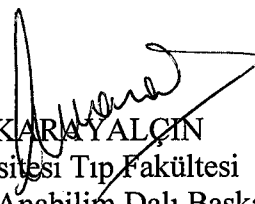
T.C.
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
Dahili Tıp Bilimleri Bölüm Başkanlığı

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Tıpta Uzmanlık eğitimi çerçevesinde yürütülmüş olan

“Renal Transplant Alıcılarında Donör Spesifik ve Non Donör
Spesifik Antikorların Değerlendirilmesi” başlıklı, Dr.Burak Suvak’a ait bu çalışma
aşağıdaki jüri tarafından Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi 31 / 03 / 2010


Prof.Dr.Selim KARAAYALÇIN
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı
Jüri Başkanı

Prof.Dr.Kenan KEVEN
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Nefroloji Bilim Dalı

Tez Danışmanı

Doç.Dr.Nuran TÜRKCAPAR
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Romatoloji Bilim Dalı

Üye



TEŞEKKÜR

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı'ndaki eğitimim süresince emeği geçen İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı şimdiki başkanı Prof. Dr. Selim Karayalçın'a, eski başkanı Prof.Dr. Necati Örmeci'ye, Nefroloji Bilim Dalı'ndaki hocalarıma ve diğer tüm İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı hocalarıma, tez çalışmamın her türlü aşamasında desteğini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Kenan Keven'e, İmmünoloji Laboratuvarı sorumlusu Prof. Dr. Hüseyin Tutkak'a, transplantasyon poliklinik görevlisi Ümit Akyel'e, Nefroloji Laboratuvarı çalışanlarından Sinem Koçak ve diğer çalışanlarına, İmmünoloji Laboratuvarı çalışanlarından Semahat Akbay ve diğer çalışanlarına ihtisasım boyunca beraber çalıştığım tüm mesai arkadaşlarıma, çalışmaya katılmaya kabul eden değerli hastalarımıza teşekkürü borç bilirim.

Ayrıca hayatım boyunca hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan aileme, ihtisas süresince desteğini esirgemeyen sevgili eşime ve moral kaynağım biricik oğluma teşekkür ederim.

Dr.Burak SUVAK

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
TABLO DİZİNİ.....	iv
KISALTMALAR.....	v
1- GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2- GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.1 Transplantasyon İmmünbiyolojisi.....	5
2.1.2. Naturel ve Adaptif İmmünite.....	6
2.1.3. T Hücre Aktivasyonu.....	6
2.1.4.MHC Klas I ve Klas II Moleküllerinin Yapısı ve Doku/Hücre Dağılımı..	6
2.1.5. MHC/HLA Moleküllerinin İmmün Yanıtta Rolü.....	7
2.1.6. Alloantijenin Tanınması.....	8
2.1.7 .Direkt Yol.....	8
2.1.8. İndirekt Yol.....	9
2.2. Rejeksiyon.....	9
2.3. İmmünsüpresyon.....	11
2.4. Human Lökosit Antijen Uyumu.....	12
2.5. Lenfosit Crossmatch.....	13
2.6. Panel Reaktif Antikor.....	13
2.7. Luminex yöntemi	14
3.1. MATERYAL – METOD.....	15
3.1.1. Tahmini GFR Hesaplanması.....	16
3.1.2. Anti-HLA Çalışılması.....	16
3.1.3. İstatiksel Yöntemler.....	16

3.1.4. Etik Kurul Onayı.....	17
4. BULGULAR.....	18
5. TARTIŞMA.....	22
6. ÖZET.....	28
7. SUMMARY.....	30
8. KAYNAKLAR.....	31

TABLO DİZİNİ

Tablo 2.1. Kronik Allograft Nefropati Gelişimi/Progresyonunda Etkili Faktörler.....	5.
Tablo 2.2. Banff 97 Sınıflaması.....	10
Tablo 2.3. Antikor Aracılı Rejeksiyonlar.....	11
Tablo 4.1. Çalışmaya katılan hastaların genel özellikleri.....	19
Tablo 4.2. HLA antikorlu olan ve olmayan grupların karşılaştırılması.....	20
Tablo 4.3. HLA Antikor Gelişimi İçin Bağımsız Risk Faktörleri.....	21

KISALTMALAR DİZİNİ

HLA	: Human leukocyte antigen
MHC	:Major histocompatibility complex
TCR	:T cell receptor
IL	:Interleukin
PRA	: Panel reaktif antibody
ELISA	: Enzyme linked immunosorbant assay
DGF	: Delete graft function
PCR	: Polymerase chain reaction
MDRD	: Modification of diet in renal disesase
CMV	: Cytomegalovirus
DNA	: Deoxyribonucleicacid
HD	: Hemodialysis
CAPD	: Continuous ambulatory peritoneal dialysis
FMF	: Familial Mediterranean Fever
DM	: Diabetes mellitus
HT	: Hypertension
FSGS	: Focal segmential glomerulosclerosis
İg	: Immunglobulin
SLE	: Systemic lupus erythematosus
MMF	: Mycophenolate mophetil
MPA	: Mycophenolate sodium
AZA	: Azathioprine
CsA	: Cyclosporine
MM	: Mismatch
GFR	:Glomerular filtration rate
DSA	:Donor spesific antibody

1. GİRİŞ-AMAÇ

Böbrek nakli, son dönem böbrek yetmezliğinin tedavisinde diyaliz yöntemlerine göre hastaya daha iyi yaşam kalitesi ve daha fazla yaşam süresi sağlaması nedeniyle en seçkin tedavi seçeneğidir (1). Ancak böbrek nakli sonrasında; akut rejeksiyon, kullanılan immünsüpresif ilaçlara bağlı olarak ortaya çıkabilen infeksiyonlar, kardiyovasküler komplikasyonlar, ilaç yan etkileri önemli sorunlar olarak dikkati çekerken, geç dönemde en sık karşılaşılan sorun greft kaybı ile sonuçlanan kronik allograft nefropatidir (KAN) (2). İmmünsupresyonda sağlanan gelişmeler ve nakil böbreğin erken dönem sağ kalımındaki iyileşme ne yazık ki uzun dönem greft fonksiyonuna yansımamakta ve halen KAN, nakil böbrek yetmezliklerinin başlıca sebebi olarak kalmaktadır. KAN, hipertansiyon (HT) ve proteinüri ile birlikte nakil böbrek fonksiyonlarının ilerleyici şekilde kaybı ile karakterize bir klinik tablodur.

Patogenezinde sorumlu tutulan mekanizmalar immünolojik ve immünolojik olmayanlar olmak üzere iki başlık altında toplanabilir (tablo1.1). Kalsinörin inhibitörü (KNİ) ilaçların kullanımı immünolojik olmayan sebeplerin başında yer alırken, nakil öncesi ve sonrasında ortaya çıkan immün duyarlaşma ve bunun neden olduğu akut ve subklinik rejeksiyonlar KAN gelişiminde en önemli immünolojik mekanizmalardır. Bilindiği gibi immünolojik duyarlaşma için öne sürülen en önemli risk faktörleri HLA antijenlerinde uyumsuzluk ve bu antijenlere karşı gelişen antikorlardır. Bu duyarlaşma nakil öncesi olabileceği gibi nakil sonrasında da ortaya çıkabilmektedir. Nakil öncesi immünolojik duyarlaşma daha önce transplantasyon yapılan hastalarda, gebelik, kan transfüzyonları gibi nedenlerden dolayı gelişebilirken, nakil sonrasında ise daha çok geçirilen akut rejeksiyonlar, yetersiz immünsupresyon ve doku antijenlerinde gözlenen uyumsuzluklar temel faktörlerdir. Son yıllarda böbrek nakli yapılan hastalarda greft fonksiyonu normal dahi olsa de-novo anti-HLA antikorların gelişebildiği ve bunun uzun dönem izlemde greft disfonksiyonunu öngörebildiği gösterilmiştir (3,4). Anti-HLA antikorları donör spesifik olabildiği gibi non-donör spesifik antikorlar da olabilmektedir. Donör spesifik antikorlar alıcıda donör antijenlerine karşı spesifik antikorları tanımlarken non-donör spesifik antikorlar donör antijenlerine spesifik olmayan diğer HLA antijenlerine karşı gelişen antikorları tanımlamaktadır. Yapılan

Çalışmalarda hem donör spesifik antikorlar hem de non-donör spesifik anti-HLA antikorların gelişimi ile uzun dönem greft fonksiyonunun olumsuz etkilendiğı ortaya konmuştur.

Böbrek nakli öncesinde hastaların böbrek vericisinin HLA antijenlerine karşı duyarlaşmaya sahip olup olmadığını ortaya koymak için lenfosit cross match (LCM) testi yapılmakta (klas I ve II antijenlere karşı) pozitif sonuç varlığında transplantasyon gerçekleştirilmemektedir. LCM testi kompleman bağımlı sitotoksiste (complement dependent cytotoxicity CDC-cross match) ile yapılırken bugün bir çok merkez daha hassas ve non-kompleman antikorlarıda ortaya koyabilen flow cytometric cross match testi ile yapmaktadır. Bu test ile daha düşük düzeyde mevcut antikorlar ortaya konulabilmektedir. Ek olarak yine nakil öncesi HLA antijenlerine duyarlılık durumunu yansıtmak üzere, panel reaktif antikor (PRA) denilen ve değişik HLA klas I ve II antijen havuzuna karşı alıcı serumunda mevcut antikorların saptanmasını sağlayan testler de yapılmaktadır. PRA klas I ve II pozitifliği alıcıda HLA antijenlerine karşı antikor varlığını gösterirken, LCM bu antijenlerin donör spesifik olup olmadığını ortaya koyan en önemli testtir. Böbrek nakli sonrasında bir kısım hastada akut rejeksiyonun hemen öncesinde bu antikorların gelişebildiğı ortaya konmuştur. Ayrıca akut rejeksiyon esnasında ve sonrasında bu antikorlar gözlenebilmekte ve akut rejeksiyonu tedavi edilen olgularda bu antikorların titresinde belirgin düşme ile uzun dönemde greft kaybının daha sık gözlendiğı ortaya konulmuştur.

Biz bu çalışmamızda, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı Transplantasyon Polikliniğinde takip edilen böbrek nakli hastalarında de-novo anti-HLA antikor gelişimi ve bunu etkileyen faktörleri ortaya koymayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

Son yıllarda transplantasyon immünolojisi, immünsüpresif tedavi, infeksiyonların kontrolü ve cerrahi teknikte sağlanan gelişmeler renal transplantasyonu son dönem böbrek yetmezliği olan hastalarda en başarılı tedavi yöntemi haline getirmiştir. Renal transplantasyon ile 1 yıllık hasta yaşamı % 95-98, 5 yıllık hasta yaşamı ise % 80-90 civarındadır. Renal transplantasyon ile 1 yıllık greft yaşamı canlı vericide % 90-95 ve kadavra vericide % 75-85'dir. 5 yıllık greft yaşamı canlı vericide % 60-90 ve kadavra vericide % 50-60'dir. Diyaliz tedavisi ile karşılaştırıldığında maliyet, yaşam kalitesi, ve yaşam süresi yönünden renal transplantasyon daha iyi tedavi yöntemi olarak karşımıza çıkmaktadır. Ancak renal transplantasyon organ yetersizliği nedeniyle tüm hastalara uygulanamamakta ve bu nedenle diğer renal replasman tedavileri uygulanması zorunlu hatta yıllar geçtikçe nakil yapılan hasta sayısı benzer oranda kalırken diyaliz hasta sayıları hızla artmaktadır. Bu hastalara bir de nakil sonrası greft kaybı gelişen hastalar eklendiğinde organ bekleme listeleri gün geçtikçe artmakta ancak organ kıtlığı daha büyük boyutlara ulaşmaktadır.

Renal transplantasyon yapılabilmesi için alıcı ile verici arasında ABO kan grubu sisteminde uyum olmalıdır ve uyum kuralları kan transfüzyonu gibidir (0 grubu genel verici, AB grubu genel alıcı). Fakat son zamanlarda değişik yöntemleriyle farklı kan grubu olanlar arasında nakiller de başarı ile yapılabilmektedir. Renal transplantasyonda alıcı ile verici arasında uyum aranan ikinci sistem doku grubu olarak bilinen HLA sistemidir. HLA sistemi 6. kromozomun kısa kolu üzerinde yerleşmiş doku uygunluk antijenlerinin kodlandığı bölge tarafından belirlenir. HLA sistemi anne ve babadan alınan birer haplotipten oluşur. HLA bölgesindeki antijenler I. sınıf (A,B,C) ve II. sınıf (D,DR,DP,DQ) olmak üzere ikiye ayrılır. Renal transplantasyonda önemli olan A,B ve DR antijenleridir. Renal transplantasyonda en iyi sonuç doku uygunluk antijenlerinde tam uyum olduğu durumlarda alınmaktadır. Vericide, alıcıda olmayan DR, B, A antijenleri arttıkça alıcının böbreği reddetme olasılığı artmaktadır. Alıcının nakledilen böbreği reddetmesinde minör antijenler denilen HLA A,B,DR antijenlerin dışında ki antijenlerinde rolü olduğu ortaya konulmuştur. Ayrıca HLA dışı antijenlerin de organ nakli sonucunu etkileyebilen

immün reaksiyonlara yol açtığı da bilinmektedir. Bunlar anti-endotelyal antikorlar, major histocompatibility complex (MHC) Klas I related Chain A (MICA) antijenlerine karşı gelişen antikorlar olarak söylenebilir.

Bilindiği gibi son yıllarda akut rejeksiyon gelişimi etkin immüsupresif tedaviler ile %15'lere inerken uzun dönem greft fonksiyonu önceki yıllara göre anlamlı olarak iyileşmemiştir. Böbrek nakli sonrasında greft kaybı sıklığı süregelen bir yatay eğik çizgi halinde devam etmekte ve yıllar geçtikçe greft kaybı sıklığında artmaktadır. Uzun dönemde greft kaybının en önemli nedeni KAN'dır.

Kronik allograft nefropati (KAN) transplant böbrekte kronik interstisyel fibrozis, tübüler atrofi, tıkalıcı vasküler değişiklikler ve glomerülosklerozun eşlik ettiği, ilerleyici böbrek fonksiyon bozukluğu ile karakterizedir. KAN, biyopside tipik özelliklerin olmasının yanında, belirgin ilaç toksisitesi, rekürren veya de novo spesifik hastalıktan bağımsız şekilde, çoğunlukla nakilden 6 ay sonra ortaya çıkan, nakil böbrekteki fonksiyon bozukluğunu tanımlamaktadır. KAN'nin patogenezi tam olarak anlaşılmamıştır. Patogeneizde suçlanan faktörler tablo 2.1'de gösterildi. KAN gelişiminde etkileri tanımlanmış çeşitli risk faktörleri ileri donör yaşı, gecikmiş greft fonksiyonu, tekrarlayan akut rejeksiyon epizodları ve geç dönemde gelişen rejeksiyonlardır (5). KAN öncesinde sıklıkla, antirejeksiyon tedaviye kötü cevap verebilen, belirgin akut rejeksiyon epizod hikayesi bulunur. Kliniğinde hipertansiyon (HT), proteinüri ve glomerüler filtrasyon hızındaki (GFH) yavaş seyirli düşme ile geç dönem nakil böbrek fonksiyon bozukluğu yer alır.

Tablo 2.1. Kronik Allograft Nefropati Gelişimi/Progresyonunda Etkili Faktörler

İmmünolojik Olmayan Sebepler

KNI toksisitesi
Primer hastalığın nüksü
Hipertansiyon
Dislipidemi
CMV enfeksiyonu
Diyabetes mellitus
Oksidatif stress
Kronik hipoksi
Sigara
Gecikmiş greft fonksiyonu
Donör yaşı veya kötü greft kalitesi

İmmünolojik Sebepler

HLA mismatch
Yüksek PRA
Daha öncesinde rejeksiyon olması
Yetersiz immünosupresyon
Subklinik rejeksiyon

2.1.1. Transplatasyon İmmünbiyolojisi

Memeli immün sistemi karmaşık bir sistem olup 2 grupta incelenebilir.

Naturel immünite; nonspesifik immün yanıtı yansıtır

Adaptif immünite; spesifik antijene yanıtı yansıtır.

Organ transplantasyonunda grefte immün yanıtın birinci hedefi verici hücre yüzeylerinde eksprese olan Major Histocompatibility Complex (MHC) molekülleridir. Bu adaptif immünitenin bir formudur. Transplante dokuya immün yanıtı anlamak için genel immün yanıttan kısaca bahsetmek yerinde olacaktır.

2.1.2. Naturel ve Adaptif İmmünite

Adaptif immünite makrofaj, nötrofil, naturel killer hücreleri, sitokinleri bazı belirli selüler reseptörleri ve kompleman bileşiklerini içeren ve gerektiren nonspesifik immün sistemi ifade eder (6). Adaptif immünite spesifik antijeni tanımayı ve T ve B lenfosit hafıza ve spesifitesini ilgilendirir. T hücreleri MHC proteinine bağlanan peptit formunda antijeni tanır (7). B hücreleri intakt molekülün antijenik parçalarını tanıyan immünglobulin reseptörlerini içerir. Naturel ve adaptif immün sistemin kendi aralarında sıkıca biri ilişkileri vardır. Antijen-spesifik T hücre aktivasyonu naturel immün sistemin parçaları olan sitokin ve kemokinlerin üretim ve sekresyonuna yol açarken kompleman komponentlerinin lokal doku üretimi T hücre aktivasyonu için gereklidir (8). Adaptif immüniteye bir örnek B hücrelerini ilgilendiren ABO antijenleridir. Önceden olası alıcı verici arasındaki ABO uyumsuzluğu transplantasyona kontrendikasyon oluştururdu. Günümüzde desensitizasyon protokolleri plazmaferez, belki splenektomi ve agresif immünsüpresif rejimlerle bu antikorlar uzaklaştırılabilmektedir.

2.1.3. T Hücre Aktivasyonu

T hücresinin antijeni tanınması immün yanıtın etkili mekanizmalarını başlatan primer olaydır. Bu anahtar basamak iki farklı sinyali gerektirir. İlk sinyal antijen sunan hücre (APC) tarafından peptit olarak sunulan antijen ile T hücre reseptörünün (TCR) etkileşimi ile olur. İkinci sinyal T hücre /APC yüzeyinde reseptör/ligand etkileşimi ile kositümülan olarak sağlanır (9). Aktivasyon bir kez başladığında, T hücreleri mitojenik büyüme, interlökin-2 gibi diferansiyasyon faktörlerinin etkisi altında klonal çoğalmaya gider, daha sonra aktive T hücreleri :

- CD 8 pozitif T hücre ilişkili sitotoksiteyi indükler
- B hücrelerine antikor üretimi için yardım eder
- Gecikmiş tipte hipersensitivite yanıtı indüklemek için makrofajlara yardım eder

2.1.4. MHC Klas I ve Klas II Moleküllerinin Yapısı ve Doku/Hücre Dağılımı

Renal transplantasyonda en önemli doku uyum sistemi ABO kan grubu ve insan lökosit antijenleri (HLA) dir. Bu HLA antijenleri hücrelerin yüzeyine yerleşmiş

glikoproteinlerdir ve 6. kromozomun kısa kolundaki major doku uyumu kompleksi (MHC) diye bilinen bir grup gen tarafından kodlanır. MHC'nin protein ürünleri çeşitli hücrelerin yüzeyleride eksprese edilir. İnsandaki sistem HLA olarak adlandırılır. Farelerdeki H-2, ratlardaki RT-I ile analogdur. HLA olarak adlandırılmalarının sebebi öncelikle beyaz kürelerin yüzeyinde saptanmış olmalarıdır. Polimorfik özelliğinden dolayı çoğunlukla belli bir alıcı için tam uyumlu bir donör bulunması çok zordur. MHC tam uyumlu bireyler arasındaki organ naklinde rejeksiyon gözlenmezken (identik ikizler), MHC farklı bireyler arasında immünsüpresif yokluğunda rejeksiyon meydana gelir. Bu proteinlerin normal biyolojik rolleri 1970'lerden beri bilinmektedir. MHC molekülleri klas I ve klas II olmak üzere iki majör gruba ayrılır.

Klas I HLA antijenleri HLA-A, HLA-B ve HLA-C genlerinin ürünleri olup, farklı düzeylerde de olsa eritrositler hariç antijen-sunucu hücreler (APC), dendritik hücreler, makrofajlar, B lenfositler ve vasküler endotelial hücreler gibi birçok hücrede eksprese edilir. Bunlar üç alfa (a-1, a-2 ve a-3) polipeptidi ve beta-2 mikroglobulinden (b2-m) oluşmaktadır. Antijen bağlayan bölge a-1 ve a-2 arasında yer alır. Klas I MHC molekülleri peptid antijenleri CD 8 pozitif T hücrelerine sunar. CD 8 pozitif T hücreleri ardışık olarak apoptozu indükleyerek veya sitotoksik proteinleri salma yoluyla hücre lizisini indükler.

MHC klas II HLA antijenleri HLA-DR, HLA-DQ ve HLA-DP genlerinde kodlanır, egzogen proteinleri bağlar. Klas II molekülleri, intesitnal dendritik hücreler, makrofajlar ve B lenfosit gibi immün yetenekli bir grup hücrede eksprese edilirler. Bu ekspresyon IL-2 and IFN-gamma gibi proinflamatuvar sitokinlerle temastan sonra güçlü bir şekilde up regüle olur. Klas II molekülleri birbirine non kovalan bağlarla bağlanmış iki polipeptid zincirinden (a ve b) oluşur, antijen bağlayan bölge, a-1 ve b-1 arasında yer alır. Bu bölgede amino asit dizileri bireyler arasında çeşitlilik (polimorfizm) gösterir.

2.1.5. MHC/HLA Moleküllerinin İmmünolojik Yanıtta Rolü

İmmün sistemin antijeni tanımasında klas I ve klas II MHC moleküllerinin önemli rolü vardır. Yabancı antijeni bağlama özelliği olan MHC molekülleri ile birlikte

antijen T lenfositlerinin farklı alt gruplarına sunulur. Genel olarak CD4 + T hücreler klas II molekülüne, CD8+ hücreler ise klas I molekülüne bağlanmış olan antijenleri tanır. Endojen antijenler örneğin virus ile enfekte hücrede oluşan viral peptid klas I molekülüne bağlanarak hücre yüzeyinde eksprese olur ve CD8+ T hücreler bu peptidi tanır. Daha sonra immün yanıtın diğer aşamaları gerçekleşerek virus ile enfekte hücre öldürülür. Egzojen antijenler MHC klas II molekülüne bağlandığında CD4+ T hücreler tarafından tanınarak bu hücrelerin aktivasyonu ve proliferasyonu ile immün yanıt gerçekleşir.

HLA molekülünün ortak terminolojisi uluslar arası HLA workshop 'da alınan kararlara göre düzenlenir. Serolojik olarak tayin edilmiş antijenler için, HLA ön ekini takiben genetik lokusun adı yazılır (HLA-A.. gibi), onu takip eden sayılar antijenin saptandığı zaman verilen tanıtım sayısıdır (HLA-A3 gibi) Çalışmaların devam ettiği bazı molekülde 'w' (workshop) işareti bulunur (CwI,Cw2 gibi). Çalışmalar tamamlanıp antijen hakkında bilgi kesinleştğinde 'w' işareti kaldırılır. Moleküler yöntemle tayin edilen HLA antijenleri için lokusun adını takiben bir asteriks (*) işareti vardır (moleküler çalışmayı ifade eder), örneğin (HLA-A*...) ve bunu takip eden ilk iki rakam genellikle serolojik karşılığı olan tipi tanımlarken 3.ve 4. rakamlar alt tipleri belirler (HLA-A*2402 gibi) .

2.1.6.Alloantijenin Tanınması

T hücrelerinin alloantijeni tanınması transplante organın rejeksiyonuyla sonuçlanan olaylar kaskadının primer ve santral olayıdır. Her bir T hücresi veya kolonisi MHC yapısı içinde sunulan bir peptid antijeni tanıyan monospesifik yapıdadır. Direkt ve indirekt olmak üzere iki tane alloantijen tanıma yolu vardır. Her biri allospesifik T hücre klonlarının üretimine yol açar.

2.1.7.Direkt Yol

Konakçı T hücreleri donör veya stimulator hücre yüzeyindeki intakt allo-MHC moleküllerini tanır. Peptid tarafından bağlanan MHC molekülü unstabil olduğundan T hücreleri tarafından tanınmaz. Donör MHC sarmalına bağlı endojen proteinlerden derive peptidler alloantijeni tanımanın bu modunda rol oynarlar. Bu yolun erken alloimmün yanıtta dominant yol olduğu düşünülür (10). Transplante organ çeşitli

sayıda interstisyel dentritik hücre formunda APCs taşır. Bu APCs ler yüksek yoğunlukta allo- MHC molekülünü ve alıcının T hücrelerini direk stimüle etme yeteneğine sahiptir. Bu "Professional APCs" T hücrelerinin tam aktivasyonu için gerekli olan kostimulatör sinyalleri sağlar. Donör MHC hücrelerinde eksprese olabilen parankimal hücreler genellikle kostimulatör moleküllerden yoksundur ve genellikle T hücrelerini tam aktive etme yetenekleri zayıftır ("profesyonel olmayan APC"). Bunun yanında, transgenik hayvanlardaki kanıtlar bazı profesyonel olmayan APC 'lerin, özellikle vasküler endotelyal hücrelerin, T hücrelerini aktive etmek için yeterli olabileceğini göstermiştir (11).

Genel olarak bu hipotezin sonucu olarak organ yerleştirildikten sonra donör kaynaklı APC 'lerin sayısı azaldıkça immün yanıtı direk yol tarafından sağlanan göreceli katkı azalır.

2.1.8.İndirekt Yol

T hücreleri self APC (host-APC) hücreleri tarafından peptid olarak sunulan işlenmiş alloantijenleri tanır (12). Alloantijen tanınmasında temel faktör, greftten salınan MHC moleküllerinin APC hücreleri tarafından alınıp T hücrelerine sunulmasıdır. Organ transplantasyonunda MHC'nin polimorfik gen bölgesine bağlı peptidler alloimmün yanıtı güçlü bir şekilde indüklerken, nonpolimorfik genlere bağlı peptidler bu indüksiyonu yapamaz. İndirekt yolda ilginç bir şekilde peptidler nispeten daha basit ve daha kolay sentezlenebilen bir yapıdadırlar.

2.2.Rejeksiyon

Böbrek nakli sonrasında gerek direkt gerekse indirekt yolla oluşan alloantijenlerin tanınması sonrasında gelişen durum rejeksiyon oluşumudur. Bu durum aktive T lenfositlerin, monositlerin, makrofajların, naturel killer hücrelerin, B lenfositlerin aktif rol oynadığı doku hasarı ve organ kaybı ile neticelenen bir tablodur. Olayın şiddeti immünolojik yanıtın tipine göre değişiklik göstermektedir. Bugün böbrek nakli sonrasında gözlenen rejeksiyonlar tablo 2.2'de görüldüğü gibi Bannf 97 (13) sınıflamasına göre tanımlanmaktadır.

Tablo 2.2. Banff 97 Sınıflaması

Normal

Antikor aracılı rejeksiyon

Anti-donor Ab gösterilmeli

Akut Ab aracılı rejeksiyon

Tip (grade)

I. ATN like C4d (+), minimal inflamasyon

II. Kapiller marjinasyon ve/veya tromboz, C4d (+)

III.Arteriel V3, C4d (+)

Kronik aktif Ab aracılı rejeksiyon

Glomerüler double kontur ve/veya peritubuler kapiller bazal membran multilayering ve/veya IFTA ve/veya arterlerde fibröz intimal kalınlaşma, C4d (+)

3. Borderline değişiklikler

Akut T hücre aracılı rejeksiyon IA, IB, IIA, IIB, III

4. Kronik T hücre aracılı rejeksiyon

Kronik allograft arteriopati (fibrotik alanda mononükleer hücre infiltrasyonu ile arterioller intimal fibrozis)

5. IFTA, herhangi spesifik bir etiyoloji yok

Grade I IFTA <%25 kortikal bölge

Grade II IFTA 25-50, III IFTA>%50

Görüldüğü gibi antikor aracılı rejeksiyonlar son dönemde dikkati çekmekte ve özellikle gerek akut rejeksiyon gerekse kronik antikor aracılı rejeksiyonların tanınması bu sınıflamada vurgulanmaktadır.

Son dönemde antikor aracılı rejeksiyonlar Consensus Opinion from the Antibody Working Group tarafından net olarak sınıflandırılmıştır (Transplantation 2004; 78: 181).

Tablo 2.3. Antikor Aracılı Rejeksiyonlar

Hiperakut Antikor Aracılı Rejeksiyon (AMR; antibody mediated rejection): Nakil öncesinde yüksek miktarda donör spesifik antikor varlığında gelişir (DSA); hemen hemen tüm olgular ilk 24 saatte greft kaybına uğrar.

Akselere AMR: Nakil öncesinde düşük DSA varlığında gelişir; ilk 24 saatten sonra rejeksiyon meydana gelir ve standart tedaviye dirençlidir.

Akut AMR: Nakil sonrasında ‘de novo’ DSA gelişimi sorumlu faktördür. 1 hafta 3-6 ay sonra oluşur. Standart tedaviye dirençlidir

Geç veya Kronik AMR: Nakil sonrasında ‘de novo’ DSA oluşumu neticesi gelişir. 1 yıldan sonra yavaş fakat progresif seyirli greft disfonksiyonuna neden olur. Tedaviye dirençlidir.

2.3.İmmünsüpresyon

Tek yumurta ikizleri arasındaki transplantlar ayrı tutulduğunda, sürekli immunsüpresyon transplante organların uzun dönem fonksiyonu için mutlak gereklidir. Akut rejeksiyon atağı tüm renal transplant hastalarının % 15-45’inde görülebilir ve renal allograftın fonksiyonuna ve sonuçlarını olumsuz etkiler. Günümüzde immunsüpresyon protokolleri merkezler arasında değişiklik göstermekte ve her merkez en düşük akut rejeksiyon ve en yüksek hasta ve greft fonksiyonunu amaçlamaktadır. Transplantasyon uygulamalarında immünsüpresif ilaçlar

İndüksiyon

İdame

tedavide kullanılmak üzere geliştirilmektedir.

İndüksiyon Ajanları

Bu ilaçlar T hücre depresyonu yapan ve yapmayan ilaçlar olarak iki grupta toplanabilir. T hücre depresyonu yapan ilaçlar

- Anti-timosit globulin
- OKT3

- Anti-CD52
- Rituximab (anti-CD20)

olarak sayılabilir.

T hücre depleasyonu yapmayan indüksiyon amaçlı kullanılan ilaçlar ise

- Basiliximab
- Daclizumab

olarak göze çarpmaktadır.

İdame Tedavide Kullanılan İlaçlar

- Kortikosteroidler
- Azatiopürin
- Mikofenolat mofetil
- Siklosporin A
- Takrolimus
- Sirolimus
- Everolimus

olarak dikkati çekmektedir.

2.4.Human Lökosit Antijen Uyumu

Transplantasyon öncesi alıcı ile vericinin uyumunu değerlendirmek için HLA-A, HLA-B ve HLA-DR tiplmesi yapılır. Böbrek naklinde uzun dönem sonuçlar halen doku uyum oranı ile paralellik göstermektedir. Her ne kadar yeni ve etkin immünsupresif ilaçlar pratik uygulamaya girse de doku uyumu en iyi nakil ile daha iyi sonuçlar alınmaktadır. Saptanan ve alıcıda olmayan her donör antijeni mismatch olarak adlandırılır ve total 2 adet A, 2 adet B, 2 adet DR olmak üzere 6 doku antijeni üzerinden mismatch sayısı belirlenir (14,15,16,17).

Eğer alıcının serumunda kan transfüzyonları, gebelik veya daha önceki transplantasyondan kaynaklanan HLA antijenlerine karşı oluşmuş antikorlar varsa bu anti-HLA antikorları böbrek vericisinin antijenlerine spesifik ise buna donör spesifik antikorlar denir. Bu tür anti-HLA antikorlarının oluşması için kişinin kendine yabancı antijenlerle karşılaşmış olması gerekir. Solid organ transplantasyonu öncesinde alıcıda

donör HLA antijenlerine karşı oluşmuş anti-HLA antikorlarının varlığı in vitro koşullarda tarama testleri ile gösterilebilir. HLA antijenleri bilinen kişilerin lenfositlerinden oluşan paneller kullanılarak gösterilebilen bu antikorlar, ‘panel reaktif antikorlar’ olarak tanımlanırlar Antijen-antikor etkileşimine bağlı olarak panelde saptanan antikor pozitiflik oranı PRA yüzdesi olarak ifade edilir

2.5. Lenfosit Crossmatch (LCM) Testi

Renal transplantasyonda köşe taşıdır. Pretransplant verici HLA antijenlerine karşı alıcıda antikorların var olup olmadığının saptanması amacıyla yapılır. Böylece hiperakut rejeksiyonun önceden öngörülmesi sağlanır. Hasta serumu ile verici B ve T lenfositlerinin karşılaştırıldığı bir testtir. Burada T hücre crossmatch vericinin klas I HLA antijenlerine karşı alıcının antikor geliştirip geliştirmedeği, B hücre crossmatch ise alıcıda klas II HLA antijenlerine karşı antikor olup olmadığını test etmektedir. Antikorlar donör lenfosit yüzeyine tutunduğunda üzerine kompleman (tavşan serumu) ilave edildiğinde C1 aktivasyonu ile klasik kompleman aktivasyonu ve membranı perforan olan alıcının lenfositlerinde lenfoliz oluşacaktır. Eosin veya tripan mavisi gibi bir boya kullanılırsa hücre membranı bozulmasına bağlı hücre sitoplazması boya tutacaktır. Membranı sağlam hücreler boyayı hücre içine almazlar. Sonuçlar invert mikroskopla okunur. Pozitif test sonucu transplantasyon için kontrendikasyondur. Bugün crossmatch testinin duyarlılığını arttırmak ve bu antikorları daha iyi tanımlamak için bir çok teknik geliştirilmiştir. Sumitran-Karrupan (18) grubunun yaptığı çalışmada bir çok teknik karşılaştırılmış flow sitometri yöntemi daha hassas bulunmuştur. Flow sitometrik crossmatch yukarıdaki serolojik komplemana bağlı sitotoksikite yöntemle sensitize çıkmayan hastalarda daha düşük düzeydeki antikorları saptayabilmektedir. Flow ile kompleman fiske etmeyen anti-HLA antikorları da ortaya çıkarılabilmektedir.

2.6. Panel-Reaktif Antikor (PRA)

Presensitizasyonun araştırılmasında kullanılan bir testtir. Gönüllü kan vericilerinden izole edilen farklı MHC’li T ve B lenfositler alıcı serumu ile karşılaştırılır. Pretransplant dönemde donör organ bulunduğu muhtemel crossmatch pozitif sonuç

verecek hastaların otaya çıkarılması böylece aktif ve pasif bekleme liselerinin oluşturulması amacıyla yapılır.

Panel reaktif oluşumu temelde 3 nedene dayanmaktadır.

Kan transfüzyonları

Gebelik

Daha önce yapılan transplantasyonlar.

Kronik renal yetersizlikli hastalarda kronik anemi nedeniyle sık transfüzyon gereği hastaların bazı doku antijenlerine karşı kalıcı hassaslaşmasına yol açmaktadır. Özellikle kadavradan organ bekleyen hastalarda, kan transfüzyonundan 3 hafta kadar sonra alınan kan örneklerinin bu antikorlar açısından taranması gereklidir. Eğer hassaslaşmış doku grupları saptanırsa transplante edilecek organda bu doku antijenlerinin bulunmamasına dikkat edilmelidir. Yüksek PRA, yüksek duyarlı hastaya ve erken greft kaybında artmış riske işaret eder (19). HLA spesifik antikorların tanınması günümüzde sensitif ELISA (enzyme-linked immunosorbent assays) ve flow-sitometrik testlerle kolaylaşmıştır.

2.7.Luminex yöntemi

Luminex – fluoroanalizör yöntemi, PRA saptanmasında kullanılan yöntemlerden biridir. Yöntem farklı renklerde floresan özelliği olan mikrobuncuklar kullanılarak gerçekleştirilir. Tepnel Lifecode Luminex Sisteminde, her iki sınıf antikorun varlıkları aynı anda test edilerek özgüllükleri saptanabilir. Lifecodes fluoroanalizör tarafından toplanan ham veriler lifeMatch yazılım analizine gönderilir. Bu yazılım, ham veriyi işler ve çıkan buncukları negatiften pozitif doğru sıralayarak yorumlar. Her bir buncuk ile ilgili antijenler buncuğun negatif veya pozitif olmasına bakmaksızın listelenir ve özgüllüğün değerlendirilmesinde kullanılacak alleller/ antijenler yazılım tarafından önerilir. Vericiye özgül antikorlar saptanmış ise, yazılım tarafından önerilen raporlar, vericinin HLA tipleri ile birlikte değerlendirilir

3.1. MATERYAL - METOD

Çalışmaya, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı Transplantasyon Ünitesinde Kasım 1999 ile Ağustos 2009 arasında canlı/kadavradan böbrek transplantasyonu yapılan 161 hasta alındı.

- Greft disfonksiyonu gelişen ve diyalize dönen hastalar (14)
- Başka merkezde takip edilen veya polikliniğe gelmeyen hastalar (42)
- Ölen hastalar (5)
- Nakil öncesi PRA pozitifliği olan hastalar (9)

çalışmadan çıkarıldı. Çalışmada ortalama yaşı 38 olan 27'si kadın 64'ü erkek toplam 91 hasta değerlendirmeye alındı.

Değerlendirme ve izlem sırasında alıcı yaşı, alıcı cinsiyeti, verici yaşı, verici cinsiyeti, alıcı- verici akrabalık derecesi, canlıdan / kadavradan nakil, diyaliz tipi, diyaliz süresi, posttransplant geçen süre, pretransplant alıcı-verici CMV enfeksiyon durumu, klas I/klas II panel reaktif antikor, mismatch sayısı, akut rejeksiyon, akut rejeksiyonun derecesi, posttransplant üriner sistem enfeksiyonu gelişip gelişmediği, posttransplant CMV enfeksiyonu gelişip gelişmediği, gecikmiş greft fonksiyonu olup olmadığı, posttransplant diabetes mellitus gelişip gelişmediği, uygulanan immüsupresif protokol, proteinüri durumu, indüksiyon tedavisi alıp almadıkları hasta dosyalarından kaydedildi. Tüm hastaların en son kontroldeki biyokimyasal parametreleri dosyalarından alınarak işlendi. Hastaların rutin kontroller esnasındaki son değerleri baz alınarak MDRD (modification of diet in renal disease) formülüne göre glomeruler filtrasyon hızı hesaplandı. Akut rejeksiyon tanısı olan tüm hastaların biyopsi tanısı mevcut idi. Akut rejeksiyon gelişenlerde C4d pozitifliği olanlar humoral akut rejeksiyon olarak sınıflandırıldılar. Alıcı ve vericilerin HLA-A, HLA-B ve HLA-DR 'leri karşılaştırılarak mismatch sayıları belirlendi. Posttransplant PRA tarama değerleri luminex yöntemiyle değerlendirildi. %10'dan daha fazla pozitiflik olanlarda tanımlama testi yine luminex yöntemiyle üretici firmanın kullanma önerileri doğrultusunda yapıldı

3.1.1.Tahmini GFR hesaplanması

Hastaların rutin kontrollerde bakılan son kreatinin değerlerine göre MDRD (modification of diet in renal disease) formülüne göre hesaplandı.

3.1.2. Anti-HLA çalışması

Rutin kontrollerde hastalardan 6 cc kan alınarak +4 derecede 3000 rpm de 15 dakika santrifüj edildikten sonra -80 derecede muhafaza edildi. Daha sonra luminex yöntemiyle önce PRA klas I ve klas II için tarama testleri yapıldı. HLA klas I veya klas II antijeni ile kaplı luminex mikrobuncuklar 96 kuyucuklu milipor tarama plaklarında (LMX LIFE CODES Life Screen Deluxe LOT: 061509-LMX) hasta serumu ile inkübe edildi. Örnekler üç kez yıkandı. Phycoerythrin (PE) – konjuge anti human immüoglobulin IgG eklenerek 30 dakika inkübe edildi. Bağlanmamış antikorun fazlası kuyucuklardaki mikrobuncuklar yıkanarak uzaklaştırıldı. Plaklar karanlıkta inkübe edildikten sonra, sonuçlar lifematch fluoroanalizör cihazında analiz edildi. Cihaz, iki lazer içeren minidijital akım analiz sistemidir. Sıvı lazerden geçtiğinde ilk geçişte buncuklar HLA tipine göre sınıflandı. İkinci geçişte PE işaretli anti human IgG bağlı HLA moleküllerine göre buncuklar tarandı. PRA pozitifliğini saptamak için buncuğun median fluorescent intensity (MFI) değeri üç negatif kontrol buncuğunun MFI değerine bölündü ve elde edilen değerden arka plandaki ayarlama faktörü çıkarılarak üç farklı ayarlanmış oran elde edildi. Tarama testlerinde %10 ve üzeri pozitif saptanan örneklerde tanımlama testi yapıldı. Tanımlamada klas I için LMI LIFE CODES KLAS I ID LOT: 073109-LMI kitleri, klas II için LM2Q LIFE CODES KLAS II LOT: 090909J2M2Q kitleri kullanıldı. Tanımlamada pozitif olan örneklerde daha sonra anti- HLA tipleri klas I ve klas II olarak bakıldı. HLA'lar ayrıldıktan sonra Life Match Quick Type Reanalysis Antibody Results programı ile alıcı- verici HLA'ları karşılaştırıldı. Ortak antikor olanlar donör spesifik antikor, olmayanlar non-donör spesifik antikor olarak kabul edildi.

3.1.3.İstatiksel yöntemler

İstatiksel değerlendirmeler Statiscal Package for Social Science for Windows Version 16.0 (SPSS 16.0 Inc:Chicago,11,USA) paket programı kullanılarak yapıldı. Değişkenler ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterildi. Grup ortalamaları arası

farklılıklar student-t testi, grup oranları farklılıkları ise ki-kare testleri ile değerlendirildi. HLA antikorları gelişimini etkileyebilecek faktörler lojistik regresyon analizi ile test edilerek bağımsız değişkenler belirlenmeye çalışıldı. $P < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

3.1.4.Etik Kurul Onayı

Çalışma Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'na sunulmuş olup 153-4842 numarası ile onay alınmıştır.

4.BULGULAR

4.1. Hasta Özellikleri:

Hastaların 27'si kadın, 64'ü erkek, transplant öncesi 13 hasta CAPD, 61 hasta HD, 2 hasta önce CAPD sonra HD tedavi programındaymış. Olguların 15'ine preemptif transplantasyon yapılmış. Primer hastalıklara bakıldığında; 3 hastada FMF, 8 hastada DM, 16 hastada hipertansif nefropati, 2 hastada vaskülit, 4 hastada IgA nefropatisi, 25 hastada kronik glomerulonefrit, 1 hastada SLE, 2 hastada VUR, 1 hastada polikistik böbrek hastalığı, 20 hastada kronik tubulointerstisyel nefrit, 9 hastada etyoloji ortaya konulamamış.

Donör cinsi 38 erkek, 53 kadın idi. Nakiller 71'i canlıdan (22 anne ,14 baba, 15 kardeş, 14 eş, 1 amca, 3 kuzen, 1 babaanne ve 1 hastanın çocuğundan) 20 kadavradan transplantasyon yapılmış. Alıcı ve vericilerde CMV IgG tamamında pozitif saptanmış. Ortalama kreatinin düzeyi olgularda 1.21 ± 0.38 mg/dl olarak tespit edilmiş.

Akut rejeksiyon olguların 14'ünde saptanırken (10 hasta grade IA, 4 hasta grade II veya III) gelişmeyen 77 hasta saptanmış. Total 26 hastada CMV enfeksiyonu meydana gelirken, 65 hastada CMV enfeksiyonu görülmemişti. Üriner enfeksiyon olguların 25'inde meydana gelmiş. Gecikmiş greft fonksiyonu 13 hastada gözlenmiş. Hastalardan 32'si (30 interlekin-2 reseptör blokeri ve 2 'si ATG) indüksiyon tedavisi alırken 59'u indüksiyon tedavisi almamıştı. Tablo 4.1'de hastaların genel özellikleri görülmektedir:

Tablo 4.1. Çalışmaya katılan hastaların genel özellikleri

Yaş (yıl)	38±10
Hasta cinsiyeti (K/E)	27 (%29.3)/64(%69.6)
Diyaliz (CAPD/HD/CAPD+HD/Preemptif n-%)	13/ 61 / 2 / 15 %14.1/%66.1/%2.2/%16.3
Donör Cinsiyeti (K/E)	38(%41.3)/53(%57.6)
Canlı/kadavra	71 (%78) / 20 (%22)
HLA-Antikor	12 (%13)
Akut rejeksiyon (+/-)	14 (%15)/77(%85)
CMV enf +/-	26 (%28)/65(%72)
İYE enf +/-	25(%27.5)/66(%72.5)
Gecikmiş Greft Fonksiyonu (+/-)	13(%14)/78(%86)
Azatiopürin +/-	37(%41)/54(%59)
MMF-MPA +/-	54(%59)/37(%41)
Takrolimus +/-	67 (%74)/24(%26)
Sirolimus-Everolimus +/-	5(%5.5)/86(%94.5)
Nakil sonrası süre (ay)	39±31
Donör yaşı (yıl)	46±14
MDRD –GFR(ml/dk)	68±19.6
Toplam mismatch sayısı	2.86±1.49

Toplam 12 hastada anti-HLA antikorı saptanırken 79 hasta saptanmadı. Hastalar anti-HLA antikor gelişen ve gelişmeyenler olarak iki gruba ayrıldıklarında istatistiksel karşılaştırma Tablo 4.2’de sunulmaktadır.

Tablo 4.2. HLA antikorlu olan ve olmayan grupların karşılaştırılması

	HLA-Ab (+) (n:12)	HLA Ab (-) (n:79)	P
Yaş	42±12	37±10	0.12
Cinsiyet (K/E)	6/6	21/58	0.17
Dişaliz Süresi (ay)	42±34	26±33	0.12
Nakil Sonrası Süre (ay)	49±37	37±30	0.23
Donör Yaşı (yıl)	46±17	46±13	0.96
GFR-MDRD	58±26	69±18	0.05
MİSMATCH sayısı	3.0±1.2	2.8±1.5	0.72
Canlı/kadavra	5/7	66/13	0.004
Akut Rejeksiyon	6 (%50)	8 (%7.8)	0.002
CMV enfeksiyonu	5 (%41)	21(%26)	0.31
Üriner Enfeksiyon	6 (%50)	19 (%24)	0.08
İndüksiyon	7 (%58)	25 (%32)	0.10
Gecikmiş Greft Fonksiyonu	4 (%33)	9 (%11.4)	0.06
Takrolimus	10 (%83)	57 (%72)	0.5
CsA	1 (%8.3)	16 (%20)	0.45
MMF/MPA	6 (%50)	48 (%61)	0.53
Everolimus/Sirolimus	1 (%8.3)	4 (%5.0)	0.51
Azathioprin	6 (%50)	31 (%39)	0.52

(Student T testi ile, $p \leq 0.05$)

Tablo 4.2’de görüldüğü gibi akut rejeksiyon, gecikmiş greft fonksiyonu, kadavra nakil uygulamaları HLA antikorları gelişimi için anlamlı risk faktörleri olarak dikkati çekmektedir.

Tablo 4.3. HLA Antikor Gelişimi İçin Bağımsız Risk Faktörleri

Değişkenler	P	Exp (B)	CI
Akut rejeksiyon	0.004	8,498	1.945-37.135
Canlı/Kadavra	0.008	0,147	0.036-0.603

(Lojistik regresyon analizi, $p \leq 0.05$)

Tablo 4.3.te görüldüğü gibi yapılan lojistik regresyon analizinde ise HLA antikorlarının gelişimi için bağımsız risk faktörü olarak kadavradan nakil ve geçirilen akut rejeksiyon dikkati çekmiştir

5.TARTIŞMA

Böbrek nakli sonrasında en önemli greft kaybı nedeni KAN gelişimidir. Bunun immünolojik ve immünolojik olmayan nedenleri vardır. İmmünolojik olmayan nedenlerin başında kullanılan kalsinörin inhibitörleri gelirken, immünolojik faktörlerin başında kronik antikor aracılı rejeksiyon neticesi gelişen KAN dikkati çekmektedir. Bu çalışmada ortalama 39 ± 31 ay izlem süresine sahip olan ve nakil öncesi HLA-antikorları bulunmayan ve halen fonksiyonel greft ile izlenen transplant alıcılarında de-novo HLA-antikor gelişim sıklığını %13 olarak saptanmıştır. Bu olgular antikor olmayan olgularla karşılaştırıldığında; akut rejeksiyon ve kadavradan böbrek nakli de-novo HLA antikor gelişimi için bağımsız risk faktörü olarak ortaya konmuştur.

Transplantasyon sonrası dönemde anti-HLA antikorların rolü önemli bir konudur. Vericide alıcıda olmayan DR, B, A antijenleri arttıkça alıcının greft böbreği reddetme olasılığı artmaktadır. Yapılan bir çalışmada böbrek nakli sonrasında 3. ay protokol biyopsilerde subklinik rejeksiyon %45 saptanırken 1. yılda bu oran %25 oranında dikkati çekmiş ve her iki durumun artan HLA mismatch ile korele olduğu ortaya konmuştur (20). Ek olarak ilk 3 ayda ortaya çıkmış olan ve tedavi edilmiş olan akut rejeksiyon varlığı da 3. ay protokol biyopside daha yüksek subklinik rejeksiyon ile ilişkili çıkmıştır. Yine Nankivel ve ark.(21) tarafından yapılan protokol biyopsi çalışmalarında 3. ayda borderline değişiklikleri ve subklinik rejeksiyonu olan olgular 1. yılda protokol biyopsi ile değerlendirildiğinde daha yüksek kronik hasar bulgularına sahip oldukları ortaya konmuştur

Bu araştırmalara ek olarak Rush ve ark.(22) tarafından yapılan bir çalışmada ilk 1-2-3-6-12. aylarda protokol biyopsi ile saptanan subklinik rejeksiyonların steroid ile tedavisi sonucunda 24. ayda tedavi edilen grupta tedavi edilmeyen gruba göre anlamlı olarak daha iyi greft fonksiyonu sağlandığı gözlenmiştir. Bu bulgular süregelen ve subklinik düzeyde immünolojik reaksiyonun uzun dönemde greft fonksiyonunu olumsuz etkilediğini ortaya koymaktadır.

Ancak çalışmalarda her ne kadar protokol biyopsiler ön plana çıkarken, işlemin invaziv ve bazen komplikasyonlara neden olması bir çok merkezi rutin protokol

biyopsi uygulamalarından uzaklaştırmaktadır. Serum kreatinin düzeyi maalesef renal transplant izleminde hasarın erken saptanmasında duyarlı bir yöntem değildir. Kronik hasar bulguları ciddi düzeye ulaştığında serum kreatinin düzeyi artmakta ve bu nedenle klinik takipte süregelen hasara yönelik yeterli bilgi verememektedir. Bu nedenle immünolojik hasarın ve duyarlaşmanın daha iyi bir belirleyici ile öngörülmesi son dönemde bir çok merkezde araştırılmakta ve anti-HLA antikorların nakil sonrasında monitorizasyonunun greft rejeksiyonu gelişimi ve uzun dönemde kronik immün hasarın ortaya konmasında iyi bir yöntem olacağı düşünülmektedir. Gupta ve ark.(23) yaptıkları çalışmada nakil öncesinde anti- HLA antikorlarının varlığının (negatif LCM) nakil sonrasında daha kötü greft fonksiyonu ile birlikte olduğunu göstermiştir. Özellikle donör spesifik antikorların nakil öncesinde negatif LCM olsa dahi daha kötü prognoza işaret edeceğini çalışmalarında göstermişlerdir.

Nakil öncesinde anti- HLA antikorlarının varlığı madem daha olumsuz sonuçlarla beraber, nakil öncesi anti-HLA antikor bulunmayan alıcılarda nakil sonrasında anti-HLA antikor gelişimi söz konusu olabilir mi? Yapılan araştırmalarda nakil sonrasında da anti- HLA antikorlarının gelişebildiği ortaya konulmuştur. Renal transplantasyon sonrasında donör spesifik veya non-donor spesifik antikor ortaya çıkışı oldukça değişkendir ve bu oran 1 yılı geçen böbrek nakli alıcılarında (1229 hasta) donör spesifik anti-HLA antikorları %5.5, non-donor spesifik anti-HLA antikorları %11.3 olarak gözlemlendiği bildirilmiştir. Worthington ve ark.(24) yaptıkları çalışmada 112 greft kaybı olan ve diyalize dönen hastada anti- HLA antikor sıklığını %50 bulurken, 123 stabil greft fonksiyonlu hastada bu oranı %1.6 oranında ortaya koymuştur. Piazza ve ark yaptıkları (25) bir çalışmada 120 hastada donör spesifik anti-HLA antikor sıklığını %24 olarak saptarken 1 izlemde anti- HLA antikor pozitif olguların %62'sinde akut rejeksiyon gözlemişler ve antikor negatif grupta ise bu oran %13 olmuştur. Zhang ve ark.(26) ise DSA ve NDSA sıklığını sırası ile %22 ve %38 olarak bulmuşlar, her iki antikor gelişimi ile yüksek humoral rejeksiyon ortaya koymuşlar. Crespo ve ark.(27) ise 83 akut rejeksiyon saptanan olguda özellikle steroid rezistan olgularda %37 oranında DSA saptarken steroid cevaplı olguların hiçbirinde DSA gözlememiş.

Çalışmalarda immunsupresyon uygulamaları ile anti-HLA antikor gelişimi arasında net bir ilişki ortaya konulamamıştır. Ancak takrolimus+MMF+steroid uygulamaları ile daha düşük subklinik rejeksiyon gözlemlendiği değişik çalışmalarda ortaya konmuştur (28,29,30) Muhtemeldir ki bu avantaj de-novo anti-HLA antikor gelişiminde de gözlenebilir. Ancak bizim çalışmamızda CsA, takrolimus, azathioprin ve MMF kullanımı ile HLA antikor gelişimi açısından herhangi bir farklılık ortaya konulamadı.

Kadavradan böbrek nakillerinde hem HLA doku uyumsuzluğu artmakta hem de iskemi reperfüzyon hasarı ve gecikmiş greft fonksiyonu nedeni ile immün duyarlaşma artmaktadır. Bizim çalışmamızda da kadavradan böbrek nakli de-novo anti-HLA antikor gelişimini artıran önemli bir risk olarak gözükmemektedir. Bu durum kadavradan böbrek nakillerinin uzun dönem sonuçlarının canlı nakillerden neden daha olumsuz olduğunu da ortaya koymaktadır.

Akut rejeksiyon de-novo anti- HLA antikor gelişiminde önemli bir risk faktörü olarak gözlenirken bu antikorların rejeksiyondan önce ortaya çıkması muhtemeldir. Uygulanan anti-rejeksiyon tedavisi sonrasında antikorların kaybolmaması uzun dönemde greft fonksiyonuna olumsuz yansımaktadır. Bu nedenle yapılan bir araştırmada rejeksiyon sonrasında rejeksiyonun yeterince etkin tedavi edilip edilmediğinin değerlendirmesinde anti-HLA antikor titrelerinin monitorizasyonunun önemli bilgiler verebileceği ileri sürülmektedir (31)

Son yıllarda de-novo anti-HLA antikor gelişimi ile ilişkili çalışmalar yapılmaktadır. Terasaki ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada (32) böbrek nakli hastalarında posttransplant dönemde %30 oranında anti-HLA ve/veya MICA Ab geliştiği ve antikor gelişimin 1-10 yıl sürede genelde sabit olduğu ve HLA Ab ve MICA Ab gelişiminin 4 yıllık izlemde daha kötü greft fonksiyonu ile birlikte olduğu ortaya konmuştur. Posttransplant DSA ve NDSA gelişiminin her ikisinde de daha kötü greft fonksiyonu ile birlikte olduğu yine aynı araştırmada ortaya konmuştur

Aynı çalışmada Luminex metodu ile HLA antikor saptama oranının en yüksek olduğu da ortaya konmuştur. Bizim çalışmamızda da Luminex metodu kullanılmış

olup HLA antikor varlığı %13 olarak saptanmıştır. Bu hastaların %50'sinde (6 hasta) akut rejeksiyon varken diğer 6 hastada akut rejeksiyon yoktu. 4 hastada ise serum kreatinin düzeyi tamamen normaldi. Anti- HLA antikor saptanan 12 olgunun 3'ü DSA idi. Ancak sayının az olması nedeniyle bu olguların detaylı istatistiksel analizi yapılmadı. Bu hastaların uzun dönem izlemleri mevcut HLA antikorlarının grefte nasıl bir etki yapacağını daha net ortaya koyacaktır.

Simon ve arkadaşları (33) 575 hastada ELISA yöntemiyle anti- HLA klas I ve klas II 'yi incelemişler. Sonuçları pozitif, borderline ve negatif olarak ayırmışlar. Klas I HLA antikorlar 506 (% 88) hastada negatif, 20 (%3.5) hastada borderline, 49 (%8.5) hastada pozitif saptanmış. Klas II HLA antikorlar 506 (% 88) hastada negatif, 11 (%1.9) hastada borderline 58 (%10.9) hastada pozitif saptamışlar. Klas I ve klas II 'nin negatif olduğu 462 (%80.3) hasta, klas I veya klas II 'nin pozitif olduğu 92 (%16) hasta saptanmış. Klas I veya klas II HLA antikorlarının greft kaybı riskini 3 kat arttırdığı görülmüş. Yine Lachmann ve arkadaşlarının (34) yaptığı bir anti-HLA antikor ve donör spesifik antikorların kronik renal rejeksiyon üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada 5,5 yıllık takipte anti- HLA antikorlarının greft yetmezliği riskini üç kattan fazla oranda olacak şekilde arttırdığı bildirilmiş. Bizim yaptığımız çalışmamızda da akut rejeksiyonla anti –HLA antikor gelişimi arasında anlamlı bir ilişki bulunması bu tezi destekler niteliktedir.

Francesca Carderelli ve arkadaşlarının (35) yaptığı anti- HLA ve donör spesifik antikorların renal transplantasyon sonrası uzun döneme etkilerinin incelendiği bir çalışmada; post transplantasyon en az 6 ay sonra 251 alıcıdan ELISA yöntemiyle anti-HLA antikorlar taranmış. Pozitif çıkan serumlar antikor spesifitesi için tekrar test edilmiş. Renal transplant alıcılarının 28'inde (%11.2) anti- HLA antikorları, bunların 12'si (% 43) HLA klas I, 9'u (%32) klas II , 7'si her ikisini, ve 11 hastada (%4.4') donör spesifik antikor tespit edilmiş. Anti- HLA antikoru olan 28 hastanın 11'inde DSA tespit edilmiş. Bu 11 hastanın 6'sı (%55) klas II, 3'Ü klas I (%27) , 2 hastada (%18) hem klas I hem de klas II saptanmış. Anti- HLA antikorlar büyük oranda pretransplant sensitizasyon, akut rejeksiyon, multivariate analizde yüksek serum

kreatinin ile ilgili bulunmuş.Bizim çalışmamızda DSA saptanan 3 hasta olduğu için istatistiksel analiz yapılmadı.

Fernandez Fresnedo grubunun (36) donör spesifik klas I HLA antikorları ile akut rejeksiyon ve greft surveyi üzerine etkilerini araştırdıkları bir çalışmada;71 hastada posttransplant anti- HLA antikor profili ELISA ile çıkarılmış. Pozitif çıkan hastalarda spesifikite farklı bir ELISA yöntemi ile taranmış. Sonuçlara göre hastalar önemli derecede artmış panel reaktif antikor olanları ve donör spesifik antikor bulunanları grup A olmayanları grup B olmak üzere iki gruba ayırmışlar. 71 hastanın 13'ünde posttransplant DSA gelişmiş. Akut rejeksiyon insidansı grup A'da anlamlı olarak fazla bulunmuş. (%77,%10). Ek olarak grup A da 7 hastada akut rejeksiyona bağlı olarak greft kaybı görülürken B grubunda akut rejeksiyon gelişen 9 hastanın 1'inde greft kaybı görülmüş.HLA klas spesifikitesine göre sonuçlar değerlendirildiğinde sadece klas I HLA antikoru olanlarda vasküler akut rejeksiyon gelişmiş. Klas II olupta gelişenlerde klas I antikorlar da mevcutmuş.

Hidalgo ve Campbell grubu (37) böbrek biyopsisi sırasında de novo donör spesifik antikorlarla mikrovasküler patoloji ve geç greft yetmezliği arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmalarında posttransplant 7. gün ile 3 yıl arasında biyopsi yapılmış 145 renal transplant alıcıda DSA bakmışlar. 32 de novo olmak üzere 54 hastada (%37) DSA saptanmış.De novo DSA'lar geç biyopsi yapılanlarda %34 oranında iken erken biyopsi yapılanlarda %4 oranında bulunmuş. Klas II genellikle ya yalnız başına ya da klas I 'le beraberken klas I'in tek başına olduğu nadiren görülmüş. Aynı zamanda mikrosirküler inflamasyon (glomerulit, kapillerit) veya glomeulopati ve C4d boyanması de novo DSA ile ilişkili bulunmuş.Bunun yanında skarlaşma derecesi,arteriyel fibrozis ve tubulointerstisyel inflamasyon de novo DSA varlığı ile korele bulunmamış de novo DSA azalmış greft surveyi ile ilişkili bulunmuş.

Xiaobei Li ve grubu (38) canlıdan nakil sonrası yeni gelişen anti- HLA antikorlarla greft fonksiyonu arasındaki ilişkiyi incelemek için yaptıkları çalışmada 87 hastayı değerlendirmeye almışlar.Transplantasyon öncesi ve 6 ay sonra tüm hastalarda panel reaktif antikor ve renal biyopsi yapılmış. Antikor ilişkin rejeksiyon, donör spesifikitesi ve de novo antikor gelişim zamanları retrospektif olarak incelenmiş.

pre/posttransplant değerlerde .47 hastada (%54) negatif/negatif (N/N)15 hasta (%17) pozitif/pozitif (P/P) 12 hastada (%14) pozitif/negatif (P/N) 13 hastada (%15) negatif/pozitif (N/P) oranında denovo antikor gözlenmiş. De novo antikor gelişen 13 hastanın 5'inde (%38) donör spesifik antikor tespit edilirken geri kalan 8 hastada (%62) non donör spesifik antikor bulunmuş. DSA pozitif hastaların %80'inin böbrek biyopsisi antikor aracılı rejeksiyon ile uyumlu bulunmuş. Olgularda 5 yıllık greft fonksiyonu N/P olanlarda %69, N/N olanlarda %96, P/N olanlarda %88, P/P olanlarda %93 olarak bulunmuş.

Bütün bu çalışmalar ışığında böbrek nakli sonrasında immünolojik monitorizasyonun HLA antikor gelişiminin takibi ile yapıp yapılamayacağı halen net olarak ortaya konulamamıştır. Her ne kadar HLA antikor gelişimi greft kaybı için bir risk olsa da bir kısım hasta antikor gelişimine rağmen yıllarca normal greft fonksiyonuna sahip olmaktadır. Bu nedenle antikorların tipi, titresi ve uygulanan tedaviler ile olan ilişkileri daha bir çok çalışma ile ortaya konulmalıdır. Halen HLA antikoru olan ve greft fonksiyonu normal olan hastalara ne yapılması konusunda net bir bilgi bulunmamaktadır.

6. ÖZET

(Renal Transplant Alıcılarında Donör Spesifik ve Non Donör Spesifik Antikorların Değerlendirilmesi)

Renal transplantasyon sonrasında greft kaybının en önemli nedeni kronik allogreft nefropatidir (KAN). KAN gelişiminde immünolojik ve immünolojik olmayan faktörler rol oynar. İmmünolojik faktörlerin başında de novo oluşan anti-HLA antikorları ve buna bağlı kronik immün hasar gelmektedir. Bu çalışmada renal transplantasyon sonrasında halen izlemde olan hastalarda de novo anti-HLA antikor gelişimi ve bunu etkileyen faktörleri ortaya çıkarmayı amaçladık.

Bu çalışmada Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesinde halen transplantasyon polikliniği takibinde olan ve 6-120 ay nakil sonrası süreye sahip hastalar çalışmaya alındı. Hastaların tümüne 3'lü immünsüpresyon uygulanmaktaydı. Çalışmadan; diyalize dönen hastalar, takipte kaybolan hastalar, çalışmaya katılmak istemeyen hastalar, transplantasyon öncesi anti-HLA antikorları olan hastalar, 120 aydan daha önce transplantasyon olanlar ve transplantasyon öncesi PRA durumu bililmeyen hastalar çalışma dışı bırakıldılar. Anti-HLA antikorları Luminex yöntem ile değerlendirildi.

Toplam 91 (64 E, 27 K) hasta analiz edildi. 71 canlıdan ve 20 kadavradan renal transplantasyon yapılan hastaların posttransplant takip süreleri 38 ± 31 ay idi. Ortalama mismatch sayısı 2.8 ± 1.4 olup ortalama kreatinin düzeyi 1.2 ± 0.4 mg/dl, tahmini glomeruler filtrasyon hızı 68 ± 19 ml/dk, biyopsi kanıtlı akut rejeksiyon %15.2 ve donör yaş ortalaması 45 ± 14 idi. Yapılan incelemede toplam 12 hastada anti-HLA antikor varlığı ortaya kondu (%13.1). Anti-HLA antikorları olan grupla olmayan grup değerlendirildiğinde sırasıyla ; tahmini GFR 58 ± 26 ile 69 ± 18 ml/dk ($p=0.05$), canlı/kadavra 5/7 ve 66/13, ($p=0.004$), akut rejeksiyon 6/12 (%50) ve 8/79 (%10.1), ($p=0.002$), anlamlı risk faktörleri olarak saptandı. Yapılan çok değişkenli analizde her iki faktörün de HLA antikor gelişimi için bağımsız risk faktörleri (kadavradan transplantasyon $p=0.008$, akut rejeksiyon $p=0.004$) olduğu ortaya kondu.

Renal transplantasyon sonrası anti-HLA antikorları stabil renal fonksiyona sahip hastalarda gözlenebilmekte ve kadavradan transplantasyon, akut rejeksiyon varlığı bu antikorların gözlenmesinde önemli risk faktörleridir.

Anahtar sözcükler:anti-HLA antikorları, renal transplantasyon, donör spesifik antikor.

7. SUMMARY

(The Evaluation of Donor Specific and Non Donor Specific Antibodies in Renal Transplant Recipients)

Chronic allograft nephropathy (CAN) is the major cause of graft failure after renal transplantation in long term. CAN can be developed due to immunologic and nonimmunologic mechanisms. Development of de novo anti- HLA antibodies might be the most important immunologic risk factor that causes chronic antibody mediated rejection. In this study, we aimed to investigate the incidence and risk factors of de-novo anti- HLA antibodies in our kidney allograft recipients. We recruited 161 kidney allograft recipients who were transplanted between 1999-2009. After exclusion, 91 (64 M/27F) patients having functional graft and negative HLA antibody before the transplantation were taken to the analysis. They were on triple immunosuppressive protocol. Anti- HLA antibodies were evaluated by Luminex method. Seventy-one of them had living donor and 20 of them had deceased donor. Duration of posttransplantation time was 38 ± 31 months. Mean mismatch number was 2.8 ± 1.4 , mean creatinine level was 1.2 ± 0.4 mg/dl. Estimated GFR was 68 ± 19 ml/min, biopsy proven acute rejection was 15.2 %. Anti- HLA antibody was observed in 12 patients (13.1%). When anti- HLA antibody positive group was compared with anti-HLA antibody negative group, estimated GFR; 58 ± 26 ml/min vs 69 ± 18 ml/min, ($p=0.05$), living donor/cadaveric donor; 5/7 vs 66/13 ($p=0.004$), acute rejection; 6/12 (%50) vs 8/79 (%10,1) ($p=0.002$) were significantly different in both groups. In multivariate analysis, deceased donor and acute rejection both were found to be independent risk factors for appearance of anti- HLA antibody. ($p=0.008$ and $p=0.004$, respectively). In conclusion, anti- HLA antibody can be seen after renal transplantation and acute rejection and deceased donor transplantation are the risk factors for development of anti-HLA antibody. More studies are needed to clarify the importance of these antibodies in long term.

Key words: anti-Anti- HLA antibodies, renal transplantation, donor specific antibody

8.KAYNAKLAR

- 1- Danovitch MG. Handbook of Kidney Transplantation 2003;17-110
- 2- Heering P, Degenhardt S, Grabense B, Tubuler dysdunction following kidney tranplantaiin.Nephron 1996;73:501-511
- 3- Terasaki PI, Cai J. Human leukocyte antigen antibodies and chronic rejection: from association to causation Transplantation 2008 Aug 15;86(3):377-83.
- 4- Lachmann N, Terasaki PI, Budde K, Liefeldt L, Kahl A, Reinke P, Pratschke J, Rudolph B, Schmidt D, Salama A, Schönemann C. Anti-human leukocyte antigen and donor-specific antibodies detected by luminex posttransplant serve as biomarkers for chronic rejection of renal allografts. Transplantation 2009 27;87(10):1505-13
- 5- Nankivell BJ, Borrows RJ, Fungs CL, O'Connell PJ, Allen RD, Chapman JR. The natural history of chronic allograft nephropathy. N Engl J Med 2003;349:2326-33.
- 6-. Wyburn, KR, Jose, MD, Wu, H, et al. The role of macrophages in allograft rejection. Transplantation 2005; 80:1641.
- 7- Schnitzler MA, Hollenbeak CS, Cohen DS, et al. The economic implications of HLA matching in cadaveric renal transplantation. N Engl J Med 1999; 341:1440-1446.
- 8- Pratt, JR, Basheer, SA, Sacks, SH. Local synthesis of complement component C3 regulates acute renal transplant rejection. Nat Med 2002; 8:582.
- 9- Karuppan S, Olhman S, Moller E. Occurrence of cytotoxic and noncomplement fixing antibodies in the crossmatch serum of patients with early acute rejection episodes. Transplantation 1992; 54:839-44.
- 10- Matzinger, P, Bevan, MJ. Hypothesis: Why do so many lymphocytes respond to major histocompatibility antigens. Cell Immunol 1977; 29:1.
- 11- Kreisel, D, Krupnick, AS, Gelman, AE, et al. Non-hematopoietic allograft cells directly activate CD8+ T hücre and trigger acute rejection: An alternative mechanism of allorekognizasyon. Nat Med 2002; 8:233.
- 12- Vella, J, Knoflach, A, Waaga, A, Sayegh, M. T cell mediated immune responses in chronic allograft rejection: Role of indirect allorecognition and costimulatory pathways. Graft 1998; 1:S11.

- 13-** The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney International* (1999) 55, 713–723; 10.1046/1523-1755.1999.00299.
- 14-** Hata Y, Cecka JM, Takemoto S, et al. Effects of changes in the criteria for nationally shared kidney transplants for HLA-matched patients. *Transplantation* 1998; 65:208-212.
- 15-** Leffell MS, Zachary AA. The national impact of the 1995 changes to the UNOS renal allocation system. *United Network for Organ Sharing. Clin Transplant* 1999; 13:287-295.
- 16 -** Morris PJ, Johnson RJ, Fuggle SV, et al. Analysis of factors that affect outcome of primary cadaveric renal transplantation in the UK. HLA Task Force of the Kidney Advisory Group of the United Kingdom Transplant Support Service Authority (UKTSSA). *Lancet* 1999; 354:1147-152.
- 17-** Liu, Z, Colovai, AI, Tugulea, S, et al. Indirect recognition of donor HLA-DR peptides in organ allograft rejection. *J Clin Invest* 1996; 98:1150.
- 18-** Sumitran-Karuppan S. The clinical importance of choosing the right assay for the detection of HLA-specific donor reactive antibodies. *Transplantation* 1999; 68:502-509.
- 19-** Taylor CJ, Smith SI, Morgan CH, et al. Selective omission of the donor crossmatch before renal transplantation: efficacy, safety and effects on cold storage time. *Transplantation* 2000; 69:719-723
- 20-** Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CL, O'Connell PJ, Allen RD, Chapman JR. The natural history of chronic allograft nephropathy 2001 *N Engl J Med.* 11;349(24):2326-33.
- 21-** Nankivell BJ, Fenton-Lee CA, Kuypers DR, Cheung E, Allen RD, O'Connell PJ, Chapman JR. Effect of histological damage on long-term kidney transplant outcome *JR Transplantation* 2001 27;71(4):515-23.
- 22 -** Rush D, Nickerson P, Gough J, McKenna R, Grimm P, Cheang M, Trpkov K, Solez K, Jeffery J. Beneficial effects of treatment of early subclinical rejection: a randomized study Department of Medicine, Health Sciences Centre and University of Manitoba, *J Am Soc Nephrol.* 1998 Nov;9(11):2129-34.

- 23-**Gupta A, Iveson V, Varagunam M, Bodger S, Sinnott P, Thuraisingham Pretransplant donor-specific antibodies in cytotoxic negative crossmatch kidney transplants: are they relevant? *Transplantation*; 2008 Apr 27;85(8):1200-4.
- 24-** Worthington JE, Martin S, Al-Husseini DM, Dyer PA, Johnson RW
Posttransplantation production of donor HLA-specific antibodies as a predictor of renal transplant outcome. *Transplantation*; 2003 Apr 15;75(7):1034-40.
- 25-**Piazza A, Poggi E, Borrelli L, Servetti S, Monaco PI, Buonomo O, Valeri M, Torlone N, Adorno D, Casciani CU. Impact of donor-specific antibodies on chronic rejection occurrence and graft loss in renal transplantation: posttransplant analysis using flow cytometric techniques. *Transplantation*; 2001 27;71(8):1106-12.
- 26** Zhang Q, Liang LW, Gjertson DW, Lassman C, Wilkinson AH, Kendrick E, Pham PT, Danovitch GM, Gritsch HA, Reed EF. Development of posttransplant antidonor HLA antibodies is associated with acute humoral rejection and early graft dysfunction. *Transplantation*; 2005 15;79(5):591-8.
- 27-**Crespo M, Pascual M, Tolkoff-Rubin N, Mauiyyedi S, Collins AB, Fitzpatrick D, Farrell ML, Williams WW, Delmonico FL, Cosimi AB, Colvin RB, Saidman SL. Acute humoral rejection in renal allograft recipients: I. Incidence, serology and clinical characteristics; *Transplantation* 2001; 71(5):652-8.
- 28-**Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CL, O'Connell PJ, Allen RD, Chapman JR Natural history, risk factors, and impact of subclinical rejection in kidney transplantation. *Transplantation*; 2004 27;78(2):242-9.
- 29-** Moreso F, Serón D, Carrera M, Gil-Vernet S, Cruzado JM, Hueso M, Fulladosa X, Ramos R, Ibernón M, Castela AM, Grinyó JM. Baseline immunosuppression is associated with histological findings in early protocol biopsy; *Transplantation*. 2004 15;78(7):1064-8.

- 30-** Rowshani AT, Scholten EM, Bemelman F, Eikmans M, Idu M, Roos-van Groningen MC, Surachno JS, Mallat MJ, Paul LC, de Fijter JW, Bajema IM, ten Berge I, Florquin S. No difference in degree of interstitial Sirius red-stained area in serial biopsies from area under concentration-over-time curves-guided cyclosporine versus tacrolimus-treated renal transplant recipients at one year. *J Am Soc Nephrol.* 2006; 17(1):305-12.
- 31-** Hooi Sian Eng, Greg Bennett, Peter Bardy, Patrick Coghlan, Graeme R. Russ P. Toby H. Coates Clinical significance of anti-HLA antibodies detected by Luminex: Enhancing the interpretation of CDC-BXM and important post-transplantation monitoring tools *Human Immunology* 2009;70: 595–599
- 32-** Terasaki PI, Ozawa M, Castro R. Four-year follow-up of a prospective trial of HLA and MICA antibodies on kidney graft survival. *Am J Transplant*; 2007 Feb;7(2):408-15.
- 33-** Simon P.M, Bouke, Stephan J.L, Blakker Anti-Human Leukocyte Antigen Antibodies and Development of Graft Failure After Renal Transplantation. *Transplantation* 2009 (88); 12: 432-440
- 34-** I. Lachmann N, Terasaki PI, Budde K, et al. Anti-human leukocyte antigen and donor specific antibodies detected by luminex posttransplant serve as biomarkers for chronic rejection of renal allografts. *Transplantation* 2009; 87: 1505.
- 35-** Francesca Cardarelli, Manuel Pascual, Nina Tolkoff-Rubin, Francis L. Delmonico, Waichi Wong, David A. Schoenfeld, Hui Zhang, A. Benedict Cosimi, Susan L. Saidman Prevalence and significance of anti-HLA and donor-specific antibodies long-term after renal transplantation. *Transplant International* 2005; 18: 532-540
- 36-** Gema Fernández-Fresnedo, Jose Manuel Pastor, Marcos López-Hoyos, Juan Carlos RuizI Juan Antonio Zubimendil, Julio Gonzalez-Cotorruelo, Emilio RodrigoI, Angel L. M. De Francisco and Manuel Arias. Relationship of donor-specific Class-I anti-HLA antibodies detected by ELISA after kidney transplantation on the development of acute rejection and graft survival. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 990–995
- 37-** L. G. Hidalgo, P. M. Campbella, B. Sisa, G. Einecke, M. Mengela, J. Changb, J. Sellaresd, J. Reevea and P. F. Halloranb, De Novo Donor-Specific Antibody at the

Time of Kidney Transplant Biopsy Associates with Microvascular Pathology and Late Graft Failure. American Journal of Transplantation 2009; 9: 2532–2554

38- Xiaobei Li, Hideki Ishida, Yutaka Yamaguchi and Kazunari Tanabe Poor graft outcome in recipients with de novo donör-specific anti-HLA antibodies after living related kidney transplantation Transplant International 2008 21; 1145-1152

(Bu çalışma Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Vakfı tarafından desteklenmiştir.)