

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**BÖBREK NAKLİ HASTALARINDA AKUT VE KRONİK
REJEKSİYON İLE HLA-G GENİ 3' UTR 14 BAZ ÇİFTLİK
POLİMORFİZMİNİN VE sHLA-G SEVİYESİNİN İLİŞKİSİ**

Şule DARBAŞ

DOKTORA TEZİ

2020-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**BÖBREK NAKLİ HASTALARINDA AKUT VE KRONİK
REJEKSİYON İLE HLA-G GENİ 3' UTR 14 BAZ ÇİFTLİK
POLİMORFİZMİNİN VE sHLA-G SEVİYESİNİN İLİŞKİSİ**

Şule DARBAŞ

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Fahri UÇAR

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2870 proje numarası ile desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

2020-ANTALYA

TEŞEKKÜR

Doktora eğitim-öğretim sürecinde eğitimime katkıda bulunan, bilgi ve deneyimlerini paylaşan, desteklerini ve emeklerini esirgemeyen saygıdeğer danışman hocam Sayın Prof. Dr. Fahri UÇAR'a

Yüksek lisans ve doktora eğitim-öğretim sürecinde bilimsel katkılarını, destek ve emeklerini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden her zaman yararlanma fırsatı bulduğum saygıdeğer hocam Sayın Prof. Dr. Sibel BERKER KARAÜZÜM'e

Tez çalışma kapsamındaki hastaların etiyolojilerine ulaşılmasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Hüseyin KOÇAK'a,

Akdeniz Üniversitesi Organ Nakli Merkezi müdürü sayın Prof. Dr. Bülent AYDINLI ve organ nakli ekibine,

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürüne, sekreterine ve tüm çalışanlarına,

Uyumlu bir çalışma ve dayanışma içinde bulunduğum bana desteklerini esirgemeyen Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Doku Tipleme Laboratuvarı çalışma arkadaşlarıma,

Dostluğuyla ve bilimsel desteğiyle her zaman yanımda olan sevgili arkadaşım Gökçe ERDOĞAN'a

Her zaman desteğini yanımda hissettiğim sevgili ablam Betül BAYSAL'a

Her koşulda yanımda olduğunu ruhen hissettiğim sevgili biricik babam Arif DARBAŞ'a, sevgisini, desteğini ve sabrını esirgemeyen sevgili biricik annem Emine DARBAŞ'a, biricik ablam Ş.Mehtap BOYLUBAY'a, tezimin istatistik aşamasında yardımını esirgemeyen Özaydın BOYBUBAY'a ve tüm aileme en derinden sevgilerimi ve saygılarımı sunarım.

ÖZET

Amaç: Alıcı immün sisteminin grefte verdiği immünolojik yanıtı olan rejeksiyon, böbrek naklinin en önemli sorunudur. Bu çalışmada, AÜHONM’de böbrek nakli olan ve akut veya kronik rejeksiyon tanısı alan hastalarda sHLA-G seviyesinin saptanması, alıcı ve vericide *HLA-G* 3'UTR 14bç polimorfizminin belirlenmesi, sHLA-G ve 3'UTR 14bç polimorfizmi ile rejeksiyon arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Hasta ve vericisinin periferik kan örneğinden gDNA izolasyonu, PZR, agaroz jel elektroforezi ve DNA dizileme yöntemi kullanılarak *HLA-G* 3'UTR 14bç polimorfizmi saptandı. Serum örneklerinden ELISA yöntemi ile sHLA-G seviyesi saptandı. Verilerin analizi için ‘SPSS for Windows 18’ programı ve Epi İno programı versiyon 7 Statcalc kullanıldı. Olgu ve kontrol gruplarının karşılaştırılmasında, sürekli değişkenler için student’s t-testi, kategorik değişkenler için ki-kare kullanıldı.

Bulgular: Çalışmaya alınan olgu grubunda akut rejeksiyon tanısı alanlar %41,6 iken, bunların %76,9’u akut antikor aracılı rejeksiyon, %23,1’i T hücre aracılı rejeksiyondur. Kronik rejeksiyon tanısı alanlar %58,4 iken, bunların %94,5’i kronik aktif humoral rejeksiyon, %5,5’i kronik T hücre aracılı rejeksiyondur. Lojistik regresyon analizinde böbrek nakli hastalarında akut rejeksiyon olma olasılığının, hastanın nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki bir U/ml’lik düşmede 1,06 kat, hasta ile verici arasında akrabalık olmaması durumunda 5,44 kat arttığı saptanmıştır. Kronik rejeksiyon olmasını etkileyebilecek faktörleri belirlemek amacıyla kullanılan regresyon analizinde ise, böbrek nakli hastalarında rejeksiyon olma olasılığının, hastanın nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki bir U/ml’lik düşmede 1,14 kat arttığı saptanmıştır.

Sonuç: Hastaların nakil öncesi *HLA-G* 3'UTR 14bç polimorfizminin ve buna bağlı sHLA-G seviyesinin belirlenmesinin rejeksiyon olasılığının öngörülmesini, ayrıca bu polimorfizmi ve sHLA-G seviyesinin izlenmesi, rejeksiyon riski daha yüksek hasta popülasyonunun belirlenmesine yardımcı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: *HLA-G* 3' UTR 14 bç polimorfizm, sHLA-G seviyesi, böbrek nakli, akut ve kronik rejeksiyon

ABSTRACT

Objective: The most important problem of kidney transplantation is rejection. In this study, determination of sHLA-G level in patients with AUHOTM diagnosed with acute or chronic rejection, determination of *HLA-G* 3'UTR 14bp polymorphism in the recipient and donor, sHLA-G and polymorphism is aimed to evaluate the relationship between rejection.

Method: *HLA-G* 3'UTR 14b polymorphism was detected using genomic DNA isolation, PCR, agarose gel electrophoresis, DNA sequencing method from peripheral blood samples of kidney transplant patients and donors. 'SPSS for Windows 18' program and Epi Info package version 7 Statcalc were used for data analysis. Student's t-test was used for continuous variables and chi-square was used for categorical variables in comparison of case and control groups.

Results: In the case group included in the study, those diagnosed with acute rejection were 41.6%, 76.9% of them were acute antibody-mediated rejection and 23.1% were T-cell-mediated rejection. While those diagnosed with chronic rejection are 58.4%, 94.5% of them are chronic active humoral rejection and 5.5% of them are chronic T cell mediated rejection. In regression analysis, it was determined that the probability of acute rejection in kidney transplant patients increased 1.06 times in a U / ml decrease in sHLA-G level after the transplant compared to the patient before the transplant and 5.44 times in the absence of kinship between the patient and donor. In chronic rejection, the probability of rejection in kidney transplant patients was increased by 1.14 times in a U / ml decrease in sHLA-G level after transplant compared to the patient's pre-transplant.

Conclusion: Determination of *HLA-G* 3'UTR 14bp polymorphism and related sHLA-G level before the transplantation provides for the possibility of rejection. Furthermore, monitoring this polymorphism and sHLA-G level will help identify the patient population with a higher risk of rejection.

Key words: *HLA-G* 3 'UTR 14 bp polymorphism, sHLA-G level, kidney transplant, acute and chronic rejection

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLolar DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
SİMGELER ve KISALTMALAR	xvii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Böbrek ve Böbrek Yapısı	3
2.2. Kronik Böbrek Hastalığı	4
2.2.1. Kronik Böbrek Hastalığının Biyokimyasal Belirteçleri	5
2.2.2. Epidemiyoloji Ve Etyoloji	7
2.2.3. Hemadiyaliz ve Periton Diyalizi	9
2.3. Böbrek Nakli	9
2.3.1. Böbrek Nakli Tarihçesi	9
2.4. Böbrek Naklinde Akut ve Kronik Rejeksiyon	10
2.4.1. Böbrek Naklinde Rejeksiyon	10
2.5. Böbrek Naklinde Akut ve Kronik Rejeksiyon Risk Faktörleri	17
2.5.1. Böbrek Naklinde Alıcı ve Verici Yaşı	18
2.5.2. Böbrek Naklinde Donör Tipi	18
2.5.3. Böbrek Naklinde Etnik Köken ve Irk	18

2.5.4. Böbrek Naklinde ABO Kan Grubu Uyumu	19
2.5.5. Böbrek Naklinde HLA Doku Uyumu ve Önemi	19
2.6. HLA Tipleme Yöntemleri	26
2.6.1. Moleküler Yöntemler	26
2.6.2. Serolojik Yöntemler	27
2.7. Nakil Sonrası Değerlendirme ve Böbrek Fonksiyon Bozukluğu	32
2.7.1. Optimal (Çok İyi) Böbrek Fonksiyonu	32
2.7.2. Yavaşlamış Greft Fonksiyonu	32
2.7.3. Gecikmiş Greft Fonksiyonu (GGF)	33
2.8. Soğuk İskemi Zamanı	33
2.9. Tekrarlayan Böbrek Nakil Öyküsü	34
2.10. Tekrarlayan Akut Rejeksiyon Atakları	34
2.11. Böbrek Nakli Sonrası İmmünsüpresyon Tedavisi	34
2.12. HLA-G Nedir ?	37
2.12.1. HLA-G Geni	38
2.12.2. HLA-G Ekspresyonu ve Fonksiyonu	41
2.12.3. HLA-G'nin Böbrek Nakliyle İlişkisi	43
2.12.4. HLA-G Polimorfizmi ve Böbrek Nakliyle İlişkisi	48
3. GEREÇ ve YÖNTEM	56
3.1. Araştırmanın Tipi, Evreni ve Örneklemi	56
3.2. Araştırmada Kullanılan Bağımlı ve Bağımsız Değişkenler	56

3.3. Verilerin Toplanması	56
3.4. Moleküler Teknikler	57
3.4.1. Periferel Kandan Genomik DNA Eldesi	57
3.4.2. DNA Örneklerinin Spektrofotometrik Ölçümü	57
3.4.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)	57
3.4.4. AgaroZ Jel Elektroforezi	59
3.4.5. Amplikonların Temizlenmesi	60
3.4.6. DNA Dizi Analizi	60
3.4.7. Dizi Analizi Yapılacak Amplikonların Temizlenmesi	61
3.4.8. DNA Dizi Analizi Cihazına Yüklenmesi	61
3.5. Serolojik Yöntemler	62
3.5.1. Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) Yöntemi	62
4. BULGULAR	65
5. TARTIŞMA	133
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	143
KAYNAKLAR	145
ÖZGEÇMİŞ	172

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1.	Kronik böbrek hastalığında GFH sınıflandırması	5
Tablo 2.2.	Kronik Böbrek Hastalığının Evreleri	6
Tablo 2.3.	Kronik Böbrek Hastalığında Albüminüri Sınıflandırması	7
Tablo 2.4.	Kronik Böbrek Hastalığının Etyolojileri	8
Tablo 2.5.	Rejeksiyon Açısından Düşük ve Yüksek İmmünolojik Risk Grubu	18
Tablo 3.1.	Kullanılan İleri ve Geri Primer Dizileri	58
Tablo 3.2.	PZR Kimyasal Protokolü	58
Tablo 3.3.	DNA Dizileme Kimyasal Protokolü	61
Tablo 3.4.	DNA Dizileme Cihaz Protokolü	61
Tablo 3.5.	Standart Solüsyonların Hazırlanışı	62
Tablo 3.6.	Standart Solüsyonların Dilüsyon Oranları	63
Tablo 4.1.	Çalışmaya Alınan Olgu Grubunun Tanı Durumu	65
Tablo 4.2.	Çalışmaya Alınan Böbrek Nakli Hastalarının Olgu ve Kontrol Gruplarına Göre Naklin Yapıldığı Yaş ve Cinsiyet Dağılımı	66
Tablo 4.3.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Öncesi Hipertansiyon Varlığı	67
Tablo 4.4.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Öncesi VUR Varlığı	67
Tablo 4.5.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Öncesi Tip 1 DM Varlığı	68

Tablo 4.6.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Öncesi Tip 2 DM Varlığı	68
Tablo 4.7.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Öncesi PKB Varlığı	68
Tablo 4.8.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Öncesi Diyaliz Varlığı	69
Tablo 4.9.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hasta ve Verici Arasında Akrabalık Durumu	69
Tablo 4.10.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hasta ve Verici Arasında Cinsiyet Uyumu Varlığı	70
Tablo 4.11.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hasta ve Verici Arasında HLA-A Aleli Uyumu Varlığı	70
Tablo 4.12.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hasta ve Verici Arasında HLA-B Aleli Uyumu Varlığı	71
Tablo 4.13.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hasta ve Verici Arasında HLA-DRB1 Aleli Uyumu Varlığı	71
Tablo 4.14.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hasta ve Verici Arasında HLA-DRB1*11 Aleli Varlığı	71
Tablo 4.15.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Öncesi HBsAb Aleli Varlığı	72
Tablo 4.16.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Sonrası Antitimosit Globulin Kullanma Durumu	72
Tablo 4.17.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Sonrası Basiliximab Kullanma Durumu	73

Tablo 4.18.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Sonrası Mikofenolat Mofetil Kullanma Durumu	73
Tablo 4.19.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Sonrası Siklosporin Kullanma Durumu	74
Tablo 4.20.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Sonrası Takrolimus Kullanma Durumu	74
Tablo 4.21.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Sonrası Sirolimus Kullanma Durumu	75
Tablo 4.22.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Sonrası Everolimus Kullanma Durumu	75
Tablo 4.23.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Verici Tipi	75
Tablo 4.24.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Vericide HBsAb Varlığı	76
Tablo 4.25.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Verici Organ Tipi	76
Tablo 4.26.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hasta ile Verici Arasında Kan Grubu Uyumu	77
Tablo 4.27.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hasta ile Verici Arasında Rh Uyumu	77
Tablo 4.28.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda HLA-G Polimorfizm Durumu	77
Tablo 4.29.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Vericilerde HLA-G Polimorfizm Durumu	78
Tablo 4.30.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Vericilerin Yaş Dağılımı	78

Tablo 4.31.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Nakil Sonrası sHLA-G Seviyesi	78
Tablo 4.32.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Nakil Öncesi sHLA-G Seviyesi	79
Tablo 4.33.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Nakil Öncesi Kreatinin Seviyesi	79
Tablo 4.34.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Meslek Dağılımı	79
Tablo 4.35.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Vericilerin Meslek Dağılımı	80
Tablo 4.36.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Eğitim Durumu	80
Tablo 4.37.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Vericilerin Eğitim Durumu	80
Tablo 4.38.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Medeni Durumu	81
Tablo 4.39.	Akut Rejeksiyon Ve Kontrol gruplarına göre vericilerin medeni durumu	81
Tablo 4.40.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Nakil Öncesi Transfüzyon Durumu	81
Tablo 4.41.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Kadın Hastaların Nakil Öncesi Gebelik Durumu	82
Tablo 4.42.	Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Nakil Öncesi ve Nakil Sonrası sHLA-G Seviyesi	83

Tablo 4.43.	HLA-G Polimorfizmine Göre Hastaların (Akut Rejeksiyon ve Kontrol Grubu) Nakil Sonrası sHLA-G Seviyesi	84
Tablo 4.44.	HLA-G Polimorfizmine Göre Hastaların (Akut Rejeksiyon ve Kontrol Grubu) Nakil Öncesi sHLA-G Seviyesi	84
Tablo 4.45.	HLA-G Polimorfizmine Göre Hastaların (Akut Rejeksiyon ve Kontrol Grubu) Nakil Öncesi ve Nakil Sonrası sHLA-G Seviyesi	85
Tablo 4.46.	Akut Rejeksiyon Olma veya Olmama Durumunu Etkileyebilecek Farklı Faktörleri Belirleyebilmek için Yapılan Lojistik Regresyon Analizinde Kullanılan Değişkenler ve Özellikleri	86
Tablo 4.47.	Böbrek Nakli Hastalarında Akut Rejeksiyon Varlığı ile İlişkili Değişkenler	87
Tablo 4.48.	Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Öncesi Hipertansiyon Varlığı	88
Tablo 4.49.	Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Öncesi VUR Varlığı	88
Tablo 4.50.	Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Öncesi Tip 1 DM Varlığı	88
Tablo 4.51.	Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Öncesi Tip 2 DM Varlığı	89
Tablo 4.52.	Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Öncesi PKB Varlığı	89
Tablo 4.53.	Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Öncesi Diyaliz Varlığı	90
Tablo 4.54.	Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hasta ile	

Verici Arasında Akrabalık Durumu	90
Tablo 4.55. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hasta ile Verici Arasında Cinsiyet Uyumu Varlığı	90
Tablo 4.56. Kronik rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hasta ile Verici Arasında HLA-A Aleli Uyumu Varlığı	91
Tablo 4.57. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hasta ile Verici Arasında HLA-B Aleli Uyumu Varlığı	91
Tablo 4.58. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hasta ile Verici Arasında HLA-DRB1 Aleli Uyumu Varlığı	92
Tablo 4.59. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda HLA-DRB1*11 Aleli Varlığı	92
Tablo 4.60. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Öncesi HBsAb Varlığı	92
Tablo 4.61. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Sonrası Antimosit Globulin Kullanma Durumu	93
Tablo 4.62. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Sonrası Basiliximab Kullanma Durumu	93
Tablo 4.63. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Sonrası Mikofenolat Mofetil Kullanma Durumu	94
Tablo 4.64. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Sonrası Siklosporin Kullanma Durumu	94
Tablo 4.65. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Sonrası Takrolimus Kullanma Durumu	94
Tablo 4.66. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda	

Nakil Sonrası Sirolimus Kullanma Durumu	95
Tablo 4.67. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Sonrası Everolimus Kullanma Durumu	95
Tablo 4.68. Kronik Rejeksiyon ve kontrol gruplarına göre verici tipi	96
Tablo 4.69. Kronik rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Vericide HBsAb Varlığı	96
Tablo 4.70. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Verici Organ Tipi	96
Tablo 4.71. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hasta ve Verici Arasında Kan Grubu Uyumu	97
Tablo 4.72. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hasta ve Verici Arasında Rh Uyumu	97
Tablo 4.73. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda HLA-G Polimorfizm Durumu	97
Tablo 4.74. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Vericilerde HLA-G Polimorfizm Durumu	98
Tablo 4.75. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Vericilerin Yaş Dağılımı	98
Tablo 4.76. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Nakil Sonrası sHLA-G Seviyesi	98
Tablo 4.77. Kronik Rejeksiyon Ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Nakil Öncesi sHLA-G Seviyesi	99
Tablo 4.78. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Nakil Öncesi Kreatinin Seviyesi	99

Tablo 4.79.	Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Meslek Dağılımı	99
Tablo 4.80.	Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Vericilerin Meslek Dağılımı	100
Tablo 4.81.	Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Eğitim Durumu	100
Tablo 4.82.	Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Vericilerin Eğitim Durumu	100
Tablo 4.83.	Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Medeni Durumu	101
Tablo 4.84.	Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Vericilerin Medeni Durumu	101
Tablo 4.85.	Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Nakil Öncesi Transfüzyon Durumu	101
Tablo 4.86.	Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Kadın Hastaların Nakil Öncesi Gebelik Durumu	102
Tablo 4.87.	Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Nakil Öncesi ve Nakil Sonrası sHLA-G Seviyesi	103
Tablo 4.88.	HLA-G Polimorfizmine Göre Hastaların (Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Grubu) Nakil Sonrası sHLA-G Seviyesi	104
Tablo 4.89.	HLA-G Polimorfizmine Göre Hastaların (Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Grubu) Nakil Öncesi sHLA-G Seviyesi	104
Tablo 4.90.	HLA-G Polimorfizmine Göre Kronik Rejeksiyon Hastalarının Nakil Öncesi ve Nakil Sonrası sHLA-G Seviyesi	105

Tablo 4.91.	Kronik Rejeksiyon Olma veya Olmama Durumunu Etkileyebilecek Farklı Faktörleri Belirleyebilmek için Yapılan Lojistik Regresyon Analizinde Kullanılan Değişkenler ve Özellikleri	107
Tablo 4.92.	Böbrek Nakli Hastalarında Kronik Rejeksiyon Varlığı ile İlişkili Değişkenler	107
Tablo 4.93.	Akut ve Kronik Rejeksiyon Hasta ve Kontrol Grupları ile Vericilerinin HLA-G Polimorfizm Agaroz Jel ve DNA Dizi Analiz Görüntüleri	108

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Sol Böbrek Anatomisi	3
Şekil 2.2.	Hücre aracılı immün yanıt mekanizması	13
Şekil 2.3.	Antikor aracılı imün yanıt mekanizması	14
Şekil 2.4.	HLA yapısı	22
Şekil 2.5.	HLA sınıf I yapısı	23
Şekil 2.6.	HLA sınıf II yapısı	25
Şekil 2.7.	HLA-G üç boyutlu yapısı	38
Şekil 2.8.	HLA-G genomik yapısı	40
Şekil 2.9.	HLA-G membran bağlı ve çözülebilir formları	40
Şekil 2.10.	HLA-G protein izoformları	41
Şekil 2.11.	HLA-G 3'UT bölgesinde yer alan 14 bç	50
Şekil 3.1.	Sandwich ELISA sHLA-G	63
Şekil 4.1.	Akut rejeksiyon ve kontrol gruplarına göre hastaların nakil öncesi ve nakil sonrası sHLA-G seviyesinin (U/ml) grafikte gösterilmesi	83
Şekil 4.2.	Hastaların (Akut Rejeksiyon ve Kontrol Grubu) HLA-G polimorfizmine göre nakil öncesi ve nakil sonrası sHLA-G Seviyesinin (U/ml) grafikte gösterilmesi	86
Şekil 4.3.	Kronik rejeksiyon ve kontrol gruplarına göre hastaların nakil öncesi ve nakil sonrası sHLA-G seviyesinin (U/ml) grafikte gösterilmesi	103
Şekil 4.4.	Kronik rejeksiyon hastalarının HLA-G polimorfizmine göre	

nakil öncesi ve nakil sonrası sHLA-G seviyesinin (U/ml)
grafikte gösterilmesi

106



SİMGELER ve KISALTMALAR

14bç ins/ins : 14 bç insersiyon–insersiyon /+14 bç homozigot genotipi

14bç ins/del : 14 bç insersiyon–delesyon /+14 bç heterezigot genotipi

14bç del/del : 14 bç delesyon – delesyon /-14 bç homozigot genotipi

A : Adenin

AMR : Akut antikor aracılı rejeksiyon (Antibody Mediated Rejection)

AR : Akut rejeksiyon

ASH : Antijen sunan hücre

ATG : Anti-Timosit Globulin

ATN : Akut tübüler nekroz

ATP : Adenozin trifosfat

bç : Baz çifti

C : Kompleman

C : Sitozin

C4d : Kompleman faktör C4

CD8+Tc : CD8+ sitotoksik T hücre

CD4+Th : CD4+ yardımcı T hücre

CDCXM : Kompleman bağımlı sitotoksik lenfosit çapraz karşılaştırma

CMV : Sitomegalovirüs

CsA : Siklosporin A

DC : Dentritik hücre

DM : Diyabet

DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü

DTT	: Dithiothreitol
ER	: Endoplazmik retikulum
FCXM	: Flow sitometrik cross match
FGF	: Fibroblast growth factor
G	: Guanin
GFH	: Glomerüler filtrasyon hızı
GGF	: Gecikmiş greft fonksiyonu
GVHD	: Greft versus host hastalığı
HCV	: Hepatit C virüs
HLA	: Human leukocyte antigen
IFN- α	: İnterferon-alfa
IFN- γ	: İnterferon-gama
IL	: İnterlökin
ILT	: Lökosit Ig- benzeri reseptör
Kb	: Kilobaz
KBH	: Kronik Böbrek Hastalığı
kDa	: Kilodalton
KDIGO	: Kidney Disease Improving Global Outcomes
KIR	: Killer immünglobülin like reseptör
KR	: Kronik rejeksiyon
MHC	: Major histocompatibility complex
MMF/MFA	: Mikofenolat Mofetil/Mikofenolik Asit
mi RNA	: MikroRNA

mTOR	: Mammalian target of rapamycin
mHLA-G	: Membran HLA-G
mRNA	: Messenger RNA
NK	: Natural killer (Doğal öldürücü)
PRA	: Panel Reaktif Antikor
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
RAPA	: Rapamisin
sHLA-G	: Çözünür=Solubl HLA-G
SA	: Single Antigen
SA-PE	: Streptavidin-Fitoeritrin
SNP	: Single nucleotide polymorphism
SDBY	: Son dönem böbrek yetmezliği
SSO	: Sequence Specific Oligonucleotides
SSP	: Sequence Specific Priming
T	: Timin
TAP 1 ve 2	: Transporter Associated with Antigen Processing 1 ve 2
TCMR	: Akut hücresel rejeksiyon (Acute T cell-mediated (cellular) rejection)
TDİS	: T.C. Sağlık Bakanlığı Transplantasyon, Diyaliz ve İzlem Sistemleri
TND	: Türk Nefroloji Derneği
TNF	: Tümör nekroz faktörü
TODBS	: T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Organ ve Doku Bilgi Sistemi
UKAME	: T.C. Sağlık Bakanlığı bünyesindeki Ulusal Koordinasyon Ağı
UTR	: Untranslated region

1. GİRİŞ

Böbrek nakli (transplantasyon), günümüzde son dönem böbrek yetmezliği hastalarının yaşam süresini ve kalitesini arttırması bakımından başlıca tedavi seçeneklerinden biridir. Ancak, herhangi bir organ naklinde alıcı immün sistemi tarafından grefte (transplante edilen organ) verilen immünolojik yanıt olan rejeksiyon (organı reddi), organ nakillerinin halen en önemli sorunu olmaya devam etmektedir (Meier-Kriesche HU ve Kaplan B. 2002). Nakledilen böbreğin alıcıda uzun süre işlev görmesini sağlamak ve organ reddini engellemek amacıyla doku tiplmesi ve nakil sonrası sürekli olarak bağışıklık sisteminin baskılanması gerekmektedir (Anastasopoulos NA ve ark., 2015). Güçlü immüsupresiflerin kullanılmasına rağmen akut rejeksiyon (AR) tüm greft kayıplarının %12'sini oluşturur (Merhi B ve ark., 2015). Kronik rejeksiyon (KR) ise böbrek nakli başarısızlığının en yaygın nedenidir (Günay ES ve Töz H. 2008).

İnsanda human leukocyte antigen (HLA) adını alan, majör doku uygunluk kompleksi (MHC=Major histocompatibility complex) transplantasyonda dokunun kabulünde veya reddedilmesinde etki eden en önemli faktörlerden birisidir (Cheigh J S ve ark., 1977). HLA sınıf I molekülleri (HLA sınıf I antijenleri) hücre yüzeyinde veya çözünür (solubl) halde dolaşımda bulunan glikoprotein yapıli moleküllerdir (Pamer E ve Cresswell P. 1998) HLA-G molekülü, HLA sınıf I molekül grubu içinde yer alan fakat polimorfik bölgelerinin azlığı ve farklı etkileri ile sınıf I grubunun diğer elemanlarından ayrılan klasik olmayan MHC sınıf I antijenidir (Ishitani A, Geraghty DE. 1992, Paul P ve ark. 2000). HLA-G molekülünün immün hücrelerinin regülasyonunda potansiyel immüsupresif etkisi vardır (Le Gal FA ve ark., 1999, Bainbridge DR ve ark. 2000).

78 *HLA-G* alleli, 19 *HLA-G* proteini ve 3 null allel tanımlanmıştır. (IMGT/HLA release 3.35.0, January 2019) (Durmanova ve ark., 2019) *HLA-G* geninin promotörü ve aynı zamanda 3'untranslated bölgesi (UTR) oldukça polimorfik olup (Hviid TV ve ark. 2003) genin transkripsiyonel regülasyonunu etkilediği gösterilmiştir (Hviid TV, Christiansen OB. 2005).

Allotransplantasyonda HLA-G varlığının olumlu bir rolü olduğuna dair ilk kanıt Lila ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır (Lila N ve ark., 2000). Birçok çalışma allojenik doku/organ nakillerinde akut ve/veya kronik rejeksiyon ataklarında, hastaların serum/plazmasındaki sHLA-G izoform seviyelerini düşük olarak tespit etmiştir (Qiu J ve ark., 2006, Le Rond S ve ark., 2006, Poláková K ve ark., 2015). Yapılan bu araştırmalar HLA-G molekülünün dokunun kabulü ve immün toleransla ilişkili olabileceğini göstermiştir. Ancak sHLA-G ve böbrek allogref kabulü arasındaki ilişki ile ilgili veriler sınırlıdır.

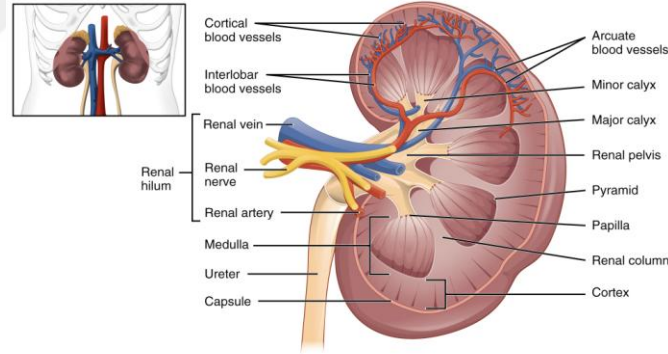
HLA-G geninin 3'UTR'deki 14 baz çifti (bç) dizisi AUUUG pentamer elemente sahip olması ve mikroRNA (miRNA) için potansiyel bir hedef olması nedeniyle bu bölgedeki polimorfizm *HLA-G* ekspresyonunun regülasyonu ile ilişkilendirilmiştir. Yapılan çalışmalarda *HLA-G*'nin 3'UTR 14bç ins/ins (insersiyon–insersiyon) ve ins/del (insersiyon–delesyon) genotipleri düşük *HLA-G* ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir (Hiby SE ve ark., 1999, Hviid TV ve ark., 2003, O'Brien M ve ark., 2001, Rousseau P ve ark., 2003). AR gösteren böbrek transplant hastalarında +14bç ins/ins (+14 bç homozigot genotip) genotipinin sağlıklı kontrollere göre daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Organ nakli yapılan hastalarda 14bç del/del (delesyon–delesyon) genotipinin artmış frekansı ve sHLA-G üretiminin artması daha iyi greft kabulüyle ilişkili iken 14bç ins/del genotipi daha yüksek rejeksiyon olgusuyla ilişkili bulunmuştur (Torres MI ve ark., 2009). Buna karşılık, Janssens M. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada AR'de vericinin *HLA-G* 14-bç ins/ins genotipinin rejeksiyon açısından koruyucu oldukları belirtilmiştir.

Yapılan literatür araştırmalarında *HLA-G* molekülünün ekspresyonu ile ilgili genetik polimorfizmin organ nakli ile ilgili bazı çalışmalarda azalmış, bazı çalışmalarda artmış immünolojik yanıtlara neden olabildiği gösterilmiştir. Bu çalışmalarda çelişkili sonuçların olması ve ülkemizde de böyle bir çalışmanın yapılmadığını belirlememiz nedeniyle çalışmayı tasarladık. Ayrıca bu araştırmada, böbrek nakli hastalarında rejeksiyonun riskinin azaltılması için birçok parametrenin incelenerek, yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi ve *HLA-G*'nin rejeksiyon riski için tanı kriteri olarak kullanılıp kullanılamayacağının belirlenmesi amacıyla bu çalışma planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Böbrek ve Böbrek Yapısı

Böbrekler boşaltım sisteminin bir parçası olup kanı filtre eden bir sistem olarak çalışmaktadır. Yabancı maddelerin ve metabolik artıkların vucüttan atılması, su-elektrolit, asit-baz dengesinin düzenlenmesi, arteriyel kan basıncının düzenlenmesi, hormonların salgılanması, eritrosit yapımının uyarılması gibi görevleri gerçekleştirirler. (Deniz MN 2019, Altınören O ve ark., 2107). Böbrekler karın arka duvarında psoas kasının dış yanında oblik pozisyonda retroperitoneal bölgede bulunan her biri yaklaşık 120-150 g ağırlığında olan organlardır. Böbrek uzun eksenini boyunca kesildiğinde makroskopik olarak en dışta korteks, ortada medulla ve içte kaliksler ile pelvis görülmektedir. Korteks ve medulla sinirler, damarlar, lenfler ve nefronlardan oluşmaktadır. (Deniz MN. 2019) Şekil 2.1.'de sol böbreğin anatomik yapısı görülmektedir. (Gross Anatomy of the Kidney - Anatomy and Physiology)



Şekil 2.1.Sol Böbrek Anatomisi (Gross Anatomy of the Kidney - Anatomy and Physiology)

Böbreklerin en küçük işlevsel birimi nefronlardır. Her iki böbrekte yaklaşık 2 000 000 nefron vardır. İnsanlarda gebeliğin 12 ile 36. haftalarında üretilen nefronlar bu dönemden sonra üretilmezler (Bertram JF ve ark., 2011). Her nefron tek başına idrar yapma yeteneğine sahiptir. Nefronlar glomerül ve kıvrımlı tübül olmak üzere iki kısımdan oluşur. Temel görevleri filtrasyon olan nefronlar böbrek korteksinde bulunan kortikal nefronlar ve medulla sınırında bulunan jukstaglomeruler nefronlar olarak iki gruba ayrılır. İdrarın konsantre edilmesinde jukstaglomerüler nefronlar görevlidir. Sıvı

elektrolit ve asit-baz dengesinin düzenlenmesi, metabolik atık ürünlerin atılımı, ilaç-toksin ve metabolitlerin detoksifikasyonu ve atılımı, ekstraselüler sıvı hacmi ve kan basıncı regülasyonu, hormon üretim ve metabolizması, peptid hormonların yıkımı, küçük molekül ağırlıklı peptidlerin yıkımı ve glukoneogenez gibi metabolik etkiler görevleri arasındadır. (Deniz MN. 2019)

Nefronlarda glomerüler filtrasyon hızı (GFH) yaşla birlikte azalırken, artan böbrek filtrasyon ihtiyacını karşılamak için boyutsal olarak büyürler. Nefronlar GFH'ni arttırarak filtrasyon yükündeki geçici artışları telafi edebilirler. Ancak obezite veya hamilelik gibi durumlarla artan vücut kütleindeki daha uzun ve kalıcı artışlar telafi edilemez ve nefron hipertrofisine neden olur. Özellikle obez hastalarda böbrek hasarına veya yaşlanmaya bağlı olarak nefonlar GFH'ni arttırarak nefron kaybının hızlanmasına neden olur. Nefron hipertrofisi dışında glomerüler filtrasyonun bozulması ve fibrozis gibi nedenler nefron kaybına neden olurlar (Romagnani P ve ark., 2017).

2.2. Kronik Böbrek Hastalığı

Kronik Böbrek Hastalığı (KBH) temel görevi vücudumuzdan metabolik atıkların ve fazla suyun atılmasını sağlayan böbreklerin çeşitli hastalıklara bağlı olarak yapı ve/veya fonksiyonlarının geri dönüşümsüz kaybı ile karakterize bir hastalıktır. (Akoğlu E ve Süleymanlar G. 1996 ve Romagnani P ve ark., 2017). Bu terim, böbrekte üç ay ve/veya daha uzun süreli yapısal veya fonksiyonel bozukluğun olması (GFH azalma olsun/olmasın), üç ay veya daha uzun süre ile GFH'nın 60 ml/dk/1.73 m²'nin altına düşmesi (böbrek hasarı olsun/olmasın) olarak tanımlanmıştır. (Levin A ve ark., 2013). “Kronik Böbrek Hastalığında Kan Basıncı Yönetimi için 2009 KDIGO Klinik Uygulama Kılavuzu” na göre böbrek boşaltım fonksiyonlarının temel belirleyicisi GFH'dır. Kronik böbrek hastalığında GFH sınıflandırmasında KDIGO kriterleri Tablo 2.1.'de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Kronik Böbrek Hastalığında GFH Sınıflandırması

GFH EVRESİ	GFH (ml/dk/1.73 m ²)	TANIM
G1	≥90	Normal veya yüksek
G2	60-89	Hafif azalmış
G3a	45-59	Hafif orta azalmış
G3b	30-44	Orta şiddetli azalmış
G4	15-29	Şiddetli azalmış
G5	<15	Son Dönem Böbrek Yetmezliği

Son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) kronik böbrek hastalığının en şiddetli evresidir. Genetik, immünolojik, metabolik, travmatik, gelişimsel veya infeksiyon hastalığı gibi birçok farklı nedene bağlı olarak gelişen kronik böbrek hastalığında GFH'nın dakikada 15 ml'den daha az olmasıyla böbrek işlev bozukluğu ilerleyici olur (Danovitch GM. 2003, Levin A ve ark., 2013). Böbrek fonksiyon kaybı kritik seviyeyi aşınca, böbrek yetmezliğinin klinik ve biyokimyasal bulguları ortaya çıkar (Levin A ve ark., 2013).

2.2.1. Kronik Böbrek Hastalığının Biyokimyasal Belirteçleri

KBH'nın belirlenmesinde kullanılan biyokimyasal parametrelerden, filtrasyon belirteçleri olarak üre, kreatinin ve sistain C gibi belirteçler yer alırken, böbrek hasar belirteçleri olarak albuminüri ve idrar tortu bozukluğu yer almaktadır.

Kreatinin

Karaciğerde yapılan, kaslarda ve kan dolaşımında bulunan 113 kilodalton (kDa) ağırlığında bir aminoasit türevidir. Kas metabolizmasının bir ürünü olarak ortaya çıkar. Kanda plazma proteinine bağlanmayan kreatinin böbrekte metabolize olmadığı için glomerül içinde serbestçe filtre edilir. Bu durum kreatinin glomerüler filtrasyon başarısını gösteren spesifik bir belirteç olmasını sağlar (Levin A ve ark., 2013). Kanda kreatinin klirensinin 10-15 ml/dk değerine inmesi veya kreatinin düzeyinin artması hastanın diyalize başlamasını gösteren bir işarettir (Kopyt N. 2007). Kreatinin klirensinin hesaplanması için 24 saatlik idrar toplanmasının zorluğu, bu testin duyarlılığını azaltmaktadır (Laterza O ve ark., 2002).

KDIGO kriterlerine göre GFH hesaplanmasında ve buna bağlı kronik böbrek hastalığının evresinin belirlenmesinde kreatinin değeri kullanılmaktadır (Tablo 2.2.) (Levin A ve ark., 2013).

Tablo 2.2. Kronik Böbrek Hastalığının Evreleri

EVRE	TANIMI	GFH (ml/dk/1.73 m ²)
1	Böbrek hasarı (normal veya artmış GFH)	≥90
2	Böbrek hasarı (hafif GFH azalması)	60-89
3	Orta seviyede böbrek yetmezliği	30-59
4	Böbrek yetmezliği (GFH’de şiddetli azalma)	15-29
5	SDBY	<15

Sistain C

Sistain C, 122 aminoasitli, 13kDa ağırlığında çekirdekli hücrelerde üretilen “Housekeeping gene” ürünüdür. GFH’nın belirteci olan sistain C nonglikolize polipeptidli bir sistein proteinaz inhibitörüdür. Molekül ağırlığının düşük olması ve ph’nın bazik olmasından dolayı glomerüllerden filtre edilir. Proksimal tübüllerden geri absorbe edilerek hepsi parçalanır (Laterza O ve ark., 2002, Randers E ve ark., 1997). Kreatinin/kreatinin klirensi böbrek fonksiyonları bozulunca bilgi veren bir parametredir. Sistain C ise böbrek fonksiyonları bozulmadan (GFH 40 ile 80 mL/dk arasında) bilgi veren bir parametre olması açısından kreatinin/kreatinin klirensi testine göre daha güvenilir bir testtir. Ayrıca sistain C vücut kas kitle oranından etkilenmez. Testin yapılabilmesi için hastanın serum örneği yeterlidir Bu nedenle KBH’da kreatinin ve sistain C’nin birlikte değerlendirilmesi GFH’nın belirlenmesinde daha doğru bir yaklaşımdır (Thomas L. 1998).

Albüminüri

Albümin 65 kDa ağırlığında karaciğerde sentezlenen suda çözünen bir plazma proteindir. Böbrek hasarının sonucu olarak idrar albüminin ölçümü, diyabetik veya diyabetik olmayan KBH hastalarının tarama/takibinde ve mortalitesinde kullanılan bağımsız risk parametresidir. KDIGO’ya göre KBH’yi sınıflandırmasında GFH dışında

kullanılan diğer parameter de albüminüridir (Tablo 2.3.) (Levin A ve ark., 2013). Sağlıklı bir böbrekte glomerulden filtrelenmiş albumin proksimal tübülde geri emilir. Glomerül seçiciliğinin kaybolmasıyla idrarda albuminin saptanması böbrek filtrasyon bariyerindeki hasarı gösterir. Bu nedenle KBH hastalarının tedavi protokollerinde albüminüriyi kontrol altında tutmak amaçlanmıştır (McMahon GM ve Waikar SS. 2013).

Tablo 2.3. Kronik Böbrek Hastalığında Albüminüri Sınıflandırması

Albümin Evresi	Albümin Ekskresyon Oranı (mg/gün)	Tanım
A1	<30	Normal
A2	30-300	Yüksek
A3	>300	Çok yüksek

2.2.2. Epidemiyoloji ve Etiyoloji

KBH birçok organ ve sistemi etkileyen görülme sıklığı hızla artan bir hastalıktır. Hastalığın erken evrelerinin bulgu vermemesi nedeniyle KBH' nin epidemiyolojisi ile ilgili veriler sınırlıdır. KBH'nın görülme sıklığı ülkelere göre farklılık göstermektedir (Hill NR ve ark., 2016). Yıllara göre değişkenlik göstermekle birlikte bu sıklık Amerika Birleşik Devleti (ABD)'nde % 6,7 (Levey AS, Coresh J. 2012), Avustralya'da % 5,8 (White SL ve ark., 2010), Kanada'da % 3,1 (Arora P ve ark., 2013), İngiltere'de % 5,2 (Fraser SD ve ark. 2015), İspanya'da % 4,0 (Bruck K ve ark., 2016), Almanya'da % 2,3 (Girndt M ve ark., 2016)'dür. Türkiye'de ise Türk Nefroloji Derneği (TND) tarafından yapılan; Kronik Böbrek Hastalığı (Chronic Renal Disease in Turkey; CREDIT) prevalans çalışmasına göre tüm evrelerde KBH oranı % 15,7 olarak saptanmıştır (Suleymanlar G ve ark., 2011).

2016 yılında yapılan meta analize göre KBH, 65 yaş üstü kadınlarda daha sık görülen bir hastalıktır. Ancak 65 yaş altı erkek KBH hastalarının SDBY ilerleme ihtimali daha yüksektir (Hill NR ve ark., 2016).

KBH hastalarının etyolojik dağılımına göre; KBH ile sonuçlanan hastalıkların başında diyabet (Tip1 ve Tip2 DM) ve hipertansiyon gelmektedir (Hill NR ve ark. 2016). Diğer risk faktörleri tablo 2.4.'de gösterilmiştir (Romagnani P ve ark., 2017).

Tablo 2.4. Kronik Böbrek Hastalığının Etyolojileri

Kronik Böbrek Hastalığı için Risk Faktörleri	
Monogenik Böbrek Hastalığı	Otozomal dominant polistik böbrek hastalığı Steroid dirençli nefrotik sendroma neden olan podositopatiler Fabry hastalığı Alport sendromu Atipik hemolitik-üremik sendrom
Böbrek Dokusuna Zarar Veren Toksinlere Uzun Süreli Maruz Kalma	Kanser tedavisi için kemoterapi Proton pompa inhibitörleri Steroid olmayan anti inflamatuvar ilaçlar (NSAID) Antimikrobiyal ajanlar Tarım kimyasalları Ağır metaller Işın tedavisi
Doğuştan Gelen Anormallikler	Böbrek ve idrar yolunun anomalileri Veziko-üreteral reflü
Enfeksiyonlar ve Kronik İnflamasyon	HIV Hepatit virüsü Sıtma Bakteriyel enfeksiyonlar Otoimmün hastalıklar
Doğumda Düşük Nefron Kaynağı	Düşük doğum ağırlığı Fetal düzensizlik
Ürolojik Hastalıklar	Reflü,taş, obstrük. vb.
Malignite	Multipl miyelom
Nedeni Bilinmeyen	-

KBH patogenezinde katkısı olan diğer nedenler arasında; sıvı-elektrolit bozuklukları, anemi, hiperkalsemi, yaşlanma, kardivasküler hastalıklar, endokrin bozuklukları yer almaktadır (Romagnani P ve ark., 2017). Bu faktörler KBH’de böbrek fonksiyonlarının daha fazla bozulmasına neden olur. SDBY olan bu hastalarda tedavi seçenekleri hemodiyaliz, periton diyalizi ya da böbrek naklidir (Pippas M ve ark., 2017).

2.2.3. Hemaodiyaliz ve Periton Diyalizi

Hemodiyaliz tedavide en yaygın diyaliz seçeneğidir (Pippias M ve ark. 2017). Hemodiyaliz ve hemodiyalize alternatif olan periton diyalizi sadece kan filtrasyon işlevini yaptığı için böbreğin tüm fonksiyonlarını yerine getiremezler. Diyaliz hastanın yaşamını devam ettirmesinde etkili bir tedavi şekli olmasına rağmen, böbreğin tüm işlevlerini yeniden kazandırmasıyla en başarılı ve en tercih edilen tedavi seçeneği böbrek naklidir (Pippias M ve ark., 2017, Shrestha A ve ark., 2010).

2.3. Böbrek Nakli

SDBY hastaları için etkili tedavi şekli olan böbrek nakli, hastanın yaşam kalitesini ve sağ kalım oranını arttırması ve uygun maliyeti açısından diğer tedavi seçeneklerine göre üstünlük sağlamaktadır (Shrestha A ve ark., 2010).

Canlı vericiden ve kadavradan olmak üzere böbrek nakli iki şekilde gerçekleşmektedir. Canlı vericiler genellikle akraba kaynaklıdır. Kadavra vericileri için ise; her ülkenin kendine göre puanlama sistemi vardır. Türkiye’de alıcı hasta T.C. Sağlık Bakanlığı bünyesindeki Ulusal Koordinasyon Ağı (UKAME) sistemi tarafından verilen merkez ve bu merkezde kayıtlı hastalar arasından puanlama sistemiyle seçilmektedir (Kocak, T ve ark., 2004, Altınanahtar, A. 2016).

Türkiye Sağlık Bakanlığı verilerine göre 2008-2018 yılları arasında T.C. Sağlık Bakanlığı Transplantasyon, Diyaliz ve İzlem Sistemleri (TDİS)’ne kayıtlı 19.199 böbrek nakli canlı vericiden ve 5.716 böbrek nakli kadaverik vericiden yapılmıştır.

2.3.1. Böbrek Nakli Tarihçesi

1902 yılında Emerich Ulmann tarafından köpekler üzerinde ilk deneysel böbrek nakli yapılmıştır. 1936 yılında Rus cerrah Varonay tarafından ilk insan allogreft böbrek nakli yapılmıştır. Ancak hasta 48 saat içerisinde kaybedilmiştir (Hume, D ve ark., 1955). 1944 yılında organ nakli sonrası meydana gelen reaksiyonların immünolojik temele dayandığı gösterilmiştir (Schwartz, B.D. 1987). 1953 yılında HLA’nın tanımlanmasıyla organ nakli immünogenetiğinde önemli bir adım atılmıştır (Billingham, R ve ark., 1953). 1954 yılında Murray, Harrison ve Merrill tarafından Boston’da ilk uzun dönem başarılı allograft böbrek nakli tek yumurta ikizleri arasında yapılmıştır. Hasta nakil sonrası 8 yıl

yaşamıştır. Bu başarısı ile Dr. Murray Nobel tıp ödülü almıştır. 1962 yılında ise kadaverik bir vericiden ilk başarılı allograft böbrek nakli yapılmıştır (Murray JE ve ark., 1976). 1980 yılında Benacerraf, Dausset ve Snell, organ nakli sonrası immün yanıtta rol oynayan MHC antijenlerinin keşfi ile immünogenetikteki başarılarından dolayı Nobel tıp ödülünü kazanmışlardır (Petrányi G. 1981).

Türkiye'de ilk böbrek nakli 3 Kasım 1975 tarihinde Prof. Dr Mehmet Haberal ve ekibi tarafından annesinden 12 yaşındaki oğluna böbrek nakli ile gerçekleştirilmiştir (Haberal, M. 1995). Organ nakli üzerine yapılan çalışmaların artmasıyla birlikte immünogenetik mekanizmalar ışığında yeni tedavi protokolleri eklenerek nakil başarısının artması hedeflenmiştir. Türkiye'de Sağlık Bakanlığı verilerine göre T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Organ ve Doku Bilgi Sistemi (TODBS)'ne kayıtlı 2016 yılında 2637 canlı ve 784 kadaverik olmak üzere toplam 3421 böbrek nakli, 2017 yılında 2649 canlı, 693 kadaverik toplam 3342 böbrek nakli ve 2018 yılında ise 3009 canlı, 858 kadaverik toplam 3867 böbrek nakli yapılmıştır (<http://organ.saglik.gov.tr> (07.01.2019).)

2.4. Böbrek Naklinde Akut ve Kronik Rejeksiyon

2.4.1. Böbrek Naklinde Rejeksiyon

Rejeksiyon, böbrek nakli sonrasında kendisine yabancı olan greft böbrek antijenlerini tanıyarak, greftin alıcının immün sistemi tarafından reddedilmesidir (Mosaad, Y.M. 2015). Organ naklinde başarısızlığın en büyük nedeni olan rejeksiyon, doğal ve kazanılmış immün sistem yanıtları ile hücresel ve salgısal (hümorale) mekanizmaların birlikte yer aldığı karmaşık bir mekanizma ile gerçekleşir (Gould D S ve Auchincloss Jr H. 1999).

Nakil sonrası immünolojik olarak alıcı-verici uyumsuzluğunda, MHC molekülleri nakledilen dokudaki antijenlerin tanınmasına ve yok edilmesi için T lenfositlere sunulmasına aracılık ederler. Dokuda sitotoksik T hücre (Tc) lenfositlerin etkisiyle hızlı bir parankimal ve endotelial yıkım başlar. Yardımcı T hücre (Th) lenfositlerin etkisiyle de damar geçirgenliği artışı ve mononükleer hücre göçü gözlenir. Başta makrofajlar olmak üzere tüm hücreler dokuda hızlı bir iskemi ve yıkımı başlatarak dokunun nekrozuna neden olurlar. Nakledilen dokudaki MHC'lere karşı üretilen alloantijenler ise

kompleman sisteminin de katkısıyla antikora bağı rejeksiyona neden olurlar. Ayrıca rejeksiyonda, doğal bağışıklık sürecinde dentritik hücrelerin (DC) nakledilen dokuda aktive olup alıcı lenf nodlarında kazanılmış bağışıklık sistemini aktive etmesi de önemlidir. Hastanın T hücreleri verici donör antijenlerini direkt ve indirekt olmak üzere iki yolla tanır. Direkt tanımda donör antijen sunan hücreleri (ASH) hastanın T hücrelerini aktive eder. Direkt tanıma nakilden sonraki erken aşamada akut rejeksiyona neden olur. İndirekt tanımda ise donör peptitleri işlenir, hastanın ASH üzerindeki kendi MHC'leri ile etkileşerek T hücreleri aktive edilir. İndirekt aktivasyon daha geç işleyen bir süreç olup özellikle kronik rejeksiyonda daha önemlidir (Lee R S ve ark., 1994; Suchin E J ve ark., 2001; Herrera OB ve ark., 2004; Sivaganesh S ve ark., 2013).

Hastanın T hücrelerine direkt ya da indirekt antijen sunumu sonrasında immün yanıtın devam edebilmesi için yeterli miktarda T hücrelerinin aktive olması gerekir. Bunu takiben aktif hale gelmiş olan hücreler donör greftine göç ederek greft hasarına yol açarlar (Benichou G ve ark., 1999).

Greft hasarları hücre aracılı greft hasarı ve antikor-aracılı hücrel sitotoksikite olmak üzere iki şekilde gerçekleşebilir. Hücre aracılı greft hasarında; aktif CD4+ yardımcı T hücreleri (CD4+ Th) interferon-gama (IFN- γ) salgılayarak greft endotelinde adhezyon moleküllerinin ekspresyonunu ve lökositlerin bu bölgeye göçünü artırır. IFN- γ greft hücrelerinde ve endotel hücrelerinde sınıf II HLA'ların hücrel ekspresyonunu artırarak T hücrelerin ASH tarafından aktivasyonunu başlatır. T hücreleri tarafından salınan IL-2 (İnterlökin)-2 ise B ve T hücreleri için güçlü bir büyüme faktörü olup greft rejeksiyonunda önemli rol oynar. Aynı zamanda makrofajları da aktive ederek greft hasarına yol açan sırasıyla IL-1, tümör nekroz faktörü (TNF) gibi sitokinleri ve serbest radikalleri salgılatır. (Lee R S ve ark., 1994; Benichou G ve ark., 1999; Suchin E J ve ark., 2001; Herrera OB ve ark., 2004; Sivaganesh S ve ark., 2013).

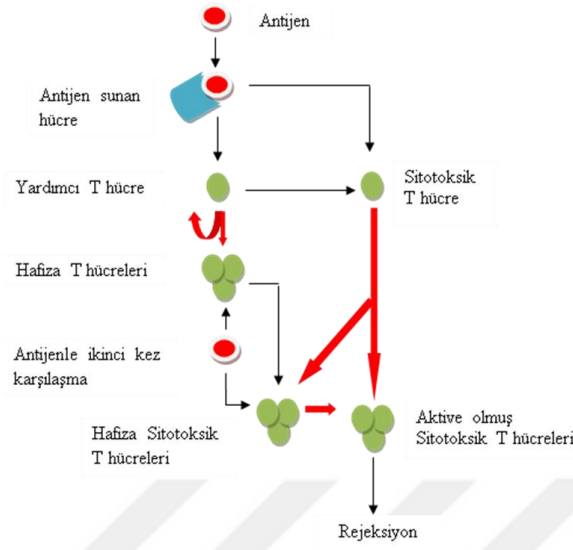
Alloantijeni tanıdıktan sonra aktif hale gelen CD8+ sitotoksik T (CD8+ Tc) hücreleri hücrelerin yüzeyinde porlar açan perforin salgırlar. Bunun yanında perforin açtığı porlardan hücreye girip hedef hücrenin lizisini başlatan granzimleri de salgılatır. Aynı zamanda sitotoksik hücreler Fas-Fas ligandı etkileşimini kullanarak apoptozla da hücre ölümüne neden olurlar (Kaeck SM ve ark., 2002).

Diğer bir greft hasarına yol açan mekanizma ise antikor-aracılı hücrel sitotoksitedir. Efektör hücre ile hedef dokular arasında köprü görevi gören antikorlar kompleman fiksasyonunu sağlayıp makrofajların ve nötrofillerin birikimiyle endotel hasarına neden olurlar. Bu çoğunlukla C4d (Kompleman faktör C4) boyamasıyla antikor aracılı rejeksiyon tanısının konulmasında kullanılır (Mehra, N. K ve ark., 2013; Valenzuela, N. M ve ark., 2014; Banasik, M ve ark., 2014).

Rejeksiyonlar farklı şekillerde sınıflandırılabilir. Kreatinin yüksekliği ile birlikte olan klinik rejeksiyonlar olduğu gibi, normal kreatinin düzeyi ile karakterize protokol biyopsilerde saptanan subklinik rejeksiyonlar da olabilir. Zamanlama olarak ise hiperakut (dakikalar), akut (günler haftalar), geç akut (3-6 aydan sonra) ve kronik (aylar, yıllar sonra) olarak ayrılabiliriz. Patofizyolojik mekanizmaya göre rejeksiyonlar, T hücre aracılı (hücrel, interstisyel) ve B hücre aracılı (antikor aracılı, humoral) olabilir (Nankivell B J ve Alexander S I. 2010).

Hücre Aracılı Rejeksiyon

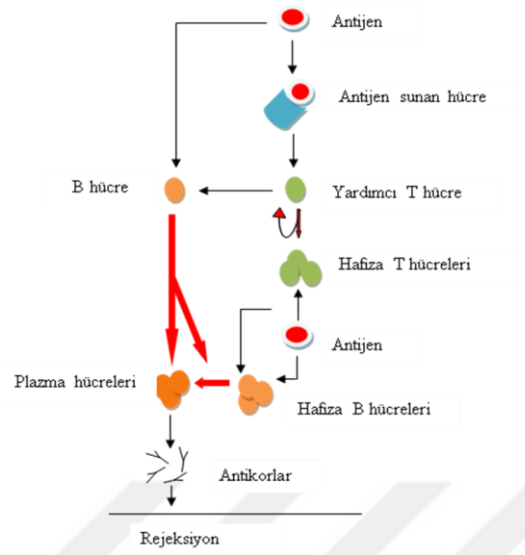
Hücre aracılı rejeksiyonda temel olarak T hücre sitotoksitesi rol oynar. CD8+ Tc lenfositler ve CD4+ Th lenfositler ile HLA sınıf I ve sınıf II antijenleri arasında bir etkileşim oluşur. Bunun sonucunda, nakledilen böbrekte geçirgenlik artar, monosit makrofaj infiltrasyonu gelişir. Akut hücre aracılı rejeksiyon için temel risk faktörleri alıcı ve verici arasındaki MHC antijen uygunluğu ile kişinin önceden gebelik, nakil öyküsü, kan nakli gibi nedenlerle antijen ile temasıdır. Diğer risk faktörleri arasında yaş, ırk, cinsiyet ve iskemik hasar sayılabilir. (Mota A ve ark., 2003; Øien C M ve ark., 2007; Mateu L M P ve ark., 2004; Konvalinka A ve Tinckam K. 2015; Pratschke, J ve ark., 2016) Hücre aracılı immün yanıt mekanizması Şekil 2.2.'de özetlenmektedir.



Şekil 2.2. Hücre Aracılı Immün Yanıt Mekanizması

Antikor Aracılı Rejeksiyon

Akut antikor aracılı rejeksiyonda donör antijenlerine karşı gelişmiş antikorlar alıcının dolaşımında vardır. Bu durumda hiperakut rejeksiyon da gelişebilir. Hiperakut rejeksiyonda nakilden hemen sonra böbrek damar endotelinde hasarlanma oluşur. Akut humoral rejeksiyon gelişiminde temel risk faktörü kan transfüzyonları, gebelik, daha önce nakil öyküsü, pozitif cross match veya yüksek oranda panel reaktif antikor varlığıdır. Humoral rejeksiyonda hedef MHC antijenleridir. Kan nakli, gebelik ve organ nakli gibi nedenler ile antijenlerle karşılaşılması HLA antikorlarının (immünoglobülin G tipinde) üretimine neden olur. Humoral rejeksiyonda daha az sıklıkta ABO kan grup antijenleri ve diğer antijenik hedeflere yanıt oluşabilir. Sonuçta gecikmiş rejeksiyon ataklarıyla greft kaybına neden olur (Mota A ve ark., 2003; Øien C M ve ark., 2007; Mateu L M P ve ark., 2004; Konvalinka A ve Tinckam K. 2015; Pratschke, J ve ark., 2016). Antikor aracılı immün yanıt Şekil 2.3.'de özetlenmiştir.



Şekil 2.3. Antikor Aracılı İmmün Yanıt Mekanizması

Etiyoloji, klinik tablo ve histolojik değerlendirmeler sonucunda rejeksiyon tipleri; hiperakut, akut ve kronik olarak sınıflandırılabilir (Günay ES ve Töz H. 2008).

Hiperakut Rejeksiyon

Hiperakut rejeksiyon alıcıda önceden greft antijenlerine karşı oluşmuş sitotoksik antikorlarla gelişir. Bu antikorlar çoklu gebelikler sırasında veya daha önce geçirilmiş nakil ile oluşmuş HLA antikorları olabilir ya da kan transfüzyonu ile ABO kan grubu sistemine karşı gelişen antikorlardır. Hiperakut rejeksiyonun en önemli nedenleri böbrek nakli öncesi alıcıda anti-ABO kan grubu antikorları ve anti-HLA sınıf I antikorlarının varlığıdır. Böbrek naklini takip eden dakikalar ya da saatler içerisinde ortaya çıkan bir immün reaksiyondur (Lee R S ve ark., 1994; Suchin E J ve ark., 2001; Herrera OB ve ark., 2004; Sivaganesh S ve ark., 2013). Önceden bulunan antikorlar greft arteriyollerinin endoteline yapışır ve endotel ile anti-endotel antikor kompleksi oluşturarak klasik yoldan komplemanı aktive eder. Bu aktivasyonla nakil edilen böbreğin damarlarının trombozu ve tıkanmasıyla iskemi ve nekroz gelişir. Bu da transplante edilen organın kaybı ile sonuçlanır. Nakil öncesi alıcı ve vericide ABO uygunluğunun saptanması, Panel Reaktif Antikor (PRA) tayini, doku uyumu, donöre spesifik antikorların tespiti (Crossmatch -çaprazlama- testleri yapılarak) ve gerektiğinde antikorların plazmaferezle uzaklaştırılması ile hiperakut rejeksiyon problemi büyük

oranda aşılmıştır (Crespo M ve ark., 2003; Pratschke, J ve ark., 2016; Konvalinka A ve Tinckam K. 2015).

Akut Rejeksiyon

Alloreaktif T hücre ve antikorlar aracılığıyla kan damarları ve greft parankiminde hasarlanma akut rejeksiyonu gösteren bir süreçtir. Nakilden sonra birkaç gün, birkaç hafta veya ay içinde arasındaki dönemde ortaya çıkan akut rejeksiyon ilk bir yıl içinde de ortaya çıkmaktadır (Halloran PF ve ark., 1992; Collins AB ve ark., 1999; Takemoto SK ve ark., 2004). AR'nun, akut hücresel rejeksiyon (Acute T cell-mediated (cellular) rejection=TCMR) ve akut antikor aracılı rejeksiyon (Antibody Mediated Rejection=AMR) olmak üzere iki tipi bulunmaktadır. TCMR günler içinde gelişen greft fonksiyon bozukluğudur. En sık nakilden sonraki 1-2 hafta içinde gelişir. İlk 6 aydan sonra görülme sıklığı azalır ancak herhangi bir zamanda yeniden gelişebilir. TCMR'nin ana mekanizması donör alloantijenlerinin ASH'ler tarafından alıcının T hücrelerine sunulmasıyla başlar. Th1 ve Th17 lenfositler tarafından üretilen sitokinler tübüler epitel hücrelerinde inflamasyona neden olur (Afzali, B ve ark., 2007). Ayrıca aktive olan Tc lenfositler hem TNF ile hem de perforin/granzim aracılı sitotoksosite ile endotel ve greft parankim hücrelerinin apoptozunu sağlarlar. Akut hücresel rejeksiyon histolojik olarak tübüler ile kapiller ve küçük arter duvarlarındaki lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu ile karakterizedir. (Ingelfinger, J. R. 2005; Nankivell BJ ve Alexander SI. 2010; Piotti G ve ark., 2014; Konvalinka A ve ark., 2015). Hücresel tip akut rejeksiyon, nakil olan böbrekte fonksiyon kaybı ile oligüri, ödem, hematüri, hipertansiyon, ateş, sodyum ve sıvı retansiyonu, sedimentasyon – CRP – lökosit-, β 2mikroglobulin gibi akut faz reaktanlarında hızlı artış, greft böbrekte ağırlı büyüme gibi akut inflamasyon bulguları ile ortaya çıktığı için erken tanı ve tedavi greft organ kaybını önlemede çok önemlidir (Opelz, G. 2005; Amico, P ve ark., 2008; Grafft, C. A ve ark., 2010).

AMR'de ise hiperakut rejeksiyonda olduğu gibi komplemana bağlı sitotoksosite ve antikora bağlı hücresel sitotoksosite ile doku ve organ hasarı ortaya çıkar. Genellikle nakilden sonra birkaç gün içinde görülür. İnflamasyona bağlı olarak hızlı greft disfonksiyonu gelişir. Daha önceden aynı antijene maruz kalmış olmasına bağlı olarak yüksek titrede kompleman fikse edici antikorlar oluşur. (Bos, I. G ve ark., 2002; Stegall,

M. D. ve ark., 2012). Alloantikörler donörün peritübüler ve glomeruler kapillerin endoteliumlarındaki HLA alloantijenlere bağlanır. Bu bağlanma endotel hasarına yol açarak kompleman aktivasyonunu tetikler ve intravasküler trombus formasyonu ve nötrofil aktivasyonu yoluyla greft yıkımı yaparak akut rejeksiyona neden olur. Ayrıca bu alloantikörlerin endotel yüzeye bağlanması proinflamatuvar ve prokoagulan moleküllerin yüzey ekspresyonunu artırarak hücre içi sinyal yolağıyla da endotel fonksiyonlarını etkiler (Crespo M ve ark., 2003; Danovitch GM. 2003). Renal peritübüler kapillerde immünohistokimyasal olarak C4d klasik kompleman fragmanı birikir ve bu akut hümorale rejeksiyon ve klasik kompleman yolu aktivasyonunun bir belirticidir (Ingelfinger, J. R. 2005; Nankivell BJ ve Alexander SI. 2010; Piotti G ve ark., 2014; Konvalinka A ve ark., 2015). C4d birikimi ile HLA sınıf I ve sınıf II donör antikörleri arasında güçlü bir ilişki vardır (Mehra, N. K ve ark., 2013; Valenzuela, N. M 2014; Banasik, M ve ark., 2014). Hastaların %88-95'inde akut greft disfonksiyonunda vericinin HLA sınıf I ya da sınıf II antijenlere karşı oluşan C4d birikimi bulunurken, %10'luk bir kısımda C4d negatif akut rejeksiyon gözlenebileceği de bildirilmiştir (Colvin, R. B. 2007). Peritübüler kapillerde C4d birikimi ise C5b membran-atak kompleksinin (C5b-C9) bir araya gelmesini başlatır. Bu kompleks bölgesel endotelial nekroza, apoptoza ve membrandan endotel hücrelerinin ayrılmasına yol açar (Bos, I. G ve ark., 2002; Stegall, M. D. ve ark., 2012). Ancak histolojik olarak lenfosit infiltrasyonu gözlenmez. Tanıda her zaman altın standart greft biyopsisidir. Serum kreatinin seviyesi, diürez, donöre spesifik antikörlerin varlığı hastayı izlemede kullanılır. Glomerülit/kapillerit, peritübüler kapiller içinde nötrofiller, fibrin trombusu, interstisyel hemoraji, ağır veya nekrotizan vaskülit AMR'de karakteristik histolojik bulgulardır. Ortamda antikör bulunması nedeniyle antikör aracılı immün yanıt mekanizmaları ile oluşan rejeksiyonlar hızlı gelişirken, hücresel immün yanıt mekanizmalarıyla ortaya çıkan reaksiyonlar ise göreceli olarak daha uzun sürede gelişirler (Ingelfinger, J. R. 2005, Nankivell BJ ve Alexander SI. 2010, Piotti G ve ark. 2014, Konvalinka A ve ark. 2015).

Kronik Rejeksiyon

Böbrek naklinden aylar veya yıllar sonra ortaya çıkan, anti-greft lenfositlerini ve antikörlerini kontrol altında tutmak amacıyla uygulanan immünosüpresörlerin devam

edilmemesinden kaynaklanan rejeksiyon tipidir. KR greft yetmezliğinin en önemli nedenidir. KR’de hücresel reaksiyon, antikor birikimi ve antijen-antikor komplekslerinin greft hasarına yol açmasıdır. KR’de T hücrelerinin böbrek parenkimasına invazyonu, böbrek fonksiyonlarının azalması, T hücrelerin ve makrofajların intersitisyuma kalıcı infiltrasyonu görülür. KR’de ana mekanizma T hücrelerin aktivasyonu sonrası sitokin sekresyonu ve bu sitokinlerin uyarısı ile vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonu ve bunun sonucunda arteriyel oklüzyona bağlı iskemik hasardır. (Bingaman, A. W ve ark., 2004; Nankivell BJ ve Alexander SI. 2010). Kronik aktif antikor aracılı rejeksiyonda, kapiler endotel üzerinde biriken HLA sınıf I moleküllerine bağlanan antikorlar endotel hücrelerinde Fibroblast growth factor (FGF) ekspresyonunu artırarak endotelde proliferatif oklüzyona neden olur. Bu antikorlar önceden saptanamayan vericiye özgü (donöre spesifik) antikorlar veya nakil sonrasında oluşan antikorlardır. Sonuçta histolojik lezyon glomerüler bazal membranın duplikasyonu olan transplant glomerülopati ve arteriopatidir (Mauiyyedi S ve ark., 2001; Regele H ve ark., 2002; Colvin, R. B. 2007; Stegall, M. D ve ark., 2012; Nankivell BJ ve Alexander SI. 2010).

2.5. Böbrek Naklinde Akut ve Kronik Rejeksiyon Risk Faktörleri

Böbrek naklinde alıcı ve verici arasında doku uyumu ne kadar fazla olursa nakledilen organ yaşamsal faaliyetlerini sağlıklı bir şekilde sürdürerek, hastada akut rejeksiyon ve kronik rejeksiyon gelişme ihtimali o kadar düşük olur. Bu sayede nakil olan hasta yeni böbreği ile daha uzun ve kaliteli bir yaşam sürdürebilir. Bu nedenle nakil öncesi HLA doku uyumu, ABO kan grubu uyumu, PRA testi, kompleman bağımlı sitotoksik lenfosit çapraz karşılaştırma (Lymphocyte Cross Match: CDCXM), Flow sitometrik cross match (FCXM) ve Luminex Cross Match testlerinin sonuçlarına göre en uygun aday belirlenmelidir (Patel, R. ve Terasaki, P. I. 1969; Minucci, P. B ve ark., 2011; Tait BD ve ark., 2013; Bostock, I. C ve ark., 2013). Rejeksiyonun önlenmesinde hastalar nakil öncesi risk grupları ve alınacak uygun immün sistemi baskılayıcı (immünsüpresif) tedavi şekli açısından değerlendirilmelidir. Bu risk grupları içerisinde alıcı ve verici yaşı, canlı ya da kadavradan nakil olması, daha önce gebelik öyküsünün olup olmadığı, daha önce nakil ya da kan transfüzyonu olup olmadığı, gecikmiş greft fonksiyonu gibi parametreler yer almaktadır (Crespo M ve ark., 2001; Tait BD ve ark., 2013; Pratschke, J ve ark.,

2016). Bu parametrelerden bazıları rejeksiyon için düşük risk grubundayken bazıları yüksek risk grubundadır (Tablo 2.5.).

Tablo 2.5. Rejeksiyon Açısından Düşük ve Yüksek İmmünolojik Risk Grubu

Düşük Risk	Yüksek Risk
Canlı verici olması	Kadavra vericisinden nakil
İlk nakil olması	2. 3. nakil olması
Alıcı verici akraba olması	Akraba olmayan birisinden nakil
Karısından kocasına nakil	Kocasından karısına nakil
İdeal donör	Yaşlı, hipertansiyonu olan donör
Kısa süreli soğuk iskemi	Uzun süreli soğuk iskemi zamanı, iskemi reperfüzyon hasarı
Anneden çocuğa nakil	Çocuktan anneye nakil
	PRA+, DSA+, Cross-match+, ABO uyumsuzluğu Gebelik Çok sayıda transfüzyon

2.5.1. Böbrek Naklinde Alıcı ve Verici Yaşı

Alıcının yaşı arttıkça akut ve kronik rejeksiyon riski azalırken, vericinin yaşı arttıkça akut ve kronik rejeksiyon riski artmaktadır (Bradley BA. 2002; Tullius SG ve Milford E. 2011).

2.5.2. Böbrek Naklinde Donör Tipi

Canlı vericisi olan böbrek nakli hastalarının akut rejeksiyon riski düşüktür. Vericinin kadavra olması ise kronik rejeksiyon için progresif risk faktörüdür. Canlı vericiden yapılan nakillerde akut rejeksiyondan kronik rejeksiyona ilerleme hızı kadavra vericisinden yapılan nakillere göre daha yavaştır (Knight RJ ve ark., 2001).

2.5.3. Böbrek Naklinde Etnik Köken ve Irk

Kafkas kökenli böbrek nakli hastalarında akut rejeksiyon riski düşükken, Afrika kökenli Amerikallarda akut rejeksiyon riski daha yüksektir (Jindal RM ve ark., 2009). Akut rejeksiyon atakları siyah ırk alıcılarında daha sık görülür (Young CJ ve Gaston RS. 2000). Birçok çalışmada da siyah ırkın kronik rejeksiyon için bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir (Flechner SM ve ark., 1996).

2.5.4. Böbrek Naklinde ABO Kan Grubu Uyumu

ABO kan grubu antijenleri Karl Landsteiner tarafından 20. yüzyılın başında bulunmuştur. Eritrositler (kırmızı kan hücreleri), endotel hücreleri, böbrekteki tübülüs, glomerül ve parankim hücreleri gibi çeşitli hücrelerde bulunan bu oligosakkaritler kuvvetli transplantasyon antijenleridir (Landsteiner, K. 1901). Hume ve arkadaşları 1955 yılında ilk kez böbrek naklinde ABO uyumunun önemini vurgulamışlardır (Hume DM ve ark., 1955). Böbrek nakli öncesi anti-ABO kan grubu antikorlarının varlığı çoğunlukla geri dönüşümsüz hiperakut rejeksiyona neden olur. Bu nedenle nakil öncesi alıcı ve vericinin ABO kan grubu antijenlerinin uyumuna bakılmaktadır. Kan transfüzyonları için kabul gören prensip böbrek nakli için de geçerlidir. O kan grubunun evrensel verici iken AB kan grubunun evrensel alıcısıdır. O kan grubuna sahip vericilerin böbrekleri A, B veya AB alıcılarında kullanılabilir (Nelson PW ve ark., 1992). Güçlü immünosüpresyon ve desensitizasyon tedavisi ile uygun verici bulunamadığında ABO uyumsuz vericiden de böbrek nakli yapılabilir (Morath C ve ark., 2012). Ancak ABO uygun vericilerle yapılan nakillerde en iyi sonuç alınmaktadır. Rh faktör uyumsuzluğunun ise greft sağkalımı üzerine bir etkisi olmadığı bilinmektedir. (Ishida H ve ark., 2003).

2.5.5. Böbrek Naklinde HLA Doku Uyumu ve Önemi

İmmün yanıtta hücrelerin kendinden olan ya da olmayan antijenleri tanıyabilmesi ve bu antijenlerin ASH aracılığıyla hücrelere sunulması gerekmektedir. Antijenlerin sunumunda rol oynayan özelleşmiş hücresel yapı MHC'dir (Shankarkumar U. 2004; Mosaad, Y.M. 2015).

1930'lu yılların başlarında Gorer ve Snell farelerde ilk büyük doku uyum antijenlerinin varlığını tespit etmişler. Bu gen bölgesi için ilk kez doku uyum kompleksi adını kullanmışlardır (Gorer, P. A. 1936; Snell, G. 1937). İlk olarak kemirgenlerde tanımlanan MHC bölgesi insanların beyaz kan hücreleri üzerinde gösterildiğinden 1967 yılından itibaren HLA bölgesi olarak da adlandırılmaktadır (Sayegh MH ve Carpenter CB. 2004). 1977 yılında Jan Klein ilk tanımlamayı, sınıf I, II, III şeklinde yapmıştır.

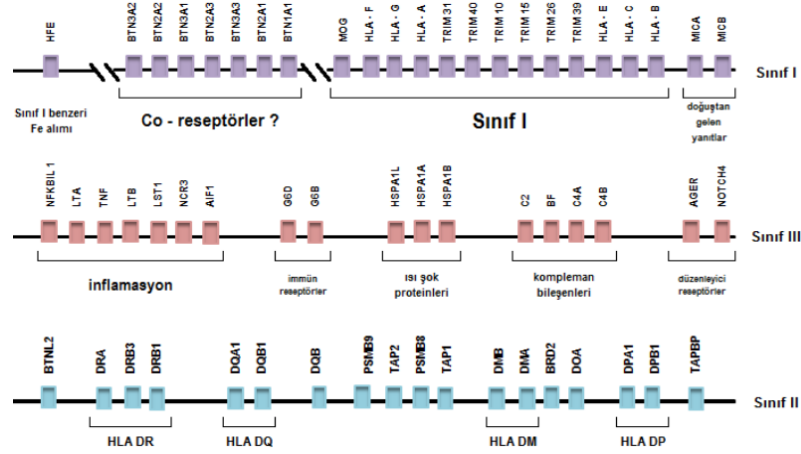
MHC molekülleri T lenfositlerinin protein kaynaklı peptit antijenlerini tanıyarak bağlanması için sunan hücre yüzeyinde eksprese olan oldukça polimorfik moleküllerdir.

MHC antijenleri aracılığıyla gerçekleşen bu tanıma sayesinde, organizmanın kendinden olanı ya da yabancı olanı ayırt ederek organ naklinde organ reddini veya kabulünü belirleyen immün yanıtın oluşmasında temel rol oynamaktadır (Browning, M. ve McMichael, A. 1996; Bodmer, JG ve ark., 1999). Her bireyde farklı HLA tipleri olduğu için HLA uyum oranı organ naklinin sonucu ile ilişkilendirilmiştir. HLA uyumsuzluğunda alıcının CD4+ Th ve CD8+ Tc lenfositlerinde aktivasyon ve buna bağlı B lenfosit aktivasyonu ve alloantikor üretimi gerçekleşir. T lenfositlerinin çoğalmasına neden olur. HLA uygun olmayan bireyden yapılan organ nakli sonucunda hümmoral ve hümmresel immün mekanizmalarla doku alıcı tarafından reddedilecektir ya da vericinin nakledilen dokusu alıcıyı reddedecektir (greft versus host hastalığı=GVHD) (Simpson E. 1998; Murata M ve ark. 2004). Bu rejeksiyondaki temel mekanizma ise, hümmre yüzeyindeki HLA moleküllemi yabancı proteinlerin peptit parçalarını bağlayarak antijene spesifik T lenfositlerine sunarlar. Peptiti kaynağının endojen ya da eksojen olmasına göre T lenfositler aktive olur. Eksojen kaynaklı protein peptitler MHC sınıf II moleküllemiyle sunulurken, endojen kaynaklı peptidler MHC sınıf I moleküllemiyle birleşerek sunulurlar. Böylece hümmre dışı ve hümmre içi proteinlerden sentezlenen peptid antijenler farklı T lenfositler tarafından tanınırlar. Yabancı peptit antijenlerini tanıyan T lenfositler immün yanıt oluştururken, kendi proteinlerinden oluşan peptit antijenlere immün yanıt oluşturmazlar. Negatif seleksiyonla kendi antijenlerini tanıyan T lenfositler timik gelişim aşamasında elimine edilirken, yabancı peptit antijen-MHC kompleksini tanıyan T lenfositler immün yanıtı gerçekleştirirler (Warrens AN ve ark. 1994; Herrera OB ve ark., 2004; Afzali B ve ark., 2008; Everly MJ Vve ark., 2013; Hickey MJ ve ark., 2016; Alelign T ve ark., 2018;).

Doku uygunluk antijenlerini içeren *HLA* geni, 6. kromozomun kısa kolunda sentromere yakın şekilde (6p21.31) lokalize olmuştur. Yaklaşık 4000 kilobaz (kb) büyüklüğünde, 7,6 milyon bç içeren bu gen kompleksi genomun %0,1'ini kapsamaktadır. Bu lokus yaklaşık 400 gen içermektedir. Bu bölgede bağışıklık sistemiyle ilgisi tanımlanamamış genler de yer almaktadır. (The MHC sequencing consortium. 1999). *HLA* genleri Mendelian kalıtımla oğul dömlere aktarılır ve her bireyde eş baskın (kodominant) olarak eksprese edilir. Babadan ve anneden gelen birer haplotip sonucu yeni bireyin *HLA* gen profili oluşur. (Hamosh A ve ark., 2000; Shiina T ve ark., 2004; Choo, S. Y. 2007)

Ebeveynlerden geçen genlerin hepsi kodlanır ve fenotipik olarak yeni bireyde üretilir. Genetik geçiş sırasında %3 oranında rekombinasyon (Crossing over) görülebilir. Aynı kromozom veya haplotipte bazı allellerin birbirleri ile birlikte görülme frekansları beklenenden daha yüksektir. Bu durum ‘linkage eşitsizliği’ olarak ifade edilir. Bu beraberlikler farklı toplumlarda değişiklik gösterebilir (Klein, J., ve Sato 2000; Janeway, C. 2001; Abbas AK ve ark., 2011).

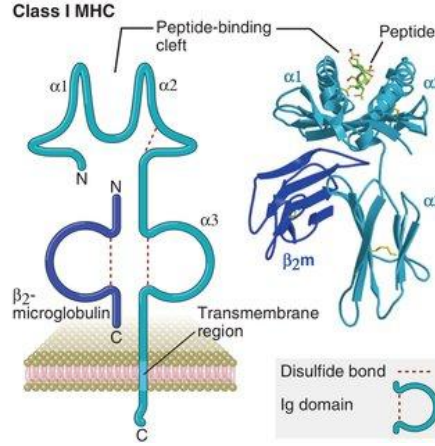
HLA sisteminin isimlendirilmesi Dünya Sağlık Örgütü’nün (DSÖ) denetiminde HLA-nomenklatur komitesi tarafından düzenlenmektedir. Mart 2020’de son bildiren alel sayısı 19.586 HLA sınıf I, 7.301 HLA sınıf II olmak üzere toplam 26.887’dir. (<https://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/stats.html>). Bu komiteye göre HLA molekülleri kimyasal yapıları, hangi dokuda bulunduklarına ve fonksiyonlarına göre HLA sınıf I, sınıf II ve sınıf III olmak üzere 3 ana gruba ayrılır. HLA sınıf I’de HLA -A, -B, -C, -E, -F, -G antijenleri ve -H, -X ise pseudo meleküller kodlanır. HLA-A, -B, -C klasik sınıf I moleküller olup, tüm çekirdekli hücrelerin yüzeyinde eksprese olur ve antijen sunumu görevini üstlenmişlerdir. HLA-E,-F,-G klasik olmayan sınıf I molekülleridir ve her dokuda eksprese olmaz. HLA-G ile ilgili yapılan çalışmalarda plesanta dokusunda eksprese olan fetüsün canlılığında rol oynayan bir immün modülatör olduğunu göstermektedir. HLA-E ve -F’nin görevleri tam olarak açıklanamamaktadır. HLA sınıf II’de HLA -DRB1, -DPB1, -DQB1, -DM, Transporter Associated with Antigen Processing 1 ve 2 (TAP1 ve 2) gibi antijenler kodlanmaktadır. HLA-DRB1, -DQB1, -DPB1 klasik sınıf II molekülleridir ve antijen sunumunda görevlidir. DM, TAP1 ve TAP2 moleküller ise antijen işlenmesi ve sunumunda görevlidir. Sınıf II antijenleri B lenfositler, makrofajlar ve dentritik hücreler gibi ASH’lerin yüzeyinde eksprese olur. HLA sınıf III’de ise Kompleman 2 (C2), C4A, C4B, lenfotoksin, 21-hidroksilaz enzimi, ısı şok proteinleri-70, TNF- α molekülleri gibi HLA dışında moleküllerin sentez edildiği bölgedir. HLA sınıf I ve sınıf II lokusları gibi Sınıf III lokusu da yüksek polimorfizm gösterir. HLA genlerinde fazla farklı allel olması ve bunların oldukça polimorfik yapıda olmaları HLA molekül çeşitliliğini arttırarak popülasyonda immünolojik açıdan farklı bireylerin oluşmasını sağlamıştır (Trowsdale J. 2011; Roberts SC. 2009; Klein J ve Sato A. 2000; DeWolf, S. ve Sykes, M. 2107). HLA ‘nın yapısı Şekil 2.4.’de gösterilmiştir.



Şekil 2.4. HLA Yapısı (Trowsdale J. 2011)

HLA Sınıf I Molekülleri (HLA-A, -B, -C)

MHC gen bölgesinde yer alan transplantasyon HLA sınıf I molekülleri (HLA-A,-B,-C) çekirdekli hücrelerin yüzeyinde eksprese olan glikoproteinlerdir. En temel görevleri endojen peptit antijenlerini CD8⁺ Tc lenfositlerine sunmaktır. (Goldsby RA ve ark., 2003). Sınıf I HLA antijenleri *MHC* gen bölgesinde kodlanan 44 kDa molekül ağırlığında ağır zincir- α ve 15. kromozomda kodlanan 12 kDa molekül ağırlığında β 2-mikroglobulin zincirinin birbirlerine kovalent olmayan bağlarla bağlanmasıyla oluşur (Şekil 2.5.). (Morris A ve ark., 1994; Van den Elsen P. J. 2011). Polimorfik özellik gösteren α zinciri 339 aminoasit içeren üç ekstraselüler globüler domaine (α 1, α 2 ve α 3) sahiptir. α 1 ve α 2 domain zincirlerinin uç kısımları (N-ucu) kovalent olmayan bağlarla bağlıdır ve polimorfik bölgelerdir. α 1 ve α 2 kıvrımlarının arasında oluşan oluğa küçük peptitler (8-11 aminoasit büyüklüğünde) bağlanabilir. β 2 mikroglobulin de polimorfik yapıda olmayan α 3 domainine kovalent olmayan bağlarla bağlanarak konformasyonel bütünlüğü sağlayan transmembran olmayan polipeptittir. β 2 mikroglobulin HLA antijenlerinin sadece ekspresyonu için gerekli olup HLA ile oluğa yerleşen peptit antijenin bağlantısını güçlendirir. HLA molekülüne antijenik özellik sağlamaz. α 3 domaini ise HLA molekülünün CD8⁺ Tc lenfositlerine bağlanma bölgesidir. HLA sınıf I molekülü bir araya gelmiş bir α -zinciri, β 2- mikroglobulin ve bağlanmış bir antijenik peptitten oluşan bir heterodimerdir (Abbas AK ve ark., 2011; Mak TW ve Saunders ME. 2008; Madden DR. 1995).



Şekil 2.5. HLA Sınıf I Yapısı (Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2012). Cellular and molecular immunology (7th ed). Philadelphia: Elsevier/Saunders)

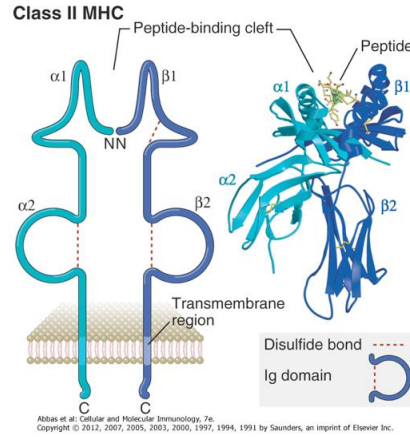
Heterodimer yapısındaki HLA sınıf I molekülleri sitoplazma içinde yer alan yabancı antijenleri (virüsler ve tümör antijenleri) CD8+ Tc hücrelerine sunarlar. Sitoplazmada antijen içeren bu hücreler ASH'ler tarafından fagositozla hücre içine alınırlar ve işlenirler. Antijenler bu hücrelerin yüzeylerinde bulunan HLA sınıf I, II molekülleri aracılığıyla komşu lenf bezlerindeki antijenle daha önce karşılaşmamış olgunlaşmamış T hücrelerine sunulur. Bu sunum sırasında aktif hale gelen antijene özgün CD8+ Tc hücre klonu sayıca artarken, CD4+ Th hücre klonu da daha düşük seviyede sayıca artar ve aktive olur. Daha sonra efektör CD8+ Tc hücreleri, antijenin bulunduğu bölgeye giderek sitoplazmalarında bulundurdıkları perforin ve granzimin etkisiyle yüzeylerinde HLA sınıf I molekülleri bulunan antijen sunan hücreyi öldürürler (Abbas AK ve ark., 2011; Mak TW, Saunders ME. 2008; Madden DR. 1995).

HLA Sınıf II Molekülleri (HLA-DRB1, -DQB1, -DPB1)

HLA sınıf II molekülleri birbirlerine kovalent olmayan bağlarla bağlı polimorfik bir α (32-34 kDa) ve polimorfik bir β (29-32kDa) polipeptit zincirinden oluşurlar (Şekil 2.6.). İki zincirde polimorfik MHC gen bölgesinde kodlanır. $\alpha 1$, $\beta 1$ ve $\alpha 2$, $\beta 2$ olacak şekilde iki bölgede kıvrım yaparlar. Her iki zincir de N-uçlu ekstraselüler domain, bir immünoglobülin (Ig)-benzeri ekstraselüler domain, bir hidrofobik transmembran domaini ve bir kısa sitoplazmik kuyruk içermektedir. $\alpha 1$ ve $\beta 1$ domainlerinin N-uçları polimorfiktir ve antijen peptit bağlanma bölgesini oluşturur. $\alpha 2$ ve $\beta 2$ domainleri ise

globüler yapıda olup peptit bağlanmada rol oynamazlar. HLA sınıf I'den farklı olarak 10-30 aminoasit büyüklüğündeki peptitler bu oluşa bağlanabilirler. HLA ile antijen peptidin bağlantısını güçlendirerek sabitleyen bölüm $\alpha 2$ domainidir. $\beta 2$ domaini ise HLA molekülü ile CD4+ Th lenfositlerin bağlanma bölgesini oluşturur. HLA sınıf II antijenleri B-lenfositler, ASH (makrofajlar, dentritik hücreler, kupffer hücreleri), uyarılmış T lenfositler ve endotelial hücreler üzerinde bulunurlar. HLA sınıf II moleküllerinin görevi ASH'lerin yüzeyinde eksprese olarak ekzojen peptitleri (mikroorganizmaları) fagositozla veya reseptör aracılı endositozla hücre içine alıp işledikten sonra bu antijenleri komşu lenf bezlerindeki daha önce bu antijenle karşılaşmamış olgunlaşmamış CD4+ Th hücrelerine sunmaktır. Aktive olmuş efektör CD4+ Th hücre klonu antijenin bulunduğu bölgeye gider. Eğer antijeni sunan hücre makrofaj ise CD4+ Th hücresi, antijeni fagositozunu arttırarak daha etkin bir hale getirir, B hücresini ise salgıladığı sitokinlerle antikor üretmesi yönünde uyarır (Abbas AK ve ark., 2011; Mak TW ve Saunders ME. 2008; Madden DR. 1995; Basturk B ve ark., 2016). HLA sınıf II bölgesi içerisinde adenosin trifosfat (ATP) bağlama kaskadı ailesinin üyesi olan TAP1 ve TAP2 kodlayan gen grubu vardır (Endert PV ve Villadangos JA 2007). TAP1 ve TAP2 proteinleri HLA sınıf I yolu ile antijen işlenmesinde görev alırlar. HLA sınıf I moleküllerine bağlanabilen peptitler TAP proteinleri tarafından sitoplazmadan endoplazmik retikuluma (ER) taşınır. MHC- $\beta 2$ mikroglobulin dimeri ER'da TAP proteinlerine bağlanır ve peptitler ER içine alınır. Peptide bağlanarak kompleks oluşturmuş MHC sınıf I molekülleri ER'den çıkar ve hücre yüzeyine gider (Madden DR. 1995; Abbas AK. 2011). TAP proteinlerindeki azalma hücre yüzeyindeki HLA sınıf I moleküllerinin ekspresyonunda azalmaya bu da bu hücrenin CD8+ Tc'ye antijen sunma yeteneğini kaybetmesine sebep olur (Ortmann B ve ark., 1994).

Structure of a MHC Class II molecule



Şekil 2.6. HLA Sınıf II Yapısı (Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2012). Cellular and molecular immunology (7th ed). Philadelphia: Elsevier/Saunders)

HLA Sınıf III Molekülleri

HLA Sınıf III antijenleri kompleman sisteminin üyeleri olup HLA sınıf I ve sınıf II antijenleri arasındaki bölgede bulunurlar. Bu bölgede immün sistemde önemli fonksiyonları olan klasik kompleman yolunun C2, C4a ve C4b proteinleri, alternatif yolun properdin faktörü ile 21-hidroksilaz gibi enzimleri ve TNF gibi sitokinleri sentezlenir. Ancak bu antijenlerin nakil için önemi gösterilememiştir (Madden DR. 1995; Mak TW ve Saunders ME. 2008; Abbas AK ve ark., 2011; Basturk B ve ark., 2016).

HLA-A, HLA-B ve HLA-DRB1 böbrek nakillerinde önemli antijenlerdir. Başarılı bir nakil için nakil öncesi alıcı-vericiler için *HLA A*, *B* ve *DRB1* lokus allellerinin tiplendirilmesi gerekir. Tiplendirme T.C. Sağlık Bakanlığı, EFI (European Federation for Immunogenetics), ASHI (American Society for Histocompatibility & Immunogenetics) gibi ulusal ve uluslararası kurumlarca ruhsatlandırılmış olan standartlara uygun çalışan doku tipleme laboratuvarlarda yapılmalıdır.

2.6. HLA Tipleme Yöntemleri

2.6.1. Moleküler Yöntemler

Böbrek naklinde *HLA* alellerinin belirlenmesi (HLA tipleme) için moleküler yöntemler (SSP, SSO) uygulanmaktadır (Tinckam K. 2009; Olerup O ve Zetterquist H. 1992). Doku tipleme için uygulanan moleküler yöntemlerin daha özgün, hızlı ve kesin sonuç vermesi, canlı hücre gerektirmemesi, yeni aleller tanımlandıkça *HLA* genlerindeki çeşitliliğin gösterilebilmesi, hastalık veya tedaviden etkilenmemesi, daha fazla örneğin aynı anda çalışılabilmesi ve duyarlılığının yüksek olması açısından birçok avantajı vardır. (Coleman, W.B ve ark., 2006; McPherson, R.A ve ark., 2007).

Diziye Özgü Primer Yöntemiyle HLA Tiplemesi (SSP)

Diziye özgü primer yöntemiyle (Sequence Specific Priming: SSP) sınırlı sayıda aleli çoğaltan primerler kullanılır. Bu yöntemin temel prensibi polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile belirlenen amplifikasyon koşulları altında sadece çoğaltılmak istenen kalıp bölgedeki spesifik HLA baz dizilimine uyumlu primerler ile kalıp sekans dizisinin tamamen eşleşmesidir. Eğer primerin 3' ucu ile çoğaltılmak istenen bölge arasında bir nükleotid değişimi olması durumunda Taq polimeraz diziyi uzatamaz. Kalıp DNA dizilimi ile primerler tamamen uyumlu olduğu zaman reaksiyon devam eder (Testi M. ve Andreani M. 2015). SSP testinde, kullanılan primer setleri plaklar halinde kullanılmak üzere planlandığı için tekli örneklerin çalışılmasında basit, hızlı ve ideal bir testtir. Fakat her geçen gün çok sayıda yeni alelin bulunması ve buna uygun yeni primerlerin dizaynı çok sayıdaki örnek için zorluk oluşturmaktadır. Bu da SSP testinin dezavantaj yanını oluşturmaktadır (Olerup O. ve Zetterquist H. 1992).

Diziye Özgü Oligonükleotit Primer Yöntemiyle HLA Tiplemesi (SSO)

Diziye özgü oligonükleotit (Sequence Specific Oligonucleotides: SSO) primer yöntemi az sayıda bilinen *HLA* alellerin saptanmasında (HLA tiplemesinde) yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemde kullanılan primerler *HLA* alleleline tamamlayıcı yaklaşık 20 nükleotid uzunluğunda 5'-biotin işaretli bağlı kısa problardır (McPherson, R.A ve ark., 2007). *HLA* sınıf I için ekzon 2 ve ekzon 3'e, *HLA* sınıf II için ekzon 2'ye spesifik primerler kullanılarak PZR amplifikasyonu gerçekleşir. Bu sayede *HLA* polimorfik bölgelerinin lokus spesifik amplifikasyonu gerçekleşir. Daha sonra sekans

spesifik oligonükleotit problemlerin amplifiye DNA üzerine bağlanmasıyla hibridizasyon reaksiyonu gerçekleşir. Hibridizasyon reaksiyonunda PZR ürünleri bu renk kodlu mikrobonduklar ile bağlı oligonükleotit problemlere bağlanır ve streptavidin-fitoeritrin (SA-PE) ile tespit edilir. Lumineks metodu ile *HLA* genotiplemesi yapılır. Lumineks cihazı ((Boncuk bazlı analiz) biotin işaretli PZR ürünü ile hibritlenen her kodlanmış oligo boncuk üzerindeki PE'nin floresan yoğunluğunu tanımlar (Sheldon, S. ve Poulton, K. 2006). 5.5 µm çapında farklı polistiren renk kodlu mikro boncuk setleri oligonükleotit bağlanma problemlerini işaretlemek için kullanılır. Her bir boncuk seti, boncuklar içine gömülmüş kırmızı ve kızılötesi floresan boyaların oranıyla renklendirilmiş ve kodlanmıştır. Lumineks 100 akış sitometresinde her bir florokromun konsantrasyonu ayarlanarak 100 farklı floresan işaretli mikrobonduk tanımlanabilir (Sheldon, S. ve Poulton, K. 2006). SSO yöntemi sayıca artan alellere uyarlanabilen ve süre olarak SSP'den uzun olmasına rağmen tek seferde çok sayıda hastanın *HLA* doku tipini tespit edebilmesi yönünden avantajlı bir testtir. Ayrıca günümüzde kullanılan SSO problemleri sayesinde orta veya yüksek çözünürlüklü *HLA* doku tiplemesi güvenilir bir şekilde belirlenebilir (McPherson, R.A ve ark., 2007).

2.6.2. Serolojik Yöntemler

Nakil öncesinde ve sonrasında organ reddi oranını azaltmak ve sağ kalımı artırmak için *HLA* antijenlerine karşı oluşan anti-*HLA* antikorlarının saptanması gerekir (Halloran PF. 2003). Kan transfüzyonu, gebelik, daha önce organ nakli öyküsünün olması gibi durumlarla hastanın yabancı (kendine ait olmayan) *HLA* antijenlerine maruz kalması anti-*HLA* antikorlarının oluşmasına neden olmaktadır. Bu da böbrek naklinde immünolojik engel oluşturmaktadır (Lachmann N ve ark., 2009; Loupy A. 2009). Nakilden önce ve sonra anti-*HLA* antikorlarının varlığı akut ve kronik rejeksiyon riskini artırır (Lee P-C ve ark., 2002; Woodle E S ve ark., 2005). Bunun için günümüzde nakil öncesi veya nakil sonrası oluşan antikorları taramak için birkaç teknik kullanılmaktadır. Greftin üzerindeki *HLA* antijenlerine bağlanan alıcının serumundaki anti-*HLA* antikorları greft hasarına ve kaybına yol açtığı için hastanın durumunun değerlendirilmesinde bu testlerin önemi büyüktür. Önceden var olan anti-*HLA* antikorları doku tipi uyumlu bile olsa greftin kaybedilmesine neden olacaktır. Nakil öncesinde hastada potansiyel antikorlar PRA tarama testiyle belirlenirken, vericiye karşı

olanlar donöre spesifik antikor saptama (cross-match) testleriyle belirlenir (Cinti P ve ark., 2009; Susal C ve ark., 2009). Vericinin HLA antijenlerine karşı oluşan donöre spesifik antikorlar nakil öncesinde görülebildiği gibi nakil sonrasında da grefte karşı sonradan oluşan antikorlarda Lumineks teknolojisiyle saptanabilir. Bu donöre spesifik nakil sonrası oluşan antikorlar organ rejeksiyon riskinin artmasına neden olacaktır (Azar H ve ark., 2015; Lee PC ve ark., 2009) Eğer nakil öncesi hastada antikor saptanmazsa immünolojik açıdan hasta ile vericinin uyumlu olduğu ve hastaya organ nakledilebileceği sonucuna varılır. Eğer hastada antikor varlığı saptanırsa desensitizasyon yapılır ve sonrasında tekrar PRA testi yapılır. Eğer hastada vericiye spesifik antikor saptanırsa o vericiden nakil yapılmaz (Somasundaran M. ve Quiroga I. 2011).

Anti-HLA Antikorları (Panel Reaktif Antikor=PRA) Tarama ve Saptama Yöntemleri (Boncuk Bazlı Analiz)

Nakil öncesi, nakil sonrası veya nakil sonrası de-novo gelişen anti-HLA antikorlarının varlığı (PRA pozitifliği) rejeksiyon için risk faktörü olarak bilinmektedir (Sheldon, S. ve Poulton, K. 2006; Tinckam K. 2009). Solid fazlı PRA tarama ve tanımlama için Lumineks yöntemi önceden oluşmuş veya de novo oluşan antikorları tespit etmek için çok hassas ve spesifik bir yöntemdir (Tait B D ve ark., 2009).

Bu test hastanın serumunda bulunan HLA antijenlerine karşı kompleman aktivasyonuna bağlı olmaksızın gelişen anti-HLA antikorlarının varlığının solid faz platformunda çalışılıp Lumineks cihazında ölçülmesi esasına dayanmaktadır (Guichard-Romero A. ve ark., 2016). Bu teknikte anti-HLA antikor testleri üç aşamada değerlendirilir: PRA tarama sınıf I ve sınıf II testi, PRA tanımlama sınıf I ve sınıf II testi ve tek antijen (Single Antigen:SA) sınıf I ve sınıf II testi. Anti-HLA antikor taramasında PRA pozitiflik oranını, popülasyonun antijen profilini yansıtan bilinen antijen gruplarının sayısı ve paneldeki antijenlerin toplam sayısı dikkate alınarak tanımlanır (Tait BD ve ark., 2009; Guichard-Romero A. ve ark., 2016). HLA sınıf I HLA-A, HLA-B, HLA-C antijenlerine karşı oluşan antikorların seviyesi PRA sınıf I pozitifliğini belirtir. HLA sınıf II HLA-DRB1, HLA-DQB1 ve HLA-DPB1 antijenlerine karşı oluşan antikorların seviyesi PRA sınıf II pozitifliğini belirtir. Bu PRA sınıf I ve sınıf II antikorları IgG tipi

antikorlardır (Goldsby RA ve ark., 2003) Bu IgG tipi antikorları saptamak için kullanılan lumineks yöntemi boncuk prensibine dayalı bir tekniktir. Farklı renklerde floresan özelliği gösteren HLA antijenleriyle kaplı mikro-boncuklar alıcı serumuyla inkübe edilir. Serumda anti-HLA antikorları varsa bu spesifik antijenlere bağlanır. Bağlanmamış antikorlar uzaklaştırıldıktan sonra PE ile işaretli anti-insan IgG eklenir ve inkübe edilir. Anti-insan IgG birincil anti-HLA antikoruna bağlanır ve bu test örneği Lumineks cihazında analiz edilir (Picascia A ve ark., 2012). Lumineks kırımızı ve yeşil lazer olmak üzere iki lazer içeren uyarma sistemine sahip bir akış sitometresidir. Boncuklardaki florokromları kırmızı lazer uyarırken, her boncukteki anti-HLA antikorlarına bağlı PE moleküllerinin floresansını yeşil lazer uyarır. Kırmızı ve yeşil sinyallerin kombinasyonu antijen spesifikliğini tanımlar. Ortalama floresan ışıması (Median Fluorescence Intensity: MFI) boncuk değeri, PE işaretli floresan sinyali ile ifade edilir. PRA tanımlama sonucu anti-HLA antikorları ile reaksiyona giren popülasyonun yüzdesini gösterir ve yüzde (%0-100) ile ifade edilir. PRA yüzdesi yüksek olan alıcının (PRA>%80) verici havuzuna karşı duyarlılığının yüksek olduğunu gösterir. Bu alıcıların immünolojik açıdan uygun verici bulma şansları düşüktür (Bostock IC. ve ark., 2013).

Lumineks ile SA sınıf I ve sınıf II testi ise, anti-HLA antikor spesifikliklerinin doğru tanımlanmasını sağlayan daha ileri bir test tekniğidir. SA analizi sınıf I ve II anti-HLA antikorları arasında kesin bir ayırım sağlamanın yanısıra spesifik HLA antijenlerine karşı antikorları tespit edebilmesiyle uygun bir vericinin bulunmasında büyük avantaj sağlamaktadır (Dunn T. B ve ark., 2011).

PRA testinde pozitif saptanan hastada bu antikorum donöre spesifik olup olmadığı ise nakil öncesi alıcı ve verici arasında yapılan cross-match testleriyle belirlenir. (Bostock IC ve ark., 2013).

Alıcı ve Verici Arasında Yapılan Çaprazlama (Cross-Match) Testleri

Cross-match testleri alıcının serumu ile bu alıcıya uygun verici lenfositlerinin reaksiyona girerek alıcının serumunda önceden oluşmuş herhangi bir donöre spesifik antikorum olup olmadığını belirlemek için yapılan çaprazlama testleridir. Hastanın böbrek nakli olabilmesi için bu çaprazlama testlerinin sonuçlarının negatif olması gerekir. Nakilden

hemen önce yapılan bu çaprazlama testlerin sonucunun negatif olması hiperakut rejeksiyonun gerçekleşmesini önemli ölçüde engeller (Shrestha B M. 2014).

Kompleman Bağımlı Sitotoksiste Çapraz Karşılaştırma Yöntemi (Complement Dependent Cytotoxicity: CDCXM)

Alıcıda bulunan mevcut antikorların donör spesifik olup olmadığını gösteren CDCXM testi, anti-HLA antikor tespitinde kullanılan altın standart bir tekniktir (Terasaki P I. 2003). Pozitif CDCXM greftin reddine neden olacağı için her nakil öncesinde mutlaka yapılması gereken bir testtir. Başarılı böbrek nakillerinde negatif CDCXM şartı aranır. (Patel R ve Terasaki PI. 1969; Bostock IC ve ark., 2013). Uygun vericileri saptamak için kullanılan CDCXM testi ucuz ve hızlı bir test olmasından dolayı tercih edilen bir testtir (Montgomery RA. ve ark.,2018).

1969 yılında Patel ve Terasaki ilk kez alıcının serumunda donöre spesifik antikorları göstermiştir. Bu antikorların da hiperakut rejeksiyon gelişimine neden olduğunu göstermiştir. Terasaki yöntemi, alıcının serumu ve komplemanın verici lenfositlerin üzerine eklenerek, komplemana bağımlı antijen-antikor etkileşiminin lenfosit parçalanması ile sonuçlanan sitotoksik bir yöntemdir. Alıcı serumunda donöre spesifik anti-HLA antikorları varsa vericinin lenfositlerinin yüzeyindeki HLA moleküllerine bağlanarak antijen-antikor kompleksi oluşur. Bu komplekste komplemanı aktive ederek, komplemanın yardımıyla hücre parçalanması gerçekleşir (Patel R. ve Terasaki PI. 1969). Acridine orange boyasıyla da parçalanmış hücreler boyanır ve immünfloresan invert mikroskobu ile tespit edilir. Parçalanmış hücrelerin oranına göre çapraz eşleşmenin gücü derecelendirilir (Montgomery RA ve ark.,2018). CDCXM çaprazlama testinin sonucu pozitif çıkarsa dithiothreitol (DTT) eklenerek test tekrar edilir. IgM ve IgG ayrımı yapılır. DTT, ortamda bulunan IgM'in pentamer yapısındaki disülfid bağlarını kopararak IgM antikorlarından kaynaklanan pozitifliği giderirken, DTT uygulamasından önce ve sonraki sonuçların ikisi de pozitifse IgG yapısındaki donöre spesifik antikor varlığını gösterir. Bu durumda böbrek nakli yapılamaz (Shrestha B M. 2014).

Negatif CDCXM ve negatif PRA başarılı nakillerde gereklidir. Ancak PRA pozitif olan hastalarda, bu antikorların bir veya birkaçının vericinin antijenlere yönelik olduğu saptanmasına rağmen CDCXM testinin sonucu negatif saptanabilir. CDCXM testinin

pozitif çıkması beklenirken antijenin düşük titrelerde olması ve komplemanı aktive etmemesi gibi nedenlerle CDC testinin sonucu negatif saptanabilir (Crespo M ve ark., 2001; Pratschke, J ve ark., 2016) Bu da hiperakut rejeksiyona, birkaç gün sonra fonksiyonel greftte oluşan antikor aracılı rejeksiyona neden olur. Bu nedenle nakil öncesinde CDCXM testinin dışında, CDCXM testine göre daha duyarlı ve özgül olan FCXM ve Lumineks çaprazlama testi kullanılmalıdır (Colombo MB ve ark., 2007).

Akım Sitometri (Flow Sitometri) Metoduyla Çapraz Karşılaştırma (FCXM) Yöntemi

Anti-HLA antikor taraması için kullanılan bu testte alıcı serum verici lenfositleri ile muamele edilir. Vericinin lökositleri floresan belirteçler ile işaretlenir. T hücre varlığı için CD3 floresan ile işaretlenir. B hücre varlığı için CD19/CD20 floresan ile işaretlenir. T ve B hücre belirteçleri ile işaretlendikten sonra hastada bu hücrelere yönelik antikor varlığı, ikinci bir insan antikoruna karşı reaksiyon veren floresan işaretli antikor ile işaretlenerek belirlenir. Bunun için öncelikle serumda anti-HLA antikorunun varlığında spesifik HLA sınıf I ve sınıf II IgG tipi antikorların oranını belirlemek için HLA antijenleri florokrom içeren anti insan IgG ile inkübe edilir. Ardından HLA' ya bağlı anti-HLA antikorları akım sitometri cihazı kullanılarak tespit edilebilir (Abbas AK ve ark., 2011; Montgomery R A ve ark.,2018). Akım sitometri cihazında her bir hücre lazer demetinin içinden geçerken, lazer ışığı ve hücreler tarafından yayılan floresan ışığı bir araya getirilip, optik filtreler ve aynalar ile farklı dalga boylarına ayrılarak sinyallere dönüştürülür. Bu sinyaller de ekrana histogram şeklinde aktarılır. Bu yöntemle hücrelerin immünofenotipi ve hücre canlılığı hakkında bilgi toplanabilir (Delgado JC ve ark., 2008; Hwang HS ve ark., 2009).

T hücreleri sadece sınıf I antijenlerini eksprese eder. B hücreleri ise sınıf I ve sınıf II HLA antijenlerini eksprese ederler. Sınıf I antijenleri B hücrelerinde T hücrelerine göre daha fazla eksprese edilmektedir. T hücre çaprazlama testi sonucu pozitif ise hastada vericinin HLA sınıf I antijenlerine karşı donör spesifik antikor olduğunu gösterir. B hücre testi sonucu pozitif ve T hücre çaprazlama testinin sonucu negatif ise hastanın serumunda HLA sınıf II antikorları bulunabilir veya düşük titrede HLA sınıf I antikorları bulunabilir. (Shrestha B M. 2014).

Lumineks (Boncuk Bazlı) Yöntemiyle Çapraz Karşılaştırma Yöntemi

Lumineks yöntemiyle çapraz karşılaştırma testinin temel prensibi vericiden elde edilen HLA sınıf I ve sınıf II antijenlerine bağlanan IgG antikorlarını tespit etmek için solid faz olarak antijenle kaplı boncukları kullanan bir floroanalizör sistemdir. Luminex corp. tarafından geliştirilen bu yöntemde, kompleman aktivasyonuna bağlı olmaksızın anti-HLA antikorların sınıfı saptanabildiği için bu test diğer çaprazlama testlerine üstünlük sağlamaktadır. Farklı renklerde ve derecelerde florofor ile boyanmış floresan özelliği bulunan antijen kaplı boncuklar (polistiren küreler), hasta serum örneği ile inkübe edilir. Bağlanmamış antikorları uzaklaştırmak için boncuklar yıkanır. Anti-insan IgG antikoruna eklenir. İnkübasyon sonrasında Lumineks cihazında her boncuktan alınan sinyal yoğunluğu analiz edilir (Colombo M B ve ark., 2007; Picascia A ve ark., 2012; Guichard-Romer A ve ark., 2016).

2.7. Nakil Sonrası Değerlendirme ve Böbrek Fonksiyon Bozukluğu

Böbrek nakli sonrası ilk haftalarda transplante edilen böbreğin işlevine bağlı olarak hastalara nasıl bir tedavi şekli uygulanacağına karar verilir. Buna göre nakil sonrası böbrek fonksiyonuna göre hastalar başlıca 3 gruba incelenir:

2.7.1. Optimal (Çok İyi) Böbrek Fonksiyonu

Böbrek nakli sonrası ideal greft fonksiyonunun göstergesi; idrar çıkışının normal olması, serum kreatinin düzeyinin hızla düşmesi (serum kreatinin seviyesi 2.5 mg/dl'nin altına düşmesi) ve diyalize gerek duyulmamasıdır. Nakil sonrası ilk bir hafta içerisinde hasta sabit böbrek fonksiyonuna sahip olur. Bu hastaların günlük idrar hacmi ve serum kreatinin seviyelerinin takibi erken rejeksiyonu görmek açısından gereklidir. İmmünolojik olarak uygun canlı vericiden nakil olan hastaların nakil sonrası dönemleri böyledir. Ancak kadavradan nakil olan hastaların %30-50'si bu nakil sonrası dönemi yaşar (Danovitch GM. 2003).

2.7.2. Yavaşlamış Greft Fonksiyonu

Böbrek nakli sonrası ilk haftada greft fonksiyonu yavaş olan hastaların serum kreatinin seviyelerindeki günlük düşüşleri (serum kreatinin değerlerinin 3 mg/dl veya üzerinde) azdır. Bu hasta grubunun böbrek fonksiyonları nakil sonrası ilk bir iki hafta içerisinde normale dönmez. İdrar hacmi ve günlük serum kreatinin konsantrasyonlarının takibiyle

böbrekte oluşabilecek komplikasyonlar izlenebilir. Bu hastalarda diyaliz ihtiyacı olmaması tanıda mutlaka olması gereken bir şarttır (Shoskes D A, Halloran P F. 1996; Danovitch GM. 2003). Yavaşlamış greft fonksiyonlarının nedenleri arasında siklosporin ya da takrolimus toksisitesi ile de artabilen akut tübüler nekroz (ATN) yatmaktadır. ATN, immünolojik ve nefrotoksik etkilerinin birlikteliği ile meydana gelen iskemik bir hasardır. Günler ya da birkaç hafta içerisinde kendiliğinden düzelebilen selim seyirli bir durumdur (Danovitch GM. 2003).

2.7.3. Gecikmiş Greft Fonksiyonu (GGF)

Böbrek nakli sonrası böbrek fonksiyonlarının bozulması, böbrek fonksiyon testlerinin 2-3 günde normale dönmemesi veya nakil sonrası hastanın diyaliz ihtiyacının devam etmesi GGF'nin göstergeleridir. GGF'nin nedenleri arasında prerenal dönemdeki hipotansiyon, hipovolemi gibi nedenler, postrenal dönemdeki idrar yolunda obstruksiyona neden olabilecek nedenler ve renal dönemdeki akut hümorale/hücresele rejeksiyon, primer hastalığın tekrarı, akut tübüler nekroz, kalsinörin toksisitesi, hemolitik üremik sendrom gibi nedenler yer almaktadır. Ayrıca hastada ölçülen yüksek PRA seviyesi, hasta ile verici arasındaki HLA uyumsuzluk oranı, verici böbrek kalitesi, nakilden önce hastaya yapılan diyaliz cinsi ve süresi GGF'nin diğer nedenleri arasındadır. Bu nedenlerin tümü hastanın tedavisinin yönlendirilmesi bakımından önemlidir (Shoskes D A, Halloran P F. 1996; Danovitch GM. 2003). GGF canlı vericiden yapılan nakiller daha az görülür ve bu durumun görülmesi ciddi komplikasyonlara işaretir (Danovitch GM. 2003). GGF böbrek nakli hastalarında akut rejeksiyon için yüksek risk faktörüdür (Shoskes D A ve Halloran P F. 1996).

2.8. Soğuk İskemi Zamanı

Soğuk iskemi zamanı, kadavradan alınan böbreğin alıcıya nakledilinceye kadar geçen sürede, doku fonksiyonunu korumaktır. Bunu için kullanılan koruyucu sıvıların elektrolit yapısı, hücre içi elektrolit yapısına yakın olmalıdır ki, hücre ödemi ve hücre harabiyetini engelleyerek en iyi organ fonksiyonunu sağlamaktır. Soğuk iskemi zamanı 24 saatten daha uzun olan böbrek nakli hastalarında akut rejeksiyon riski yüksektir. (Hardinger KL ve ark., 2013).

2.9. Tekrarlayan Böbrek Nakil Öyküsü

Tekrarlayan böbrek nakil öyküsü olan hastalarda akut rejeksiyon riski ilk kez nakil yapılan hastalara göre yüksektir (van Saase J L ve ark., 1995; van den Hoogen ve ark., 2015).

2.10. Tekrarlayan Akut Rejeksiyon Atakları

Kronik rejeksiyonun en önemli risk faktörü önceden geçirilmiş akut rejeksiyon ataklarıdır (van Saase J L ve ark., 1995). Özellikle 2 ile 6 aydan sonra gelişen geç akut rejeksiyon atakları, ilk 3 ayda gelişen akut rejeksiyon ataklarına göre kronik rejeksiyon riskini daha fazla arttırmaktadır. (Almond P S ve ark., 1993).

2.11. Böbrek Nakli Sonrası İmmünsüpresyon Tedavisi

Böbrek naklinde alıcı ile verici arasındaki doku uyumu ne kadar fazla olursa erken dönemdeki akut rejeksiyon ve geç dönemdeki kronik rejeksiyon olasılığı o kadar düşük olur. Doku uyumunun tam olmadığı durumlarda ise nakil başarısını arttırmak için immün sistemi baskılayıcı ilaçlar kullanılarak nakil sonrası transplante edilen böbreğin reddi önlenmeye çalışılır. Özellikle erken dönemdeki rejeksiyon riskini azaltmak için ilaç dozları başlangıçta daha yüksek tutulur (Aw MM. 2003; Hardinger K L. 2006). Günümüzde böbrek nakli sonrası tedavisinde kullanılan immünsüpresif ilaçlar temelde 2 gruba ayrılır. Aşağıda belirtilen immünsüpresif ilaçlar bu tez projesine dahil edilen hastalara uygulanan ilaçlar olup etki mekanizmalarına göre gruplandırılmışlardır:

1. İndüksiyon tedavisi: Böbrek naklinden hemen sonra (ilk 1-2 hafta) güçlü ajanlar kullanılarak yapılan tedavi şeklidir. Kortikosteroidler, poliklonal veya monoklonal antikorlar kullanılır.

Kortikosteroidlerin temel etki mekanizması tam olarak anlaşılmamakla birlikte, makrofajlar, T hücreleri, B hücreleri ve endotel hücrelerini etkileyerek immünsüpresif ve anti inflamuar etki oluştururarak immünosüpresyon tedavisinde kullanılan temel ilaçlardan birisidir. Antijenin tanınmasını, işlenmesini ve sunumunu inhibe ederler. (Morales J M. 2005). Yani steroidler immün aktivasyonun tüm aşamalarını baskılamada etkindirler. Özellikle nükleer faktör aracılığıyla IL-1,2,3,6 etkinliğini inhibe etmesi ve IL-2 salınımını durdurması ile lökosit migrasyonunu inhibe eder. IFN- α 'nın

transkripsiyonunu inhibe ederek hücre proliferasyonunu engellerler. Ayrıca ASH'den özellikle DC'nin fonksiyonlarını inhibe ederler. Steroidler nakil günü veya öncesinde birkaç gün yüksek dozda verilir. Sonrasında zamanla doz azaltılarak idame tedavisine devam edilir (Gaston RS. 2001; Danovitch GM. 2003). Steroidlerin immünsupresyonu sağlamanın yanında hipertansiyon, diyabet, infeksiyonlara yatkınlık, aseptik nekroz, osteoporoz gibi olumsuz yan etkileri oldukça fazladır. (Tang IY ve ark., 2007). Kortikosteroidlerin kullanımında düşük immünolojik riski olanlarda veya indüksiyon tedavisi alanlarda ilk hafta sonunda kesilebilir, daha ileri dönemde kesilmesi akut rejeksiyon riskini çok artırır.

Poliklonal antikorlardan Anti-Timosit Globulin (ATG) kullanılır. İnsan lenfoid hücrelerinin hayvanlara verilmesi sonucu insan lenfositlerine karşı sensitize edilmiş tavşan veya at serumlarından izole edilen güçlü immünsupresif antikorlardır. Etki mekanizması tam olarak anlaşılmamakla birlikte poliklonal antikorlar bir dizi T hücre belirtecine yönelmiş sitotoksik antikorlardır. Periferik lenfositlere özellikle T lenfositlerine bağlanarak onların, fonksiyonlarını baskılayarak ya da yok ederek etki gösterirler. Komplemana bağlı lenfosit ölümüne ya da antikora bağlı sitotoksikiteye yol açarlar (Morales J M. 2005). Böbrek nakli sonrası indüksiyon ya da akut rejeksiyonun tedavisinde kullanılırlar (Gaston RS. 2001; Bos, I. G ve ark., 2002; Danovitch GM. 2003; Stegall, M. D. ve ark., 2012).

Monoklonal antikorlardan Basiliximab kullanılır. Etki mekanizması ise T-lenfositlerin yüzeyinde antijen sunumuna cevap olarak oluşan IL-2 reseptörlerinin α -zincirine (CD25 antijeni) karşı geliştirilmiş bir antikordur. IL-2 T hücre proliferasyonu için sinyal görevi görür. IL-2 reseptörünün α -zincirini hedefleyen anti-CD25 monoklonal antikorun reseptöre bağlanmasıyla IL-2 aracılı yanıtlar bloke olur. Böylece T-hücre engellenir. Basiliximab sitokin salınımına neden olmaz. Akut rejeksiyonu önlemek amacıyla tasarlanmış ilaçtır. Maliyetinin yüksek oluşu bu ilacın en önemli dezavantajını oluşturur (Kapic E ve ark., 2004; Becker, L. E ve ark., 2013).

Akut rejeksiyon riski yüksek olan hastalarda ATG kullanımı akut rejeksiyonun önlenmesinde Basiliximabtan daha etkili olduğunu gösteren çalışmalar vardır (Brennan D C ve ark., 2006; Brennan D C, Schnitzler M A. 2008; Hardinger K L ve ark., 2009).

2. İdame tedavi: Böbrek nakli sonrası idame tedavisi için kortikosteroidler, kalsinörin inhibitörleri, mTOR inhibitörleri, anti-proliferatif ilaçlar kullanılır.

Kalsinörin inhibitörleri olarak siklosporin A (CsA) ve Takrolimus (FK506) kullanılmaktadır. Bu ilaçlar böbrek nakli sonrası immünsüpresif tedavinin temel taşı oluştururlar. Bu iki ilaç biyokimyasal olarak farklıdır, ancak etki mekanizmaları ve yan etkileri birbirine benzerdir. Kalsinörin inhibitörlerini diğer immünsüpresif ilaçlardan ayıran en önemli özellikleri immün yanıtı seçici olarak inhibe etmeleridir (Morales J M. 2005).

CsA'nın temel etki mekanizması siklofilin denilen spesifik T hücre yüzey reseptörlerine bağlanarak hücre içine girer ve aktive olur. Hücre içi kalsiyum kullanımını bloke ederek, IL-2 yapım ve sekresyonunu engeller. Böylece antijene cevap olarak oluşan ve kalsiyum kullanımını gerektiren T hücre aktivasyonu ve olgunlaşması durur. (Ponticelli C ve ark., 2004)

Takrolimus ise CsA ile etki mekanizması benzer olmakla birlikte daha güçlü (CsA'dan 10 ile 100 kat arası daha etkili) ve yan etkileri daha az olan immünsüpresiftir (Webster A C ve ark., 2005). T lenfosit aktivasyonunu inhibe eder ve IL-2 gen transkripsiyonunu önler (Morales J M. 2005). Takrolimus kullanımı ile CsA'ya göre akut hücresel rejeksiyon sıklığında azalma ve greft sağkalımın da iyileşmeler görülmüştür (Webster A C ve ark., 2005; Hardinger KL ve ark., 2013). Ancak bu iki ilaç nefrotoksiktir ve kronik allograft disfonksiyonuna neden olabilir (Morales J M. 2005).

Mammalian target of rapamycin (mTOR) hücre bölünmesinin düzenlenmesinde anahtar rol oynayan bir serin/ treonin protein kinazdır. Bu enzim rapamisin tarafından inhibe edilebildiği için mTOR olarak adlandırılmaktadır (Danovitch GM. 2003). mTOR inhibitörleri olarak Sirolimus (Rapamisin=RAPA) ve Everolimus kullanılmaktadır. Her iki ilaç da IL-1, -2, -3, -4, -6, -7, -12 ve -15 gibi sitokin sinyallerini ve mTOR yolağındaki kalsiyum bağımlı ve bağımsız yolları inhibe ederek T hücre proliferasyonunu bloke ederler. Ayrıca Ayrıca B hücrelerinin antijen ve sitokinle sağlanan proliferasyon ve farklılaşmasını da engeller. Benzer etkiyi endotelial hücreler, fibroblastlar ve tümör hücreleri üzerinde de gösterirler (Taylor AL ve ark., 2005).

Diğer immünsüpresif ilaç grubu ise anti-proliferatif ilaçlar grubu olup Mikofenolat Mofetil/Mikofenolik Asit (MMF/MFA) kullanılmaktadır. MFA, MMF'nin aktif formu olup de novo pürin sentezinde hız sınırlayıcı enzim olan inozin monofosfat dehidrogenaz enziminin seçici ve geri dönüşümlü inhibitörüdür (Land W. ve Vincenti F. 2005). Uyarılmış T ve B lenfositlerin pürin nükleotid sentezini inhibe ettiği için selektif spesifik etkili bir immünosüpresiftir. T ve B lenfositlerinin proliferasyonunu engellemenin yanında antikor oluşumunu önlemekte ve sitotoksik T hücre oluşumunu inhibe etmektedir. Lenfositler üzerindeki endotel selektin yapımını baskılayarak adezyon moleküllerinin ekspresyonunu da azaltır. Hücrelerin vasküler endotelyal hücrelerine yapışmasını engeller (Srinivas TR ve ark., 2003; Morales J M. 2005). MMF kullanan hastalarda azatiyopürin kullananlara oranla transplant sonrası erken ve geç dönemde akut rejeksiyonun daha az geliştiği bilinmektedir.

Günümüzde kullanılan bu immünsüpresif tedavilerle hedeflenen sağkalım 10 yıldır. Ancak kullanılan bu ilaçların doza bağlı yan etkileri vardır. Bu yan etkilerinin dışında non spesifik yan etkileri de vardır. Hücresel immün cevabın baskılanmasıyla oluşan bu yan etkilerinin başında ise artan malignite riski ve enfeksiyonlardır. Bu nedenle immün baskılayıcı ilaç tedavi rejimleri sinerjistik etki oluşturarak dozları düşürmek ve yan etkileri azaltmak üzere tasarlanmıştır (Becker, L. E ve ark, 2013; Pratschke, J ve ark., 2016).

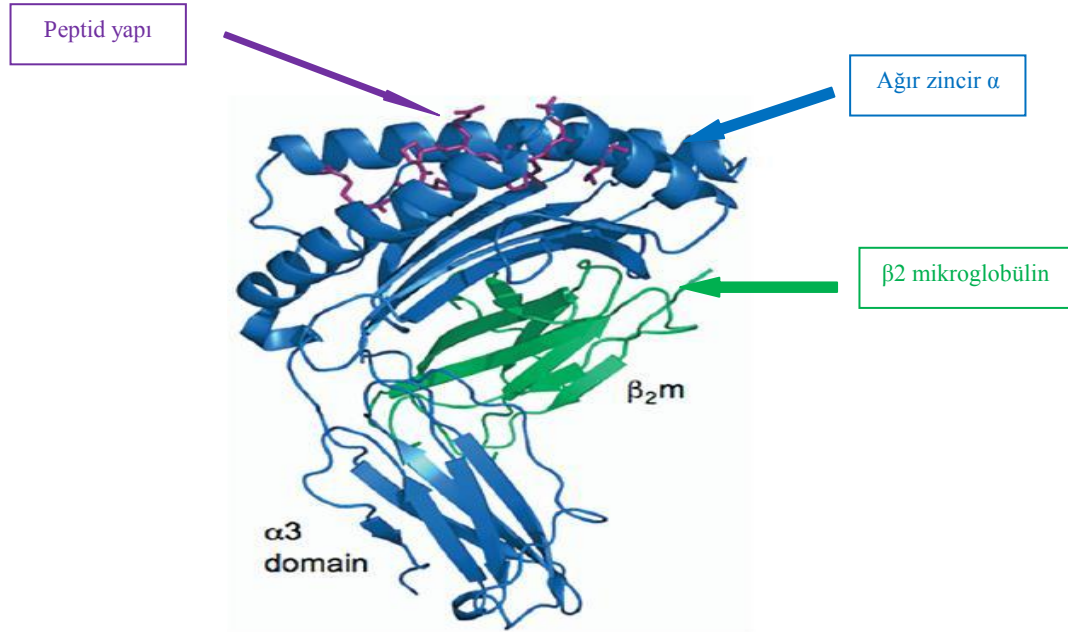
2.12. HLA-G Nedir?

Klasik olmayan HLA sınıf I moleküllerinden biri olan HLA-G'nin, immün cevabın baskılanmasında ve uzun süreli immün toleransın oluşmasında etkin olduğu bilinmektedir (Ishitani A. ve Geraghty DE. 1992; Hiby SE ve ark., 1999; Le Gal FA ve ark., 1999). HLA-G, temel olarak ekstravillous sitotrofoblastlarda eksprese edilir ve fetusun maternal immün denetiminden korunmasına yardımcı olur (Durmanova V ve ark., 2016). HLA-G ilk kez Ishitani A. ve Geraghty DE tarafından 1987 yılında rapor edilmiş olup (Ishitani A. ve Geraghty DE. 1992), ilk olarak uterin NK (Natural killer) hücreleri üzerinde olan inhibitör reseptörlerinin ligandı olarak tanımlanmış ve böylece sitotrofoblast hücreleri üzerinde maternal-fetal toleransa katkı sağladığı gösterilmiştir. (Le Gal FA ve ark., 1999). HLA-G, yetişkin ve embriyonik insan dokusunda düşük

polimorfizm, sınırlı bir protein çeşitliliği ve sınırlı doku ekspresyonu göstermesiyle, hem membrana bağlı hem de çözünebilir izoformlarının olmasıyla, kısaltılmış sitoplazmik kuyruk gibi özel bir molekül yapısına sahip olmasıyla (Heinrichs H. ve Orr H T 1990) ve immün toleransa sebep olan biyolojik özellikler göstermesiyle (Hviid TV ve ark., 2003;Rousseau P ve ark., 2003) diğer HLA sınıf I moleküllerinden ayrılır (Fainardi E ve ark., 2011;Donadi EA ve ark., 2011).

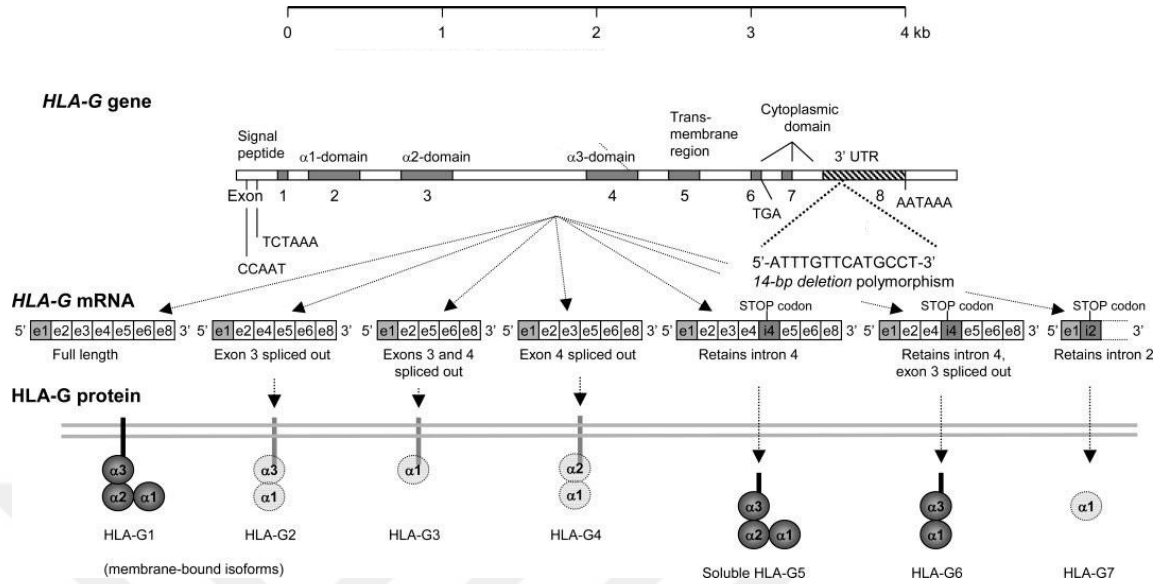
2.12.1. HLA-G Geni

HLA-G (HLA-G; Gen ID: 3135, MIM numarası: 142871) 6. kromozomun kısa kolu üzerinde (6p21.2-21.3) kodlanmış klasik olmayan MHC sınıf Ib HLA molekülüdür. Bu gen kodominant olarak eksprese edilir ve ekzon 6'da bir stop kodonu ile birlikte sekiz ekzon ve yedi introndan oluşur (Donadi EA ve ark., 2011; Menier C ve ark., 2010). Klasik HLA sınıf I moleküllerine benzer şekilde, ağır zincir- α ve 15. kromozomda kodlanan 12 kD molekül ağırlığında β_2 -mikroglobulin zincirinin birbirlerine kovalent olmayan bağlarla bağlanmasıyla oluşur (Clements CS ve ark., 2007; Donadi EA ve ark., 2011). Üç boyutlu kristal yapısı şekil 2.7.'de gösterilmiştir.



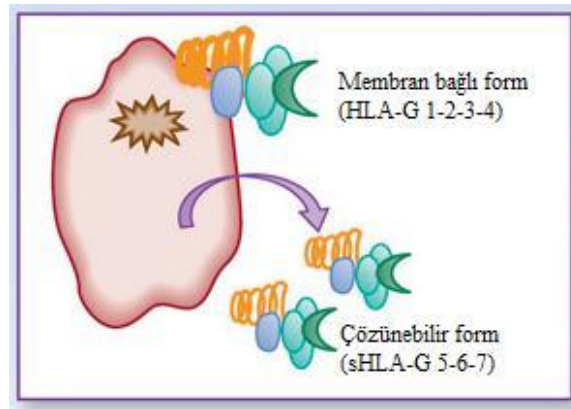
Şekil 2.7. HLA-G Üç Boyutlu Yapısı (Clements CS ve ark., 2007)

Genomik yapısı ise şekil 2.8.'de gösterilmiş olup *HLA-A** ve *HLA-F** arasındaki HLA bölgesinde yer alır. *HLA-G* 4170 bç uzunluğundadır. Sinyal peptidi ekzon 1 kodlar ve ER'a girince atılır. Ekzon 2, 3, 4 ise ekstraselüler $\alpha 1$, $\alpha 2$ ve $\alpha 3$ domainlerini kodlar. $\alpha 1$ ve $\alpha 2$ domainleri peptid bağlanma bölgelerini içermektedir. $\alpha 3$ domaini ise, sitotoksik lenfositlerindeki CD8 glikoproteinleri ile etkileşim halindedir. Lökosit Ig-benzeri reseptör I (LIR-1 veya ILT2) ve LIR 2 (veya ILT4) inhibitör reseptörleri için farklı bağlanma yerleri *HLA-G*'nin $\alpha 3$ bölgesinde bulunmaktadır. Ekzon 5 ve 6 ağır zincirin transmembran ve sitoplazmik domainlerini kodlar. *HLA-G* membran proteinlerinin tamamı transmembran bölge (ekzon 5) ile hücre membranına bağlanır. *HLA-G* Ekzon 6'daki dur kodonundan dolayı klasik HLA sınıf I moleküllerinden farklılık gösterir. Dur kodonundan dolayı sitoplazmik kısmında 30 aminoasidin translasyonu gerekirken 6 aminoasit translasyona uğrar. Bu eksik translasyon *HLA-G* sitoplazmik kuyruğunun fosforilasyon bölgesi olan serin birimini ve tirozin kinazın substratı olan tirozin birimini kaybetmesine neden olur (Bouteiller PL ve Mallet V. 1997). Bu durum *HLA-G*'nin hücre yüzeyinde uzun sürede eksprese olmasını ve döngüsünün yavaş olmasını açıklamaktadır. Ekzon 7 bölgesinde transkripsiyon olmazken ekzon 8 bölgesi 3'UT bölgesi ile ilişkilidir (Clements CS ve ark., 2007; Donadi EA ve ark., 2011; Gonzalez A ve ark., 2012). Ekzon 8'deki 3' UT bölgesinde bulunan ve en çok çalışılmış ins/del polimorfizmleri *HLA-G*'nin mRNA stabilitesini, mobilizasyonunu ve ekspresyonunu değiştirir (Donadi EA ve ark., 2011).



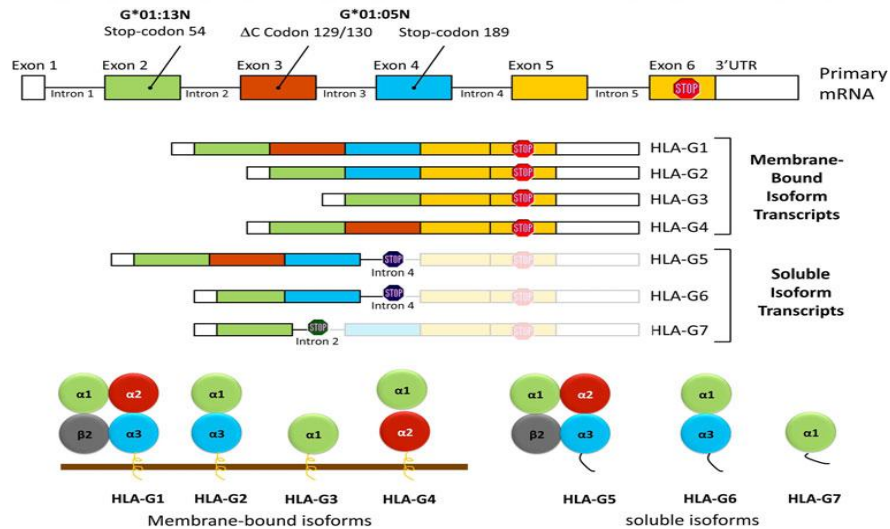
Şekil 2.8. HLA-G Genomik Yapısı (Hviid T V F. 2006)

Günümüzde 78 farklı aleli olan *HLA-G*'nin diğer HLA sınıf I antijenlerinden ayrılan en önemli özelliklerinden biri de genin primer transkriptinin alternatif uç birleşmesi sonucu 7 adet protein izoformu oluşmasıdır. mRNA'sının alternatif splicing'i sonucu farklı membran ve çözülebilir izoformları meydana gelmektedir. *HLA-G*'nin *HLA-G1*, *G2*, *G3*, *G4* mRNA formları membran bağımlı molekülleri (transmembrane domainler), *HLA-G5*, *G6*, *G7* izoformları ise çözülebilir molekülleri (sitoplazmik domainler) kodlamaktadır (Ishitani A. ve Geraghty DE. 1992; Fuji T ve ark., 1994; Kirszenbaum M ve ark., 1994; Paul P ve ark., 2000). *HLA-G*'nin membrana bağlı ve çözülebilir formları şekil 2.9.'de gösterilmiştir (Curigliano G ve ark., 2013).



Şekil 2.9. HLA-G Membran Bağlı ve Çözülebilir Formları (Curigliano G ve ark., 2013)

Bu HLA-G izoformları arasında membran bağlı HLA-G1 ve çözünür HLA-G5 en çok çalışılan ve fonksiyonel olarak en önemlileri olduğu düşünülen iki formdur (Donadi EA ve ark., 2011). HLA-G1, β 2-mikroglobulin ile ilişkili membrana bağlı klasik HLA molekülüne benzer yapıdaki izoformdur. HLA-G2 ekzon 3 tarafından kodlanır ve α 2 domaini içermez. Ekzon 2 ve ekzon 3 tarafından kodlanan HLA-G3 α 2 ile α 3 domainlerini içermez. Ekzon 4 tarafından kodlanan HLA-G4' de α 3 domainine sahip değildir. Çözünür HLA-G5 ve HLA-G6 izoformları ise HLA-G1 ve HLA-G2 ile benzer ekstraglobuler domaine sahiptirler. HLA-G5 ve HLA-G6 izoformları ekzon 5 tarafından kodlanan transmembran domaininin translasyonunu engelleyen intron 4'ü koruyan transkriptler tarafından üretilir. İntron 4' ün 5 ' bölgesi, bir durdurma kodonu üretilinceye kadar çevrilir ve böylece HLA-G5 ve HLA-G6 izoformlarının 21 aminoasitlik çözünebilir kuyruğu oluşur. HLA-G7 izoformu ise sadece iki amino aside bağlı olan α 1 domainine sahiptir (Fuji T ve ark., 1994; Ishitani A. ve Geraghty DE. 1992; Paul P ve ark., 2000; Creput C ve ark., 2003). Primer HLA-G mRNA'nın alternatif splicing sonucu izoformları şekil 2.10.'da gösterilmiştir (Donadi EA ve ark., 2011).



Şekil 2.10. HLA-G Protein Izoformları (Donadi EA ve ark., 2011).

2.12.2. HLA-G Ekspresyonu ve Fonksiyonu

Fizyolojik koşullarda, *HLA-G* gen transkripsiyonu birçok doku ve organda gözlenir. Ancak HLA-G proteinlerine translasyonu trofoblast, timus, kornea, tırnak matriksi, pankreas, eritroid ve endotel prekürsörlerle sınırlıdır ve temel olarak aktive olmuş

CD14+ monositler tarafından üretilmektedir (Le Bouetiler P ve ark., 2003; Schmidt CM ve ark., 1993;Jurisicova A ve ark., 1996). Bunun dışında fizyolojik olmayan koşullarda HLA-G proteinlerinin artmış ya da azalmış ekspresyonu, organ transplantasyonu, malignant transformasyonlar, viral enfeksiyonlar, inflamatuvar ve otoimmün hastalıklar sonrasında da görülür (Creput C ve ark., 2003). Transplantasyonlarda tolerans sağlanması ve inflamatuvar immün cevabın azaltılması açısından HLA-G antijenlerinin immünmodülatuar etki gösterdiği kabul edilmektedir (Rizzo R ve ark., 2012; Fainardi E ve ark., 2011).

Gebelik süresince amniyotik sıvıda ve maternal kanda da bulunan HLA-G proteinin ekspresyonu (Jurisicova A ve ark., 1996) normal koşullarda erkek ve gebe olmayan kadın plazmasında, renal tübüler epitelyal hücrelerde, kas liflerinde, akciğerde de olduğu belirlenmiştir. Buna bağlı olarak da insan allotransplantasyonunda *HLA-G* ekspresyonu doku parçalarının reddiyle az da olsa ilişkili olduğu gösterilmiştir (Wiendl H ark., 2001; Lila N ve ark., 2001;Creput C ve ark., 2003).

İmmün hücreleri düzenleyerek immün toleransı sağlayan HLA-G, B lenfosit, T lenfosit, perifer NK, monosit, makrofaj ve dendritik hücrelerde eksprese edilen ILT2, ILT4 reseptörleri ve KIR (Killer immünglobülin like reseptör) inhibitör reseptörlerinin ligandıdır. HLA-G inhibitör etkilerini bu reseptörler üzerinden gösterir. Lenfoid ve myeloid hücreler için ILT2, dendritik hücreler, makrofaj ve monositler için ILT4, ve NK ve CD8 hücreleri için ise KIR reseptörleri görev görmektedir (Brenol CV ve ark.,2012; Rizzo R ve ark., 2012; Baricordi R O ve ark., 2008; Carosella ve ark., 2011). HLA-G ILT2 ve KIR2DL4 reseptörleri üzerinden NK hücrelerinin sitotoksik fonksiyonlarını inhibe ederken, NK hücrelerinin proliferasyonu ise ILT2 reseptörü üzerinden inhibe olur. ILT2 ile CD8+ T hücrelerinin sitotoksik fonksiyonları ve proliferasyonu inhibe olurken, Fas-Fas ligand bağımlı bir mekanizma ile bu hücrelerin apoptozunu indüklemektedir. Ayrıca ILT2 ve 4 reseptörleri ile CD4+ T hücrelerinin alloreaktivite ve proliferasyonu inhibe olmaktadır. ILT4 aracılığı ile dendritik hücrelerin olgunlaşması ve antijen sunma kabiliyetleri inhibe edilir Ancak HLA-G ILT4 reseptörleri üzerinden regülatuar T hücrelerini indükleyici özelliğe sahiptir. (Souza AS ve ark., 2004; Curigliano G ve ark., 2013). Sonuç olarak HLA-G'nin immün sistemi baskılayıcı etkileri

şu şekilde sıralanabilir: CD8+Tc ve NK hücrelerinin aktivasyonunu inhibe etmeleri ve CD8+Tc hücre aracılı apopitozu önlemeleri, CD4+ T hücre proliferasyonunu inhibe etmeleri ve bu hücrelerin immünsupresif özelliklerini baskın hale getirmeleri, ASH'lerin ve B hücrelerinin farklılaşmasını inhibe etmeleri TH1/TH2 dengesini TH2 yönüne kaydırmaları, regülatuar T hücrelerini indüklemeleridir (Rizzo R ve ark.,2012;Carosella ED ve ark., 2011;Carosella ED ve ark., 2008;Favier B ve ark., 2007).

2.12.3. HLA-G'nin Böbrek Nakliyle İlişkisi

HLA-G'nin kısa sitoplazmik kuyruğa sahip olmasıyla ER'da daha uzun süre durması ve bir endositoz motifi olmadığı için molekülün ömrününün uzaması özellikle immün sistem hücreleri ile uzun süreli etkileşimine izin verir. (Park B ve ark., 2001; Park B ve Ahn K. 2003). Majör immün kontrol noktası molekülü HLA-G, tolerojenik özellikleri nedeniyle immünomodülasyonda kilit rol oynar (Creput C ve ark., 2003; Creput C, Durrbach A. ve ark., 2003). Çeşitli kanıtlar, HLA-G'nin, immün yanıtın baskılanmasında önemli bir rol oynayan, tolerojenik bir molekül olarak rolünü desteklemektedir (Lila N ve ark., 2000; Creput C ve ark., 2003; Rouas-Freiss N ve ark., 2007; Crispim J.C ve ark., 2008). Bu özelliklere bağlı olarak yapılan çalışmalarda HLA-G'nin böbrek allogreft sonuçlarını tahmin etmede erken prognostik biyobelirteç olarak aday molekül olarak düşünülmüştür. İlk defa Lila ve arkadaşları tarafından HLA-G'nin allotransplantasyonda olumlu bir rolü olduğu kanıtlanmıştır (Lila N ve ark., 2000). 2003 yılında Creput C ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da karaciğer/böbrek nakli yapılan hastaların serumunda yüksek oranda sHLA-G tespit edilmiş ve bu hastaların nakil sonrası daha iyi greft kabulüyle ilişkili olduğu görülmüştür (Creput C ve ark., 2003). 2006 yılında yapılan çalışmada, kronik böbrek rejeksiyonu olan hastalara kıyasla rejeksiyona uğramayan hastalarda sHLA-G seviyeleri anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur ki bu çalışmada böbrek rejeksiyonu olmayan hastalardaki sHLA-G dimerlerinin yüksek seviyeleri aynı zamanda monositlerdeki membrana bağlı HLA-G formunun artmış ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir (Luque J ve ark., 2006). HLA-G'nin böbrek, karaciğer, kalp ve akciğer gibi insan allotransplantasyonunda koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (Lila N ve ark., 2002; Sheshgiri R ve ark., 2008; Rebmann V ve ark., 2009; Zarkhin V ve ark., 2010). Nakil hastalarında, HLA-G'nin greft reddinde immün sistemin birincil hedefi olan hücrelerde (yani endomiyokardiyal hücreler, biliyer epitel hücreleri ve

tübüler epitel hücreleri) tespit edilmesiyle daha iyi greft kabulünü teşvik eden immün düzenleyici olarak adlandırılmasına neden olmuştur (Creput C., Durrbach A ve ark., 2003; Crispim J.C ve ark., 2008; Lila N ve ark., 2002).

Racca ve ark. yaptığı çalışmada 29 böbrek nakli hastanın serumlarındaki sHLA-G seviyelerine bakıldığında stabil böbrek fonksiyonuna sahip 10 hastanın periferik mononükleer hücrelerinde HLA-G1 mRNA düzeylerinde artış (ort:1.07) görülürken, kronik rejeksiyon gösteren 10 hasta (ort:0.55) ve akut rejeksiyon gösteren 9 hasta (Ort:0.78) hastanın mRNA düzeylerinde stabil böbrek fonksiyonu gösteren gruba göre azalış görülmüştür. Bu, HLA-G1 ekspresyonunun böbrek nakli olup rejeksiyona uğramayan hastalarda greftin korunmasına yönelik bir mekanizma olduğunu göstermektedir (Racca A ve ark., 2009).

Rebmann ve ark. 2009 yılında böbrek ve pankreas/böbrek nakli sonrası hastalarda serum sHLA-G'nin zaman sürecini gözlemlemiş ve rejeksiyon olan hastaların sHLA-G değerlerinin rejeksiyona uğramayan hastalara kıyasla anlamlı derecede azaldığını bulmuşlardır. Bu çalışma akut rejeksiyon hastalarında serum sHLA-G düzeylerinin normal böbrek fonksiyonu olan hastalardan daha düşük olduğu diğer çalışmalarla da kanıtlanmıştır (Jin Z-K ve ark., 2012; Xiao L ve ark. 2013). Bununla birlikte pediatrik böbrek nakli hastalarında nakil sonrası greft kabulü ve akut rejeksiyon arasında serum sHLA-G düzeylerinde fark saptanmamıştır (Zarkhin V. ve ark., 2011). Bu çelişkili sonuçlar nedeniyle akut greft reddi olan alıcılarda böbrek nakli sonrası geçen farklı aralıklarda serum sHLA-G protein seviyeleri ile greft biyopsi örneklerindeki HLA-G transkriptlerinin ekspresyonu karşılaştırılmıştır. Bu çalışmayla ilk kez akut rejeksiyon hastalarında transplantasyon sonrası çeşitli zaman aralıklarında serum sHLA-G düzeyleri ile biyopsi HLA-G transkript değerleri arasında korelasyon olduğu ve ayrıca düşük serum sHLA-G seviyelerinin greft reddi ile ilişkili ($p = 0,0058$) olduğu doğrulanmıştır. Bu gözlem, sHLA-G'nin seviyesinin artmasının allogreft kabulüne katkıda bulunabileceği varsayımını desteklemektedir (Poláková K ve ark., 2015).

Organ ve doku nakli grubunun 2014 yılında yaptıkları çalışmalarda, transplantasyonda 7 HLA-G izoformundan en çok sHLA-G5'in çalışıldığını ve artan serum sHLA-G seviyelerinin düşük greft reddi oranı ile ilişkili olduğunu, ancak hastanın prognozu için

kantitatif bir standart nokta olmadığını göstermişlerdir. Ayrıca, HLA-G ekspresyonunun, kemik iliği, böbrek ve karaciğer transplantasyonlarında azalmış T-hücre cevabı ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Ancak kesin HLA-G izoformları bildirilmemiştir. HLA-G1 mRNA'nın ve sHLA-G'nin saptanması, greft reddi olmayan hastalarda greftin ömrü ile ilgili olduğu belirtilmiştir (Pabón M A ve ark., 2014).

Böbrek nakli sonrası immün toleransı indükleyip greft kabulünü sağlayan HLA-G'nin nakil sonrası alınan immünsüpresif ilaçlar üzerine olan etkisine bakıldığında prograf ve siklosporin veya rapamisin sHLA-G düzeylerini etkilememiştir. Kronik rejeksiyona giden hastalarda stabil greft fonksiyonuna sahip hastalara kıyasla anlamlı derecede düşük bir sHLA-G seviyesi vardı. Ayrıca bu çalışmada donör tipi, enfeksiyon veya posttransplantasyon süresinin sHLA-G düzeylerine etkisi bulunmamıştır (Farid E ve ark., 2015).

Böbrek nakli alıcılarında transplantasyon sonrası erken dönemde sHLA-G düzeyi ile allogreft reddi/ATN ilişkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada 76 böbrek nakli alıcısından nakilden önce, nakilden sonraki 3.gün ve 7.günde sHLA-G düzeyi analiz edilmiştir. Üç farklı zamanda alınan serumlardaki sHLA-G seviyeleri akut rejeksiyona giden hastalarda ve reddi olmayan hastalar arasında farklılık göstermedi. Ancak ATN'li hastalarda nakilden sonraki 3.günde ve 7.günde sHLA-G seviyeleri anlamlı derecede yüksek (ATN'li hastalarda sHLA-G seviyesi 3.günde 16.3 U / ml (6.32 U / ml, 24.01 U / ml) $p = 0.018$, 7.günde 12.47 U / ml (4.33 U / ml, 21.0 U / ml) $p = 0.044$) bulundu. Bu çalışmada temel bulgu, böbrek nakli sonrası yüksek sHLA-G seviyelerinin akut tübüler nekroz ile ilişkili olduğudur. Ve bu çalışmanın nakil sonrası sHLA-G'nin akut tübüler nekrozla ilişkisini öneren ilk rapor olduğu bildirilmiştir (Krongvorakul J ve ark., 2015). Racca ve ark. 2009 yılında yapmış olduğu çalışmada da akut rejeksiyon hastaları ile ATN hastalarının böbrek biyopsilerindeki HLA-G1 ekspresyon seviyelerinin karşılaştırıldığında akut rejeksiyon hastalarının HLA-G1 seviyelerinin ATN'dekinden daha yüksek olduğunu göstermişlerdir (Racca ve ark., 2009).

Disfonksiyonel greft biyopsi örneklerinde HLA-G mRNA ekspresyon seviyelerinin böbrek allogreftlerin histolojik durumu ile ilişkilendirmesi amacıyla yapılan çalışmada

65 böbrek nakli alıcısından elde edilen 84 biyopsi örneği incelenmiştir. 52 örnek akut rejeksiyonu gösterirken, 32 örnekte herhangi bir rejeksiyon kriteri yoktur. Bu hastalar rejeksiyona gitmeyen greft fonksiyon bozukluğu olan ATN ve glomerulnefrit tanısı alan gruptur. Akut rejeksiyon tanısı alan hastalarının 23'ü AMR, 16'sı TCMR ve 13'ü kombin AMR ve TCMR tanılıdır. HLA-G mRNA transkript seviyesi böbrek fonksiyon bozukluğu olup rejeksiyona gitmeyen gruba göre rejeksiyon grubunda daha yüksek görülürken ($p=0.0003$), bu gruptan da kombin AMR ve TCMR rejeksiyon grubunda daha yüksek ($p=0.0005$) görülmüştür. Böbrek naklinden 1-3 ay sonra (erken nakil döneminde) hem rejeksiyon hasta grubunda hem de rejeksiyona gitmeyen hasta grubunda HLA-G mRNA seviyesi düşüktür ancak 3 ay sonra HLA-G mRNA seviyeleri artmıştır. Ayrıca, antikor indüksiyon tedavisinin HLA-G ekspresyonunu azaltabildiği ($p=0.0004$) ve kadın alıcılarda HLAG transkriptlerinin seviyesi erkek alıcılardan daha yüksek olduğu görülmüştür ($p=0.003$). HLA-G ekspresyonunda gözlenen cinsiyet farkı, belirli hormonların (örneğin progesteron) etkisiyle açıklanabileceği düşünülmüştür. Bununla birlikte bu çalışmada hasta yaşının, vericisiyle HLA uyumsuzluk sayısının ve PRA skorunun HLA-G mRNA ekspresyonu üzerine anlamlı bir etkisi bulunmadı. Bu çalışma böbrek greftlerinde total HLA-G mRNA ekspresyonunun, transplantasyon yapılan böbreğin klinik durumu, transplantasyon sonrası geçen süre, cinsiyet ve antikor indüksiyon tedavisi gibi farklı faktörlerden etkilenebileceğini göstermiştir (Zuzana Ž ve ark., 2015).

Membran HLA-G (mHLA-G) ve reseptör ILT2'nin lenfosit üzerinde ekspresyonunu incelemek ve böbrek nakli sonrası rejeksiyon ve sitomegalovirüs (CMV) enfeksiyonu ile ilişkilerini bulmak amacıyla yapılan çalışmada 88 böbrek nakli alıcısının lenfositlerinde mHLA-G ve ILT2'nin ekspresyonu akım sitometrisi ile tespit edildi. Böbrek nakli sonrası, T ve B lenfositleri mHLA-G ekspresyon oranının, rejeksiyon grubunda en düşük iken ($p<0.01$), CMV pozitif grupta, mHLA-G'nin T ve B lenfositlerde ekspresyonunun en yüksek olduğu görülmüştür ki rejeksiyon grubu ile anlamlı farklılık göstermiştir ($p<0.001$). mHLA-G'nin B hücresi üzerinde ekspresyonu, CMV pozitif grup ile CMV negatif grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdi ($p<0.05$). Gruplar arasında B hücresi üzerinde ILT2 ekspresyonu açısından anlamlı fark yoktu ($p>0.05$). ILT2'nin T hücreleri üzerindeki ekspresyon oranı, CMV pozitif grupta daha yüksekti (p

<0.01). Sonuç olarak bu çalışma T ve B lenfositlerinde düşük mHLA-G ekspresyonu, böbrek nakli sonrası rejeksiyonu tahmin edebilen bir belirteç olabileceğini göstermiştir. Ayrıca lenfositlerde yüksek mHLA-G ve ILT2 ekspresyonu, böbrek nakli sonrası CMV enfeksiyonuna yatkınlığa neden olabilir (Bi L.L ve ark., 2017).

Böbrek nakli alıcılarında nakil sonrası farklı zamanlarda serum sHLA-G ekspresyonlarını araştırmak amacıyla yapılan çalışmada normal böbrek grefti olan 33 böbrek nakli alıcısı 1-5 yıl, 5-10 yıl ve nakil sonrası 10 yıl olmak üzere üç gruba ayrıldı. Alıcılarda serum sHLA-G ekspresyonları, nakil sonrası bir yıl boyunca test edildi. Transplantasyon öncesi serum sHLA-G düzeyi kontrol grubundan anlamlı derecede farklı değilken, transplantasyon süresi 10 yıldan fazla olan alıcılarda serum sHLA-G seviyesi 5 yıl ve daha az olan alıcılara göre daha yüksek çıkmıştır. Bu sonuç serum sHLA-G düzeyi, böbrek nakli sonrası geçen süre ile anlamlı olarak ilişkili olduğunu göstermiştir (Jin Z ve ark., 2017).

Böbrek nakli için bekleyen ve birinci nakilden sonra listeye geri dönen 67 böbrek nakli hastasının sHLA-G düzeyleri ile hepatit C virüsüne (HCV) karşı antikorların varlığı arasındaki korelasyonu araştıran bir çalışmada, sHLA-G düzeylerinin hem böbrek nakli için bekleyenler listesindeki hastalarda hem de ilk nakil sonrası hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır. Bu sonuç sHLA-G düzeylerinin, böbrek allogreft kabul durumunun ölçülmesinde epigenetik ilişkili belirteç olarak anahtar tolerojenik rolünü doğrulamaktadır (Sommesea L ve ark., 2018).

Birçok çalışma, allojenik doku/organ nakillerinde akut ve/veya kronik rejeksiyon ataklarında, hastaların serum/plazmasındaki sHLA-G izoformlarının seviyelerinin düşük olarak tespit ederken, artmış sHLA-G seviyesinin böbrek, karaciğer, kalp ve akciğer allotransplantasyonlarında koruyucu etkisini göstermiştir. (Lila N ve ark., 2002; Qiu, J ve ark., 2006; Le Rond S ve ark., 2006; Sheshgiri R ve ark., 2008; Rebmann V ve ark., 2009; Zarkhin V. ve ark., 2011; Ezeakile M ve ark., 2014; Poláková K ve ark., 2015; Durmanova V ve ark., 2016). 2019 yılında yapılan bir çalışmada Slovak Kafkas popülasyonunda transplantasyon öncesi sHLA-G düzeyinin bilinmesi böbrek grefti sonucunu tahmin etmek için ilave bir belirteç olabileceğini önerirken (Durmanova V ve ark., 2019), aynı yılda yapılan başka bir çalışmada ise HLA-G ekspresyonunun AMR

hastaları ile AMR olmayan hastalar arasında anlamlı bir farklılık göstermediğini ve HLA-G'nin AMR'nin oluşumunda ve gelişiminde rolünün çok anlamlı olmadığını ortaya koymuştur (Yang J ve ark., 2019).

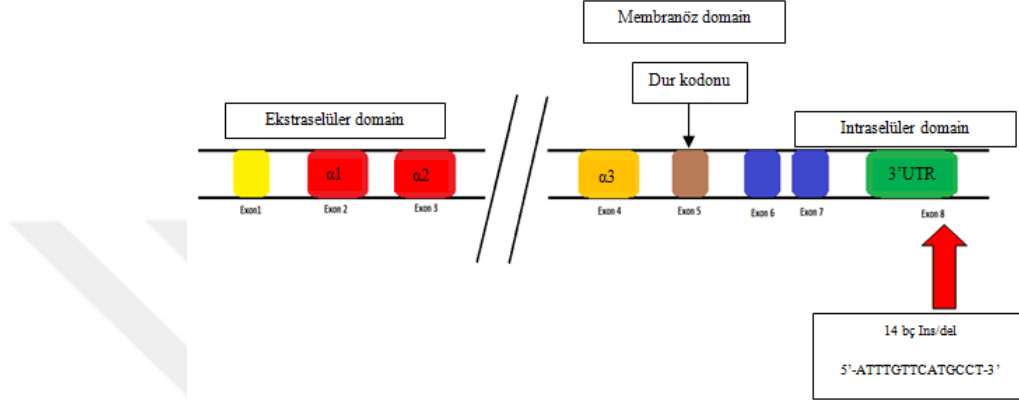
sHLA-G seviyesinin, böbrek allotransplant hastalarında rejeksiyonu ve inflamatuvar durumu kontrol etmek için potansiyel bir belirteç olarak yararlı olabileceği bildirilmiştir (Ezeakile M ve ark., 2014). Yapılan bu araştırmalar HLA-G molekülünün dokunun kabulü ve immün toleransla ilişkili olabileceğini göstermiştir. Dahası, sHLA-G molekülünün allograft kabulünde pozitif bir rol oynayabileceğini göstermiştir. Ancak sHLA-G ve böbrek allograft kabulü arasındaki ilişki ile ilgili veriler sınırlıdır.

2.12.4. HLA-G Polimorfizmi ve Böbrek Nakliyle İlişkisi

HLA-G klasik HLA sınıf I genlerine kıyasla düşük allelik polimorfizm göstermektedir. 2019 verilerine göre 78 *HLA-G* alleli, 19 *HLA-G* proteini ve 3 null allel tanımlanmıştır (IMGT/HLA release 3.35.0, January 2019) (Durmanova ve ark., 2019). Bu sınırlı polimorfizm, patolojik durumlarda *HLA-G* geninin ekspresyon seviyesinin ve mRNA izoformlarının normale göre farklı olması ile ilişkilendirilmiştir (O'Brien M ve ark., 2001; Hviid T V ve ark., 2003). *HLA-G* genindeki polimorfizmler daha çok 5' protomer bölgede ve 3'UTR'de görülmektedir. *HLA-G* geninin bu bölgelerdeki polimorfizmi *HLA-G* ekspresyonunun düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (Hviid T V ve ark., 1999; Hviid T V ve ark., 2003). Transgenik fareler üzerinde *HLA-G* ile yapılan çalışmalarda, *HLA-G* geninin transkripsiyon başlangıç bölgesinden 1.1 ve 1.4 kb uzaklıklar arasındaki bölgede önemli bir düzenleyici eleman bulunduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda bu bölgede sekans polimorfizminin varlığı da belirlenmiş olup bu polimorfizmin önemi ve fonksiyonu net bir şekilde belirlenememiştir. Bu bölge ilk olarak Harrison ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. Daha çok çalışılmış olan diğer polimorfizm (rs371194629) ise 3'UTR'deki ekzon 8'in 3741 pozisyonundaki 14 bç'lik insersiyon/delesyon polimorfizmidir (Harrison GA ve ark., 1993). +2961 ve +2974 pozisyonları arasında bulunan 14 bç fragmanının (5' ATTTGTTTCATGCCT 3') varlığı/yokluğu (14 bç insersiyon/delesyon), *HLA-G* 3'UTR'de tarif edilen ilk polimorfik bölgedir (Harrison GA ve ark., 1993; Castelli E C ve ark., 2014).

HLA-G geninin Ekzon 8 3'UT bölgesindeki 14bç insersiyon/delesyon polimorfizmi yani 14bç fragmentin varlığı ya da yokluğunun alternatif splicing'i ve mRNA stabilitesini etkilediği gösterilmiştir (Hiby SE ve ark., 1999; Hviid TV ve ark. 2003; O'Brien M ve ark. 2001; Rousseau P ve ark., 2003). Bu bölgedeki ins/del polimorfizmi mRNA stabilitesini, mobilizasyonunu ve ekspresyonunu kapsar. *HLA-G* mRNA stabilitesi 3' UT bölgesindeki AU'ca zengin ve bir poli-A sinyali içeren kısımdan etkilenmektedir. Bu AU'ca zengin elementler AUUUA pentamerinden bir ya da birkaç kopya içermektedir ve mRNA'nın degradasyonuna yol açmaktadır. Bu mekanizmanın temelinde ise 14bç'lik dizinin AUUUG pentamerik başlangıcından dolayı AU pentamerik-benzeri etkiye sahip olduğu düşünülmekte olup, bunun deadenilasyona katıldığı ve mRNA'nın bozunmasına neden olduğu düşünülmektedir (Hviid TV ve ark., 2003; Rousseau P ve ark., 2003; Tripathi P ve ark., 2004; Hviid TV. ve Christiansen OB. 2005). 14 bç'lik delesyon *HLA-G* transkriptinin alternatif uç birleştirmesinden sorumlu olup 3' UT bölgesinden 92 bazın çıkmasına neden olur. Bu 92 bazın bulunmadığı olgun transkriptler bütün mRNA formlarına göre daha stabil karakterdedir. 92 bazlık dizinin bulunmadığı bu transkriptte bu motifin yokluğu mRNA degradasyonuna karşı daha iyi bir direnç sağlayabileceğini düşündürmektedir. *HLA-G* transkriptinin stabilitesi bozulduğunda ise *HLA-G* proteinini etkileyecektir (Rousseau P ve ark., 2003). Bu nedenle bazı çalışmalarda delesyon alleli mRNA stabilizasyonu ve yüksek oranda *HLA-G* ekspresyonu ile ilişkili bulunurken (Rizzo R ve ark., 2012), bazı çalışmalarda 14 bç insersiyon alleli unstabil mRNA ve daha düşük düzeyde sHLA ile ilişkili bulunmuştur (Baricordi RO ark., 2008; Veit TD. ve Chies JA. 2009). *HLA-G* mRNA'sının ve proteininin seviyesinin düşük olması implantasyon ve gebelik süresince fetüs ve annenin *HLA-G* ifadenmesinin immün düzenleyici rolünü etkileyecektir. Bu da genotipler arası inflamasyon cevabında farklılığın göstergesidir (Hviid T.V.F. 2006; Baricordi RO ve ark., 2008). Bazı çalışmalarda ise 14 bç'lik delesyonun *HLA-G* transkriptinin alternatif splicing'ni uyaracağı ve 3' UT bölgesinden 92 bazın çıkmasına neden olacağını belirtirken, 14bç'lik *HLA-G* insersiyon varlığında ise exon 8'in başlangıcından kopan 92 bazlık fazladan bir splice oluşturduğunu desteklemektedir. Ancak bu çalışma 14 bç'lik dizi delesyona uğramışsa 92 bazlık dizi olgun transkriptte kalarak transkriptin stabilitesinin bozulacağını da belirtmektedir. (Hviid T.V.F. 2006). *HLA-G* 3'UT bölgesindeki 14

bç'lik dizinin delesyonu veya insersiyonu halinde etrafındaki pentamerik dizinin silinmesi nedeniyle bu polimorfizminin temel mekanizması tam olarak açıklanamamıştır. Şekil 2.11.'de *HLA-G* 3'UT bölgesinde yer alan 14 bç ins/del polimorfizm görülmektedir (Baricordi R O ark., 2008).



Şekil 2.11. *HLA-G* 3'UT Bölgesinde Yer Alan 14 bç (Baricordi R O ark., 2008)

ins/del 14 bç polimorfizmine ek olarak, *HLA-G* 3'UTR içerisinde mRNA stabilitesini ve afinitesini etkileyen diğer SNP'ler tespit edilmiştir. Özellikle, +3142C/G (rs1063320) ve +3187A/G (rs9380142) SNP'lerin sırasıyla mRNA degradasyonu ve mRNA stabilitesi ile ilişkili olduğu görülmektedir (Castelli EC ve ark., 2009; Manaster I ve ark., 2012; Tan Z ve ark., 2007). 2010 yılında yapılan in vitro çalışma, +3142 pozisyonunda Guanin varlığının primer transkriptin miR-152, miR-148b, miR-148a mikro RNA'larına afinitesini artırdığını, bu da mRNA degradasyonuna veya translasyon inhibisyonuna neden olduğunu bunun da düşük *HLA-G* ekspresyonuna yol açacağını bildirmiştir (Zhu XM ve ark., 2010). Martelli-Palomino ve arkadaşları, sekiz 3'UTR varyantı (14-bç ins/del (rs371194629), +3003 C/G (rs1707), +3010 G/C (rs1710), +3027 C/A (rs17179101), +3035 C/T (rs17179108), +3142 C/G (rs1063320), +3187 A/G (rs9380142) ve +3196 C/G (rs1610696) belirlemişlerdir ve bu varyantların s*HLA-G* düzeyleri ile olan ilişkilerini incelemişlerdir (Martelli-Palomino ve ark., 2013). Bunlardan 14-bç ins/del, + 3142C/G ve 3187A/G varyantlar fonksiyonel olarak çalışılmıştır (Martelli-Palomino G ve ark, 2013; Tan Z ve ark., 2007; Veit TD ve ark., 2009). *HLA-G* 3'UTR +3187 konumunda (+3187A/G) bir adenin varlığı AU'ca zengin elemente yakın olması nedeniyle mRNA degradasyonuna ve dolayısıyla *HLA-G*

ekspresyonunun azalmasına neden olduğu bilinmektedir (Yie SM ve ark., 2008, Castelli EC ve ark., 2009). *HLA-G* 3'UTR +3035 C-C genotipinin akut ve kronik rejeksiyonda, rejeksiyona duyarlılıkla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Cilião Alves DC ve ark., 2012). 3035 C-C genotipinin frekansı KR bulunan hastalarda sağlıklı kontrollere kıyasla daha sık ve 3030 C-T genotip frekansı KR olan hastalarda rejekte olmayan grup veya sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında daha az sıklıkta olduğu görülmüş. Bu sonuçlar +3035 C-C genotipinin rejeksiyon ile ilişkili olduğunu veya +3035 C-T genotipinin rejeksiyona karşı koruma ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca *HLA-G* geninin 3'UTR polimorfik bölgeleri *HLA-G* ekspresyonunun yanısıra miRNA'lar içinde hedef bölgeleri oluşturmaktadır. +3035 C/T polimorfik bölgesiyle mRNA'nın aktivitesi üzerindeki etkisine bakıldığında, miR-433 miRNA'nın +3035 aleline daha yüksek afiniteyle bağlandığı ortaya koyulmuştur. Bu durumda hasta hücrelerinde miR-433 varlığı +3035 allelini hedefleyip, periferik kandaki *HLA-G* ekspresyonunu azaltarak, potansiyel olarak greft rejeksiyonuna katkıda bulunabilmektedir (Castelli EC ve ark., 2009). *HLA-G* 3'UTR +3142 konumunda (+3142 G/C) bir guanin varlığı *HLA-G* mRNA'sına spesifik miRNA'ların afinitesini artırdığı ve *HLA-G* translasyonunu azalttığı tespit edilmiştir (Tan Z ve ark., 2007; Veit TD ve Chies JA. 2009).

14 bç ins/del polimorfizminin gen ekspresyonu üzerindeki etkisine rağmen, transplantasyon üzerindeki etkisi çelişkili bulunmuştur (de Almeida B S ve ark., 2018; Amodio G ve ark., 2014; Castelli EC ve ark., 2010; Hviid TV ve ark., 2003).

HLA-G'nin 3'UTR 14bç ins/ins ve ins/del genotipleri düşük *HLA-G* ekspresyonu ile ilişkilendirildiği birçok çalışmada belirtilmektedir (Hiby SE ve ark., 1999; Hviid TV ve ark., 2003; O'Brien M ve ark., 2001; Rousseau P ve ark., 2003). Rousseau ve arkadaşlarının 2003 yılında yaptıkları çalışmada 14 bç'lik delesyon varlığında *HLA-G* ekspresyon seviyesinin azaldığı görülmüştür (Rousseau P ve ark., 2003). AR gösteren böbrek transplant hastalarında 14 bç ins/ins homozigot genotipinin sağlıklı kontrollere göre arttığı gözlemlenmiştir. *HLA-G* geninde 14bç insersiyon daha düşük *HLA-G* ekspresyonuyla ilişkilendirildiğinden AR gösteren hastalar daha düşük bir *HLA-G* ekspresyonu göstermektedir (Hviid TV ve ark. 2003). Organ nakli yapılan hastalarda 14bç del/del genotipinin artmış frekansı ve sHLA-G üretiminin artması daha iyi greft

kabulüyle ilişkili iken 14bç ins/del genotipi daha yüksek rejeksiyon olgusuyla ilişkili bulunmuştur (Torres MI ve ark., 2009). Bazı çalışmalar, HLA-G'nin böbrek, karaciğer, kalp ve akciğer gibi insan allotransplantasyonundaki koruyucu etkisini göstermiştir (Lila N ve ark.,2002; Sheshgiri R ve ark., 2008; Rebmann V ve ark., 2009; Zarkhin V ve ark., 2010). Böbrek nakli hastalarında, artmış sHLA-G düzeyi daha iyi greft kabulü ile anlamlı olarak ilişkiliydi (Qiu J ve ark., 2006; Rebmann V ve ark.,2009;Kaneku H., 2006;Jin Z-K ve ark., 2012; Misra M.K ve ark.,2013; Ezeakile M ve ark.,2014). Böbrek nakli hastalarında sHLA-G ekspresyonunun regülasyonu 14 bç ins/del polimorfizm ile ilişkilendirilmiştir (Rousseau P ve ark., 2003). 2014 yılında yapılan 5 çalışmada bu ilişki ve greft kabulü arasındaki olası ilişki araştırılmıştır (Crispim JC ve ark., 2008; Durmanova V ve ark., 2016; Hou W ve ark., 2014; Jin Z-K ve ark., 2012; Misra M.K ve ark., 2013). 5 çalışmadan sadece 2 çalışmada *HLA-G* 14-bç ins/del polimorfizmi ve böbrek nakli reddi riski arasındaki ilişki tanımlanmıştır ve insersiyon genotipinin akut rejeksiyon duyarlılığı ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Misra ve arkadaşlarının Slovak Kafkas popülasyonunda böbrek grefti kabulünde *HLA-G* geninin 14 bç ins/del polimorfizmi ile sHLA-G düzeyi arasındaki ilişkiyi değerlendirdiği çalışmada, 14 bç ins/ins ($p<0.0001$) genotipine sahip hastalarda sHLA-G seviyesi, ins/del ($p=0.0171$) ve del/del ($p=0.0263$) genotiplerine göre akut rejeksiyona gitmeyen hastalarda artmıştır (Misra M.K ve ark., 2013). Bununla birlikte, böbrek nakli sırasında alıcıların sonuçları tartışmalıdır. Böbrek naklinde greft kabulü ile sHLA-G seviyeleri ile ilgili geniş miktarda bilgiye rağmen, *HLA-G* genindeki polimorfik bölgeleri değerlendiren çok az sayıda çalışma yapılmıştır, bunların çoğu 3'UTR'deki 14-bç ins/del polimorfizmini değerlendirmektedir. Brezilya'da (Crispim JC ve ark., 2008) ve İtalya'da (Piancatelli D ve ark., 2009) böbrek nakli hastalarında yapılan çalışmada nakil sırasında 14-bç ins/del allelleri veya genotiplerinin sıklığı, sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık göstermediği bununla birlikte, 14-bç insersiyon homozigot genotip sıklığının akut rejeksiyon gösteren hastalarda arttığı gözlenilmiştir (Crispim JC ve ark., 2008). Bu çalışmaya karşılık 14-bç delesyon homozigot genotipine sahip kalp nakli hastalarında daha yüksek sHLA-G seviyesi ve daha yüksek siklosporin biyoyararlanımı gözlemlenmiştir (Torres MI ve ark., 2009). 14-bç insersiyon, daha stabil bir mRNA ile ilişkilendirilmiş olmasına rağmen (Rousseau P ve ark., 2003), 14-bç insersiyon

homozigot genotipini sunan bir HLA-G mRNA transkriptinin bir kısmı, daha düşük HLA-G üretimi ile ilişkilendirilmiştir (Hviid T V F ve ark., 2004; Hviid TV ve ark., 2003).

Creput ve ark. nakledilen böbreğin tübüler epitel hücrelerinin %55.5'i HLA-G'yi eksprese ettiğini göstermişlerdir (Creput C ve ark., 2003). *HLA-G*, greft böbrekte eksprese olduğu ve buna göre vericinin polimorfik bölgelerinin rejeksiyonun oluşumu veya derecesi üzerinde bir etkisi olabileceği hipotezini ortaya atmıştır (Crispim JC ve ark., 2008; Racca A ve ark., 2009; Misra M.K ve ark., 2014; Žilinská Z ark.,2015; Okushi Y ve ark., 2017). Bu hipotezden yola çıkılarak böbrek nakli hastalarında vericinin 14-bç ins/ins genotipinin varlığına bağlı olarak böbrek tübüler epitel hücrelerinin yüzeyinde HLA-G ekspresyonunun yükselmesi rejeksiyona karşı bir immünolojik koruma mekanizması sağlayabileceği ile ilgili çalışma yapılmıştır. CD8+ Tc hücreleri immünoşüpresif antijen CD94 NKG2A ve CD85j'yi ligand olarak eksprese eder. Artmış HLA-G ekspresyonu nedeniyle CD85J ve CD94 NKG2A immünoşüpresif antijenlerin etkileşimi artar. Alloreaktif CD8+ Tc hücrelerinin daha fazla baskılanmasına ve böylece akut rejeksiyonun azalmasına yol açar (Anfossi N ve ak., 2004; Cho J.H ve ark.,2011; Murphy S.P ve ark., 2011). Janssena M. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada vericisi *HLA-G* 14-bç ins/ins ve + 3142GG genotipine sahip hastaların akut rejeksiyon riskinin daha düşük olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada vericisinin 14-bç ins/ins genotipini taşıyan rejeksiyon hastalarında sHLA-G serum seviyelerinin daha yüksek olduğu görülürken, alıcıdaki insersiyon genotipinin AR üzerine bir etkisinin olmadığını gözlemlemişlerdir (Janssena M. ve ark., 2018). Janssena M. ve arkadaşlarını yaptığı çalışma, Alves, Aghdaie ve Piancatelli tarafından yapılan çalışmaların sonuçları ile paralellik göstermiştir (Cilião Alves DC ve ark., 2012; Aghdaie M.H ve ark., 2011; Piancatelli D ve ark., 2009). Bu bulgular diğer çalışmalarla çelişkili bulunmuştur(Hviid T V F ve ark., 2004;Chen X.Y ve ark., 2008; Twito T ve ark., 2011; Gonzalez A ve ark., 2010; Rizzo R ve ark., 2012; Le Rond S ve ark., 2006; Piancatelli D ve ark., 2009; Hviid T V F ve ark., 2004; Martelli-Palomino G ve ark., 2013). Bu çelişkinin nedeni olarak ise hastaların otoimmün hastalığa sahip olması veya immünoşüpresif tedavinin sHLA-G seviyelerini etkileyebileceği olmuştur.

Bununla birlikte, Svendsen ve ark. in vitro olarak, 14-bç insersiyon genotipi taşıyan K562-G1 hücre hattında HLA-G1 mRNA'nın artmış yüzey ekspresyonu gösterdiği, ancak sHLA-G oranının düşük olduğunu belirtmişlerdir. Bu sonuçlara göre greft böbreğin daha yüksek miktarda membran bağlı HLA-G üretebileceğini göstermiştir (Svendsen S.G. ve ark., 2013). Rousseau ve arkadaşları 2003 yılında 14bç insersiyon polimorfizminin membrana bağlı ve sHLA-G mRNA izoformlarının seviyesindeki azalmadan ($p<0.001$) sorumlu olduğunu göstermişlerdir (Rousseau P ve ark., 2003).

Durmonava ve arkadaşlarının 2016 yılında akut böbrek rejeksiyon hastalarında yaptıkları çalışmada, 14bç del/del homozigot genotipine sahip rejeksiyona gitmeyen böbrek nakli hastalarına göre transplantasyondan önce sHLA-G seviyesinin daha yüksek ($p<0.001$) olduğu belirtilmiştir. Bu çalışma grubunun 2019 yılında yaptıkları çalışmada ise 14 bç delesyon genotipi taşıyan rejeksiyona gitmeyen grupta akut rejeksiyon gösteren alıcılara göre sHLA-G seviyesi artmış olup, bu artış + 3010GG, + 3027CC, + 3035CC, + 3142CC, + 3187GG, + 3196CC varyantlarının varlığı ile ilişkilendirilmiştir (Durmanova V ve ark., 2019). Bu veriler *HLA-G* polimorfizmi ve buna bağlı sHLA-G seviyesinin izlenmesinin böbrek nakli hastalarında rejeksiyon riski daha yüksek hasta popülasyonunun belirlenmesine yardımcı olacağını göstermektedir (Durmanova V ve ark., 2019). *HLA-G* polimorfizmi ve buna bağlı sHLA-G seviyesinin izlenmesi böbrek nakli hastalarında rejeksiyon riski daha yüksek hasta popülasyonunun belirlenmesinde ve buna bağlı olarak immünosüpresyonla ilgili kararları etkileyebilir. Transplant reddi riskinin daha düşük olduğu hastalarda, immünosüpresif ilaçların seviyesini azaltmak mümkün olacak, böylece immünosüpresif tedavinin yan etkileri sınırlandırılabilecektir. Bu nedenle 14bç ins/del polimorfizmi ve sHLA-G seviyesinin akut ve kronik rejeksiyon gösteren böbrek nakli hastaları üzerindeki etkisi ile ilgili ülkemizde çalışma yapılmaması ve yapılan bazı yurtdışı çalışmalarda da çelişkili sonuçların olması nedeniyle bu tez çalışmasına ihtiyaç duyulmuştur. Yapılan bu araştırmalarda HLA-G molekülünün ekspresyonu ile ilgili genetik polimorfizmin azalmış veya artmış immünolojik yanıtlara neden olabildiği gösterilmiştir. Ancak, çelişkili sonuçların olması (Piancatelli D ve ark., 2009; Hou W ve ark., 2014), bu çalışmanın, yeni çalışmalar için ön bilgi niteliğinde olmasını öngörmektedir.

Akut ve kronik rejeksiyon böbrek nakli başarısının önündeki en büyük engellerden biridir. Türkiye’de yapılan araştırmalarda böbrek nakli hastalarında akut veya kronik rejeksiyon ile immün sistemin düzenlenmesinde rol alan *HLA-G* geninin 3' UTR 14 bç polimorfizminin ilişkisinin daha önce çalışılmaması, böbrek nakli hastalarında akut veya kronik rejeksiyon ile *HLA-G* molekülü arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmaların daha küçük sayılarla yapılması nedeniyle bu çalışmanın yapılmasına ihtiyaç duyulmuştur. *HLA-G* 3’UTR’deki polimorfik bölgeler *HLA-G* üretiminin artmasına ya da azalmasına neden olabileceği için *HLA-G* geni 3' UTR 14 bç polimorfik yapıların belirlenmesi, *HLA-G* eksprese edebilen ya da eksprese edemeyen böbrek nakilli hastaların tanımlanması, *HLA-G* üretiminin arttırılması ve buna bağlı organ toleransını sağlanması tedavi stratejileri geliştirilmesinde yararlı olacaktır. Serum s*HLA-G* seviyesinin akut ve kronik rejeksiyon riskinin değerlendirilmesinde non-invaziv standart tanı kriteri olarak kullanılabilirliğinin saptanması, özellikle rejeksiyonda kullanılabilecek yeni bir biyomarker belirlenmesi için böyle bir araştırmaya gerek duyulmuştur. Özellikle, böbrek nakli başarısının uygun tedavi stratejileri ile arttırılması için klinisyenlere akut ve kronik rejeksiyon riski konusunda önerilerde bulunulabilecektir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Tipi, Evreni ve Örneklemi

Bu araştırma geriye dönük, olgu-kontrol tipi bir çalışma olarak planlanmıştır. Araştırmanın evrenini 01.01.2013 ile 01.01.2020 tarihleri arasında Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Organ Nakli Merkezinde (AÜHONM) böbrek nakli olan 1500 hastadan 18 yaş üstü 250 hasta oluşturmaktadır. Araştırmaya olgu grubu olarak; AÜHONM’de, 01.01.2013 ile 01.01.2020 tarihleri arasında akut veya kronik rejeksiyon tanısı alan (hayatta olan veya olmayan) 125 18 yaş üstü böbrek nakli hastaları alınmıştır. Kontrol grubu olarak ise; olgu grubu ile aynı sayıda, aynı cinsiyette ve aynı yaşta iken böbrek nakli olup akut veya kronik rejeksiyon olmayan böbrek nakli hastaları alınmıştır. Kontrol grubu sistematik örneklem uygulanarak kura ile belirlenmiştir. Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 284/2017 karar numarasıyla onaylanmıştır.

3.2. Araştırmada Kullanılan Bağımlı ve Bağımsız Değişkenler

Bağımlı değişkenler böbrek nakli hastalarında akut rejeksiyon ve kronik rejeksiyon hastaları olmuştur. Bağımsız değişkenler ise böbrek nakli hastalarının (alıcı) ve vericilerinin sosyodemografik özellikleri, *HLA-G* 3'UTR 14bç polimorfizmi, sağlıklı ilgili bazı özellikleri, böbrek nakli hastalarının nakil öncesi ve nakil sonrası (olgu için rejeksiyonda, kontrol grubu için ise, nakil sonrası olgu ile aynı sürede) sHLA-G ölçüm değerleri, kullanılan immünsupresif tedavi, rejeksiyon için olası diğer risk faktörleri olmuştur.

3.3. Verilerin Toplanması

Kontrol grubu sistematik örneklem uygulanarak kura ile belirlenmiştir. Araştırmada veri toplamak için araştırmaya alınan böbrek nakli hastaları ve/veya aileleri araştırmanın amacı, özellikleri ve yöntemi konusunda bilgilendirilerek sözlü onayları alınmıştır. Daha sonra hasta ve/veya ailesinden, hastanenin MİA otomasyon sisteminden, hasta dosyalarından, hastane kayıtlarından gerekli verilerin toplanması, HLA doku tiplemesi için periferik kan örneklerinden genomik DNA izolasyonu, Polimeraz zincir reaksiyonu, Agaroz jel elektroforezi, DNA dizileme yöntemi kullanılarak *HLA-G* geni 3'UTR 14bç

polimorfizmi saptanması, PRA testi için önceden alınmış serum örneklerinden Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) yöntemi kullanılarak sHLA-G seviyesi saptanması gerçekleştirilmiştir. Veriler araştırmacı tarafından Hastaya ait bilgi formuna kaydedilmiştir.

Hastaya Ait Bilgi Formu olgu grubu ve kontrol grubu için ayrı ayrı düzenlenmiştir (Ek-2, Ek-3). Her iki formda böbrek nakli hastalarının (alıcı) ve vericilerinin sosyodemografik özelliklerini, *HLA-G* geni 3'UTR 14bç'lik polimorfizmini, sağlıkla ilgili bazı özelliklerini, böbrek nakli hastalarının nakil öncesi ve nakil sonrası (olgu için rejeksiyonda, kontrol grubu için nakil sonrası olgu ile aynı sürede) sHLA-G ölçüm değerlerini, kullanılan immunsupresif tedaviyi, rejeksiyon için olası diğer risk faktörlerini sorgulayan sorular yer almaktadır. Olgu grubunun formunda, kontrol grubunun formundaki sorulara ek olarak hastanın aldığı tanı tipi, rejeksiyon zamanı, nakilden biyopsiye kadar geçen süre, rejeksiyon sırasında hastanın yaşı sorgulanmıştır.

3.4. Moleküler Teknikler

3.4.1. Periferik Kandan Genomik DNA Eldesi

Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Organ Nakli Merkezi'ne gelen böbrek nakil hastalarından ve vericilerinden nakil öncesi 1ml 0.5M EDTA içeren K₃EDTA'lı (Venoject) steril tüplere periferik kan örnekleri alındı. EZ1 DNA Blood 200 µl DNA izolasyon cihazı (QIAGEN) kullanılarak genomik DNA (gDNA) izolasyonu yapıldı.

3.4.2. DNA Örneklerinin Spektrofotometrik Ölçümü

İzole edilen gDNA örneklerinin optik dansite ve saflık derecelerini belirlemek için 260nm/280nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümleri yapıldı. Ölçüm için 1µl gDNA örneği spektrofotometre cihazına (Nanodrop1000) yüklendi. 2,6–6 µg gDNA örneği izole edildi. Elde edilen gDNA örnekleri 200 µl 1X Tris Edta (TE) ile sulandırılarak +4°C' de saklandı.

3.4.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

HLA-G geninin sekizinci ekzonunun 3'UTR bölgesi polimorfizmini belirleyebilmek için Taq polimeraz (Thermo Scientific) enzimi kullanılarak PZR gerçekleştirildi. PZR

yöntemiyle *HLA-G* geninin sekizinci ekzonundaki 14bç'lik ins/del polimorfizm bölgesini içeren 224bç ve 210bç'lik bölge Applied Biosystems Veriti 96 Well Thermal Cyclers cihazı kullanılarak amplifiye edildi. Kullanılan ileri ve geri primer dizileri tabloda 3.1.'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Kullanılan İleri ve Geri Primer

İleri Primer: 5'-GTGATGGGCTGTTTAAAGTGTCACC-3'
Geri Primer: 5'-TCATGCTGAACTGCATTCCTTCC-3'

Tablo 3.2.'de PZR amplifikasyonu için kullanılan kimyasallar ve miktarları verilmiştir.

Tablo 3.2. PZR Kimyasal Protokolü

PZR BİLEŞENİ	BİR KUYUCUK İÇİN MİKTAR
10X PZR Reaksiyon Tamponu (Thermo Scientific)	2,5 µl
dNTP Karışımı (dTTP, dCTP, dATP, dGTP) (Thermo Scientific)	1,25 µl
İleri Primer 0,1-1,0 µM (Thermo Scientific)	2 µl
Geri Primer 0,1-1,0 µM (Thermo Scientific)	1 µl
1 U Taq DNA Polimeraz	0,4 µl
gDNA (5 ng/µl)	4 µl
Distile Su	13,85 µl
TOPLAM	25 µl

PZR Programı

Applied Biosystems Veriti 96 Well Thermal Cyclers ısı döngü cihazında bütün örnekler için PZR reaksiyonları başlangıç denatürasyonu, 95°C'de 3 dakika; denatürasyon 95°C'de 1 dakika, birleşme 62°C'de 1 dakika, uzama 72°C'de 2 dakika olacak şekilde 35 döngü; son uzama ise 72°C'de 10 dakika olarak ayarlandı. 4°C son sıcaklık olarak belirlendi.

3.4.4. Agaroz Jel Elektroforezi

PZR reaksiyonu sonucunda ilgili bölgenin amplifikasyonunun tespiti ve genotiplemesi için agaroz jel elektroforezi yapıldı. *HLA-G* geninin sekizinci ekzonundaki polimorfik bölge %4'lük agaroz jelde DNA belirteç (Roche, Katalog#11449460001) boyutuna bakılarak bant büyüklüklerine göre ayrıldı. 224bp bandı homozigot insersiyon, 210bp bandı homozigot delesyon ve her iki bandın da görüldüğü örnek heterozigot olarak kabul edildi.

Agaroz Jelin Hazırlanması ve Görüntülenmesi

Agaroz Jelin Hazırlanmasında Kullanılan Solüsyonlar

10 X Tris-Borat-EDTA (TBE) Tamponu:

0.089 M Trizma (Sigma)

0.089 M Borik Asit (Sigma)

0.002 M EDTA (Sigma)

10X TBE tamponu hazırlamak için, 54 g Tris-baz, 27.5 g borik asit ve 0.5 M EDTA (pH 7.4), son hacim 500 ml olacak şekilde bidistile suda çözüldü.

Etidyum-Bromid (EtBr) Solüsyonu (10 mg/ml):

10 mg EtBr (Sigma) 1 ml bidistile suda çözüldü ve alüminyum folyaya sarılarak oda sıcaklığında kullanıldı.

Agaroz Jelin Hazırlanması

%4'lük agaroz jelin hazırlanması için 10X TBE solüsyonu 1X TBE olacak şekilde distile su ile seyreltilti. 4gr toz agaroz (Sigma) 100ml 1X TBE üzerine eklenerek mikrodalga fırında eritildi. Jelin sıcaklığı 50-55°C'ye indiğinde 0.8µg/ml etidyum bromid (Sigma Aldrich Katalog#E-8751) eklendi. Elektroforez küvetine taraklar yerleştirildi. Çeker ocak içerisinde 100 ml agaroz jel elektroforez küvetine dökülerek 20 dakika polimerize olması için bekletildi. Jel donduktan sonra taraklar jelden alındı. İçerisinde jel bulunan elektroforez küveti jelin üzerini kapatacak kadar 1X TBE bulunan elektroforez tankına (BIORAD PAC 200 DNA Elektroforez Sistemi) yerleştirildi.

Agaroz Jel Elektroforezi ve Görüntüleme Sistemi

8 µl PZR ürünü 2 µl Orange DNA (Thermo Scientific) yükleme boyası ile karıştırılarak toplamda 10 µl örnek jelin kuyularına yüklendi. Bant büyüklüklerini ölçebilmek amacı ile DNA markeri (Roche, Katalog#11449460001) kullanıldı. Elektroforez tankına bağlı güç kaynağı ile örnekler, 135V'de 400A'da 30 dakika yürütülerek ultraviyole ışık veren transilluminatör ile görüntülendi. Syngene (Ingenius) transilluminatör cihazına bağlı olan monitörlü sistem kullanılarak fotoğraf alındı.

3.4.5. Amplikonların Temizlenmesi

DNA dizi analizinde kullanılacak amplifikasyon ürünlerini, bağlanmayan primer ve dNTP artıklarından temizlemek için 3M NaAc ile pürifikasyon yapıldı.

Her bir PZR amplifikasyon ürünün üzerine 2 µl 3M NaAc (Sodyum Asetat ph=4,5) eklendi. Üzerlerine 30 µl %100 etanol eklendi. 2 saniye vortekslenerek karıştırıldı. 30 dakika -20⁰C'de inkübe edildi. +4⁰C'de 24000g'de santrifüj yapıldı. Pelletin üzerine 200 µl %70 soğuk etanol eklendi. +4⁰C'de 24000g'de 7 dakika santrifüj yapıldı, süpernatant uzaklaştırıldı. Pellet oda sıcaklığında 10-15 dakika kurumaya bırakıldı. 200 µl distile su ile çözdürüldü. +4⁰C'de saklandı.

3.4.6. DNA Dizi Analizi

Temizlenen PZR amplikonları, agaroz jel görüntülemesiyle tespit edilen genotiplemenin doğrulanması amacıyla Sanger Dizileme metodu (BigDye 3.1 kiti ile) ileri primerle gerçekleştirildi.

Dizileme reaksiyonunun kimyasal protokolü tablo 3.3.'de ve Applied Biosystems Veriti 96 Well Thermal Cycler cihazı ile gerçekleştirilen cihaz protokolü tablo 3.4.'de verilmiştir.

Tablo 3.3. DNA Dizileme Kimyasal Protokolü

PZR BİLEŞEN	BİR KUYUCUK İÇİN MİKTAR
5X Dizileme Tamponu (Applied Biosystems)	1,5 µl
İleri Primer	2 µl
Kalıp gDNA	1 µl
Big Dye Enzim (Big Dye Terminator v3.1 Cycle Seq Kit (10µM))	1 µl
Distile Su	4,5 µl
TOPLAM	10 µl

Tablo 3.4. DNA Dizileme Cihaz Protokolü

AŞAMA	ISI (°C)	SÜRE
Aktivasyon	96	10 saniye
Amplifikasyon (25 Döngü)	96	10 saniye
	50	10 saniye
	60	4 dakika
Bekleme	15	Sonsuz

3.4.7. Dizi Analizi Yapılacak Amplikonların Temizlenmesi

PZR sonrası yapılan NaAc ile pürifikasyon işleminin aynı protokolü bu aşamada tekrar edilmiştir.

3.4.8. DNA Dizi Analizi Cihazına Yüklenmesi

Dizi analizi yapılacak amplikonların temizleme aşamasından sonra 2 dakika denatüre edilen PZR ürünleri 5 dakika -20 °C bekletilerek silika temelli ABI Genetic Analyzer 3500xL Dx cihazına yüklendi. Sekans yazılım programında sonuçlar değerlendirildi. Bu sonuçlarda Adenin piki yeşil, Guanin piki siyah, Sitozin piki mavi ve Timin piki kırmızı ile gösterilerek DNA dizi analizi gerçekleştirildi.

3.5. Serolojik Yöntemler

3.5.1. Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) Yöntemi

Böbrek nakil hastalarının nakil öncesi ve sonrasında (olgu grubu için rejeksiyonda kontrol grubu için nakil sonrası olgu ile aynı sürede) sHLA-G seviyesinin belirlenmesi için ELISA yöntemi uygulandı. Hastalardan nakil öncesinde ve sonrasında seperatör jel içeren tüplere periferel kanları alınarak santrifüj yapıldı ve serumlar izole edildi. -80⁰C’de çalışma gününe kadar saklandı. Çalışma için sHLA-G monoklonal antikoru ile kaplanmış Sandwich ELISA sHLA-G (human soluble leucocyte antigen G) kiti kullanıldı (YLBiont, katalog#YLA1602HU). Elde edilen serumlar 96 kuyucuklu ELISA plakalarına kit protokolüne uygun olarak yüklendi. Deney sonucunda spektrofotometrede (Bio-Rad, iMark Mikroplate Reader) 450nm dalga boyunda absorbans değeri belirlenerek sHLA-G düzeyi hesaplandı.

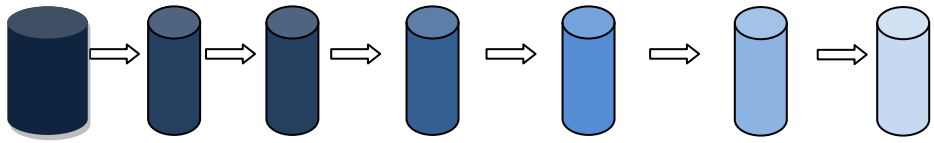
ELISA Çalışma Prosedürü

-80⁰C’ den çıkarılan serumlar deneyden 2 saat önce oda sıcaklığına alındı. 448 g’de 20 dakika santrifüj yapıldı. Beş standart hazırlandı. Aşağıda standart solüsyonların hazırlanışı Tablo 3.5.’de ve dilüsyon oranları Tablo 3.6.’da verilmiştir.

Tablo 3.5. Standart Solüsyonların Hazırlanışı

20U/ml	Standart No.5	120 µl Orijinal Standart +120 µl standart dilüsyon
10U/ml	Standart No.4	120 µl Standart No.5 +120 µl standart dilüsyon
5U/ml	Standart No.3	120 µl Standart No.4 +120 µl standart dilüsyon
2,5U/ml	Standart No.2	120 µl Standart No.3 +120 µl standart dilüsyon
1,25U/ml	Standart No.1	120 µl Standart No.2 +120 µl standart dilüsyon

Tablo 3.6. Standart Solüsyonların Dilüsyon Oranları

Stok Standart						
Tüp	Standart	Standart 5	Standart 4	Standart 3	Standart 2	Standart1
U/ml	40	20	10	5	2,5	1,25

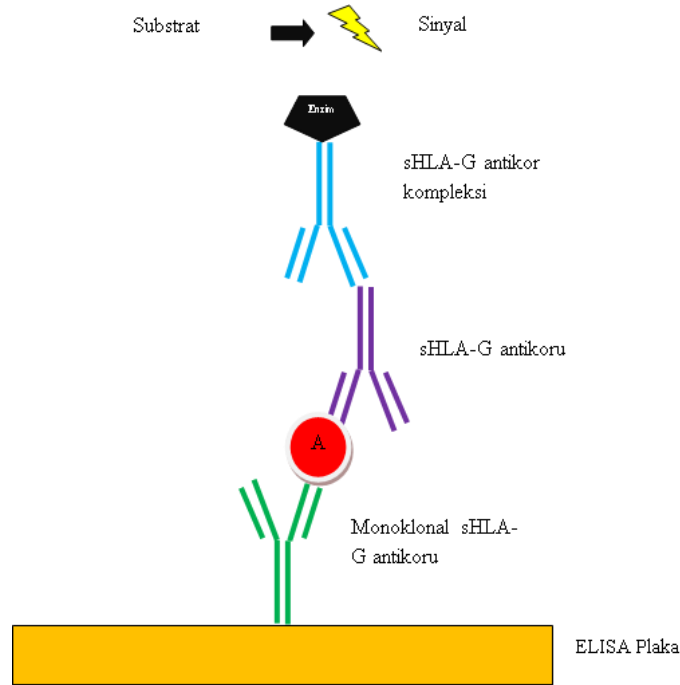
Dilüe edilen standartlardan 50'şer µl 96 kuyucuklu ELISA plağının A1-A5 ve A7-A11 kuyucuklarına sırasıyla yüklendi. A6 ve A12 kuyucukları negatif kontrol olarak boş bırakıldı.

B1-H12 arası her bir kuyuya 40 µl serum örnekleri 2'şer tekrarlı olarak eklendi.

Örneklerin üzerine 10 µl sHLA-G antikorı eklendi.

Üzerine 50 µl streptavidin-HRP (Horseradish Peroxidase) bağlı biotin ile işaretli anti sHLA-G antikor kompleksi eklendi.

Plaka kapatılarak 37°C 60 dakika inkübe edildi (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. Sandwich ELISA sHLA-G

İnkübasyonun sonunda bağlanmayan enzimler 1X yıkama solüsyonu ile Mindray MV-12A otomatik cihazında her bir kuyucuğa 300 µl gelecek şekilde 5 defa yıkanarak uzaklaştırıldı.

Yıkama sonrası her bir kuyucuğa 50 µl Cromogen A ve 50 µl Cromogen B substratları eklendi.

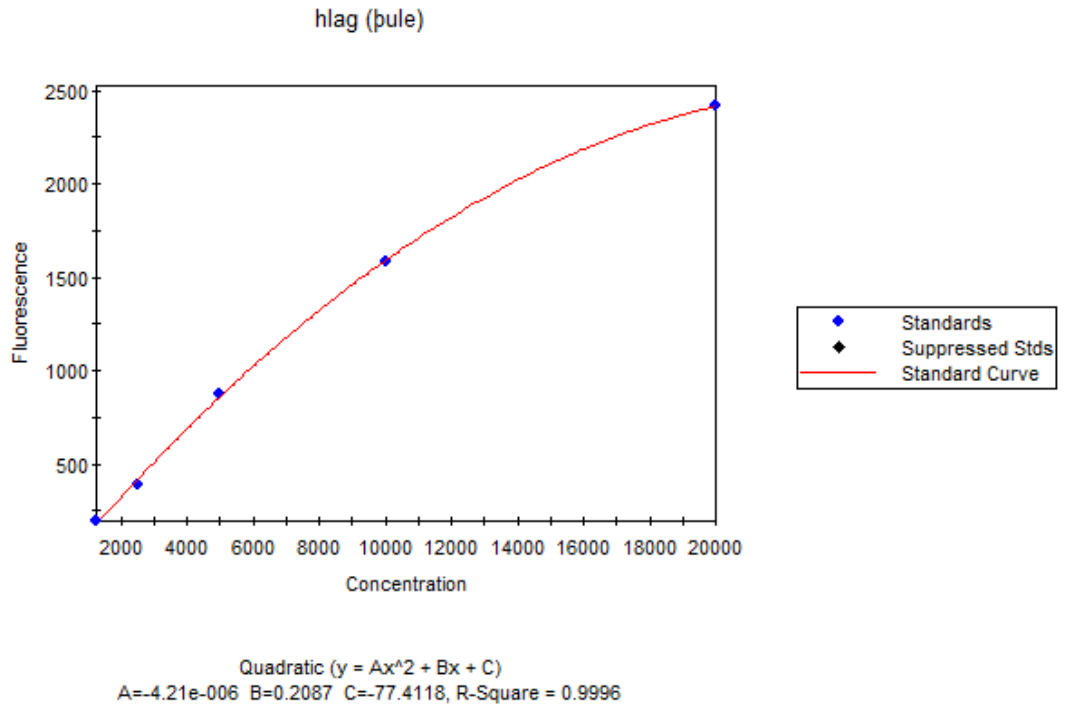
Plaka kilitli alüminyum poşet ile kaplanarak 37°C etüvde 10 dakika inkübe edildi.

İnkübasyonun sonunda bütün kuyucuklara 50 µl reaksiyonu durdurma solüsyonu eklendi.

Streptavidin-HRP'nin substratları parçalamasıyla mavi-sarı renk değişimleri gözlemlendi.

Bio-Rad, iMark Mikroplate Reader spektrofotometrede 450nm dalga boyunda absorbans değeri belirlenerek sHLA-G düzeyi (U/ml) hesaplandı.

Her bir örnek için çift okumalar ortalanarak sıfır standart optik dansite belirlendi. Y ekseninde her bir standart için ortalama optik dansite değerleri; X ekseninde de konsantrasyon olacak şekilde standart bir eğri çizildi.



4. BULGULAR

Bu araştırma geriye dönük, olgu-kontrol tipi bir çalışma olup, 01.01.2013 ile 01.01.2020 tarihleri arasında AÜHONM’de böbrek nakli olan 18 yaş üstü 250 hastadan oluşmaktadır. Araştırmaya olgu grubu olarak; akut veya kronik rejeksiyon tanısı alan (hayatta olan veya olmayan) 125 18 yaş üstü böbrek nakli hastaları alınmıştır. Kontrol grubu olarak ise; olgu grubu ile aynı sayıda, aynı cinsiyette ve aynı yaşta iken böbrek nakli olup akut veya kronik rejeksiyon olmayan böbrek nakli hastaları alınmıştır.

Çalışmaya alınan olgu grubunda akut rejeksiyon tanısı alanlar %41,6 iken, kronik rejeksiyon tanısı alanlar %58,4’dür. Akut rejeksiyon tanısı alanların %76,9’u (40 olgu) akut antikor aracılı rejeksiyon, %23,1’i (12 olgu) T hücre aracılı rejeksiyondur. Kronik rejeksiyon tanısı alanların %94,5’i (69 olgu) kronik aktif humoral rejeksiyon, %5,5’i (4 olgu) kronik T hücre aracılı rejeksiyondur. Araştırmaya alınan olgu grubunun tanı durumu Tablo 4.1.’de sunulmuştur.

Tablo 4.1. Çalışmaya Alınan Olgu Grubunun Tanı Durumu

Özellikler	Olgu Grubu	
	Sayı	%*
Tanı		
Akut Rejeksiyon	52	41,6
Kronik Rejeksiyon	73	58,4
Toplam	125	100,0

* sütun yüzdesi

Her bir olgu için, böbrek nakli olunan yaş ve cinsiyet bakımından olgu ile eşleşen bir kontrol araştırmaya alınmıştır. Araştırmaya alınanların olgu ve kontrol gruplarına göre böbrek nakli olunan yaş ve cinsiyet dağılımı Tablo 4.2.’de sunulmuştur.

Tablo 4.2. Çalışmaya Alınan Böbrek Nakli Hastalarının Olgu ve Kontrol Gruplarına Göre Naklin Yapıldığı Yaş ve Cinsiyet Dağılımı

Özellikler	Olgu Grubu				Kontrol Grubu				Toplam	
	Erkek		Kadın		Erkek		Kadın		Sayı	%*
	Sayı	%*	Sayı	%*	Sayı	%*	Sayı	%*		
Nakildeki Yaş										
18	2	2,9	0	0,0	2	2,9	0	0,0	4	1,6
19	0	0,0	1	1,8	0	0,0	1	1,8	2	0,8
20	1	1,4	1	1,8	1	1,4	1	1,8	4	1,6
21	1	1,4	1	1,8	1	1,4	1	1,8	4	1,6
22	1	1,4	2	3,6	1	1,4	2	3,6	6	2,4
23	1	1,4	0	0,0	1	1,4	0	0,0	2	0,8
24	2	2,9	2	3,6	2	2,9	2	3,6	8	3,2
25	2	2,9	2	3,6	2	2,9	2	3,6	8	3,2
26	1	1,4	0	0,0	1	1,4	0	0,0	2	0,8
27	1	1,4	3	5,4	1	1,4	3	5,4	8	3,2
28	1	1,4	1	1,8	1	1,4	1	1,8	4	1,6
29	2	2,9	3	5,4	2	2,9	3	5,4	10	4,0
30	4	5,8	1	1,8	4	5,8	1	1,8	10	4,0
31	3	4,3	0	0,0	3	4,3	0	0,0	6	2,4
32	1	1,4	1	1,8	1	1,4	1	1,8	4	1,6
33	3	4,3	3	5,4	3	4,3	3	5,4	12	4,8
34	2	2,9	2	3,6	2	2,9	2	3,6	8	3,2
35	3	4,3	4	7,1	3	4,3	4	7,1	14	5,6
36	2	2,9	1	1,8	2	2,9	1	1,8	6	2,4
37	2	2,9	1	1,8	2	2,9	1	1,8	6	2,4
39	1	1,4	4	7,1	1	1,4	4	7,1	10	4,0
40	2	2,9	2	3,6	2	2,9	2	3,6	8	3,2
41	4	5,8	1	1,8	4	5,8	1	1,8	10	4,0
42	2	2,9	3	5,4	2	2,9	3	5,4	10	4,0
43	0	0,0	2	3,6	0	0,0	2	3,6	4	1,6
44	1	1,4	0	0,0	1	1,4	0	0,0	2	0,8
47	1	1,4	2	3,6	1	1,4	2	3,6	6	2,4
48	3	4,3	0	0,0	3	4,3	0	0,0	6	2,4
49	0	0,0	3	5,4	0	0,0	3	5,4	6	2,4
50	0	0,0	1	1,8	0	0,0	1	1,8	2	0,8
51	0	0,0	1	1,8	0	0,0	1	1,8	2	0,8
52	0	0,0	2	3,6	0	0,0	2	3,6	4	1,6
53	1	1,4	0	0,0	1	1,4	0	0,0	2	0,8
54	1	1,4	1	1,8	1	1,4	1	1,8	4	1,6
55	3	4,3	1	1,8	3	4,3	1	1,8	8	3,2
56	2	2,9	1	1,8	2	2,9	1	1,8	6	2,4
57	1	1,4	1	1,8	1	1,4	1	1,8	4	1,6
58	2	2,9	0	0,0	2	2,9	0	0,0	4	1,6
59	3	4,3	1	1,8	3	4,3	1	1,8	8	3,2
60	2	2,9	0	0,0	2	2,9	0	0,0	4	1,6
61	1	1,4	0	0,0	1	1,4	0	0,0	2	0,8
62	2	2,9	0	0,0	2	2,9	0	0,0	4	1,6
64	0	0,0	1	1,8	0	0,0	1	1,8	2	0,8
67	1	1,4	0	0,0	1	1,4	0	0,0	2	0,8
69	1	1,4	0	0,0	1	1,4	0	0,0	2	0,8
Toplam	69	100,0	56	100,0	69	100,0	56	100,0	250	100,0

* sütun yüzdesi

Nakil öncesi hipertansiyon hastası olanların oranı, akut rejeksiyon grubunda %28,8 iken, kontrol grubunda %29,9'dur ($p>0,05$). Nakil öncesi hipertansiyon varlığına göre akut rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Öncesi Hipertansiyon Varlığı

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Hipertansiyon Varlığı [¥]						
Var	15 (28,8)	14 (26,9)	29 (27,9)	1,10	(0,47-2,59)	1,000
Yok	37 (71,2)	38 (73,1)	75 (72,1)			
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)			

* sütun yüzdesi, ¥: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Nakil öncesi VUR hastası olanların oranı, akut rejeksiyon grubunda %19,2 iken, kontrol grubunda %15,4'dür ($p>0,05$). Nakil öncesi VUR varlığına göre akut rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Öncesi VUR Varlığı

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
VUR Varlığı [¥]						
Var	10 (19,2)	8 (15,4)	18 (17,3)	0,76	(0,28-2,12)	0,795
Yok	42 (80,8)	44 (84,6)	86 (82,7)			
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)			

* sütun yüzdesi, ¥: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Nakil öncesi Tip 1 DM hastası olanların oranı, akut rejeksiyon grubunda %7,7 iken, kontrol grubunda %15,4'dür ($p>0,05$). Nakil öncesi Tip 1 DM varlığına göre akut rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Öncesi Tip 1 DM Varlığı

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Tip 1 DM Varlığı [¥]						
Var	4 (7,7)	8 (15,4)	12 (11,5)	0,46	(0,13-1,63)	0,357
Yok	48 (92,3)	44 (84,6)	92 (88,5)			
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)			

* sütun yüzdesi, ¥: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Nakil öncesi Tip 2 DM hastası olanların oranı, akut rejeksiyon grubunda %11,5 iken, kontrol grubunda %8,0'dır ($p>0,05$). Nakil öncesi Tip 2 DM varlığına göre akut rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Öncesi Tip 2 DM Varlığı

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Tip 2 DM Varlığı [¥]						
Var	6 (11,5)	8 (15,4)	14 (13,5)	0,72	(0,23-2,23)	0,774
Yok	46 (88,5)	44 (84,6)	90 (86,5)			
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)			

* sütun yüzdesi, ¥: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Nakil öncesi PKB hastası olanların oranı, akut rejeksiyon grubunda %1,9 iken, kontrol grubunda %5,8'dir ($p>0,05$). Nakil öncesi PKB varlığına göre akut rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.7.).

Tablo 4.7. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Öncesi PKB Varlığı

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
PKB Varlığı [¶]						
Var	1 (1,9)	3 (5,8)	4 (3,8)	0,32	(0,03-3,18)	0,618
Yok	51 (98,1)	49 (94,2)	100 (96,2)			
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)			

* sütun yüzdesi, ¶: Fisher kesin ki-kare testi

Nakil öncesi diyaliz alanların oranı, akut rejeksiyon grubunda %69,2 iken, kontrol grubunda %53,8'dir ($p>0,05$). Nakil öncesi diyaliz varlığına göre akut rejeksiyon grubu

ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Öncesi Diyaliz Varlığı

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Diyaliz Varlığı [¥]						
Var	36 (69,2)	28 (53,8)	64 (61,5)	1,92	(0,86-4,30)	0,158
Yok	16 (30,8)	24 (46,2)	40 (38,5)			
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [¥]: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Hasta ile verici arasında akrabalık olmayanların oranı, akut rejeksiyon grubunda %63,5 iken, kontrol grubunda %28,8'dir ($p<0,05$). Hasta ile verici arasında akrabalık olmayanlarda, akraba olanlara göre akut rejeksiyon olma olasılığının 4,28 kat (%95 GA 1,88-9,76) arttığı saptanmıştır ($p<0,05$) (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hasta ile Verici Arasında Akrabalık Durumu

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Akrabalık Durumu [¥]						
Akraba Değil	33 (63,5)	15 (28,8)	48 (46,2)	4,28	(1,88-9,76)	0,001
Akraba	19 (36,5)	37 (71,2)	56 (53,8)			
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [¥]: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Hasta ile verici arasında cinsiyet uyumu (aynı cinsiyette) olmayanların oranı, akut rejeksiyon grubunda %50,0 iken, kontrol grubunda %51,9'dır ($p>0,05$). Hasta ile verici arasında cinsiyet uyumu (aynı cinsiyette) olmama durumuna göre akut rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.10).

Tablo 4.10. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hasta ile Verici Arasında Cinsiyet Uyumu Varlığı

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)		(Min-Mak)	
Cinsiyet Uyumu §						
Yok	26 (50,0)	27 (51,9)	53 (51,0)	0,93	(0,42-2,00)	0,844
Var	26 (50,0)	25 (48,1)	51 (49,0)			
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)			

* sütun yüzdesi, §: Ki-kare testi

Hasta ile verici arasında *HLA-A** aleli uyumu olmayanların oranı, akut rejeksiyon grubunda %33,6 iken, kontrol grubunda %22,4'dür ($p=0,05$). Hasta ile verici arasında *HLA-A** aleli uyumu varlığına göre akut rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,05$) (Tablo 4.11).

Tablo 4.11. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hasta ile Verici Arasında HLA-A Aleli Uyumu Varlığı

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)		(Min-Mak)	
HLA-A Uyumu §						
Uyum yok	42 (33,6)	28 (22,4)	70 (28,0)	1,75	(1,00-3,07)	0,050
En Az Bir Alel Uyumu	83 (66,4)	97 (77,6)	180 (72,0)			
Toplam	125 (100,0)	125 (100,0)	250(100,0)			

* sütun yüzdesi, §: Ki-kare testi

Hasta ile verici arasında *HLA-B** aleli uyumu olmayanların oranı, akut rejeksiyon grubunda %48,1 iken, kontrol grubunda %26,9'dur ($p<0,05$). Hasta ile verici arasında *HLA-B** aleli uyumu olmayanlarda, en az bir *HLA-B** aleli uyumu olanlara göre akut rejeksiyon olma olasılığının 2,51 kat (%95 GA 1,11-5,70) arttığı saptanmıştır ($p<0,05$) (Tablo 4.12).

Tablo 4.12. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hasta ile Verici Arasında HLA-B Aleli Uyumu Varlığı.

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
HLA-B Uyumu §						
Uyum yok	25 (48,1)	14 (26,9)	39 (37,5)	2,51	(1,41-5,70)	0,043
En Az Bir Alel Uyumu	27 (51,9)	38 (73,1)	65 (62,5)			
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104(100,0)			

* sütun yüzdesi, §: Ki-kare testi

Hasta ile verici arasında *HLA-DRB1** aleli uyumu varlığına göre akut rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.13).

Tablo 4.13. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hasta ile Verici Arasında HLA-DRB1 Aleli Uyumu

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
HLA-DRB1 Uyumu §						
Uyum yok	9 (17,3)	5 (9,6)	14 (13,5)	0,50	(0,16-1,64)	0,389
En Az Bir Alel Uyumu	43 (82,7)	47 (90,4)	90 (86,5)			
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)			

* sütun yüzdesi, §: Ki-kare testi

Hasta ile verici arasında *HLA- DRB1*11* aleli olanların oranı, akut rejeksiyon grubunda %63,5 iken, kontrol grubunda %71,2'dir ($p>0,05$). Hasta ile verici arasında *HLA-DRB1*11* aleli varlığına göre akut rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.14).

Tablo 4.14. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda HLA-DRB1*11 Aleli Varlığı

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%**)	Sayı (%**)	Sayı (%**)			
HLA-DRB1* 11 Aleli Varlığı ¥						
Var	33 (63,5)	37 (71,2)	70 (67,3)	0,70	(0,31-1,60)	0,531
Yok	19 (36,5)	15 (28,8)	34 (32,7)			
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)			

** sütun yüzdesi, ¥: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Hastalarda nakil öncesi HBsAb pozitifliği olanların oranı, akut rejeksiyon grubunda %65,4 iken, kontrol grubunda %59,6'dır ($p>0,05$). Hastalarda nakil öncesi HBsAb pozitifliği varlığına göre akut rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.15).

Tablo 4.15. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Öncesi HBsAb Varlığı

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
HBsAb Varlığı [¥]						
Var	34 (65,4)	31 (59,6)	65 (62,5)	1,28	(0,58-2,84)	0,685
Yok	18 (34,6)	21 (40,4)	39 (37,5)			
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [¥]: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Hastalarda nakil sonrası Antitimosit Globulin kullanmayanların oranı, akut rejeksiyon grubunda %32,7 iken, kontrol grubunda %40,4'dır ($p>0,05$). Hastalarda nakil sonrası Antitimosit Globulin kullanma durumuna göre akut rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.16).

Tablo 4.16. Akut rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Sonrası Antitimosit Globulin Kullanma Durumu

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Antitimosit Globulin Kullanımı [¥]						
Yok	17 (32,7)	21 (40,4)	38 (36,5)	0,72	(0,32-1,60)	0,541
Var	35 (67,3)	31 (59,6)	66 (63,5)			
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [¥]: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Hastalarda nakil sonrası Basiliximab kullanmayanların oranı, akut rejeksiyon grubunda %88,5 iken, kontrol grubunda %69,2'dir ($p<0,05$). Hastalarda nakil sonrası Basiliximab kullanmayanlarda, nakil sonrası Basiliximab kullananlara göre akut rejeksiyon olma olasılığının 3,41 kat (%95 GA 1,21-9,59) arttığı saptanmıştır ($p<0,05$) (Tablo 4.17).

Tablo 4.17. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Sonrası Basiliximab Kullanma Durumu

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	P
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Basiliximab Kullanımı [¥]						
Yok	46 (88,5)	36 (69,2)	82 (78,8)	3,41	(1,21-9,59)	0,031
Var	6 (11,5)	16 (30,8)	22 (21,2)			
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [¥]: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Hastalarda nakil sonrası Mikofenolat Mofetil kullananların oranı, akut rejeksiyon grubunda %67,5 iken, kontrol grubunda %86,5'dir ($p<0,05$). Hastalarda nakil sonrası Mikofenolat Mofetil kullananlarda, nakil sonrası Mikofenolat Mofetil kullanmayanlara göre akut rejeksiyon olma olasılığının 3,12 kat (%95 GA 1,66-8,36) arttığı saptanmıştır ($p<0,05$) (Tablo 4.18).

Tablo 4.18. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Sonrası Mikofenolat Mofetil Kullanma Durumu

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	P
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Mikofenolat Mofetil Kullanımı [¥]						
Var	35 (67,3)	45 (86,5)	80 (76,9)	3,12	(1,66-8,36)	0,036
Yok	17 (32,7)	7 (13,5)	24 (23,1)			
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [¥]: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Hastalarda nakil sonrası Siklosporin kullanmayanların oranı, akut rejeksiyon grubunda %86,5 iken, kontrol grubunda %73,1'dir ($p>0,05$). Hastalarda nakil sonrası Siklosporin kullanma durumuna göre akut rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.19).

Tablo 4.19. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Sonrası Siklosporin Kullanma Durumu

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Siklosporin Kullanımı [¥]						
Yok	45 (86,5)	38 (73,1)	83 (79,8)	2,37	(0,87-6,47)	0,143
Var	7 (13,5)	14 (26,9)	21 (20,2)			
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [¥]: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Hastalarda nakil sonrası Takrolimus kullanmayanların oranı, akut rejeksiyon grubunda %17,3 iken, kontrol grubunda %7,7'dir ($p>0,05$). Hastalarda nakil sonrası Takrolimus kullanma durumuna göre akut rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.20).

Tablo 4.20. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Sonrası Takrolimus Kullanma Durumu

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Takrolimus Kullanımı [¥]						
Yok	9 (17,3)	4 (7,7)	13 (12,5)	2,51	(0,72-8,75)	0,236
Var	43 (82,7)	48 (92,3)	91 (87,5)			
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [¥]: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Hastalarda nakil sonrası Sirolimus kullanmayanların oranı, akut rejeksiyon grubunda %90,4 iken, kontrol grubunda %75,0'dir ($p>0,05$). Hastalarda nakil sonrası Sirolimus kullanma durumuna göre akut rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.21).

Tablo 4.21. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Sonrası Sirolimus Kullanma Durumu

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Sirolimus Kullanımı [¥]						
Yok	47 (90,4)	39 (75,0)	86 (82,7)	3,13	(1,03-9,56)	0,070
Var	5 (9,6)	13 (25,0)	18 (17,3)			
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [¥]: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Hastalarda nakil sonrası Everolimus kullanmayanların oranı, akut rejeksiyon grubunda %71,2 iken, kontrol grubunda %76,9'dür ($p>0,05$). Hastalarda nakil sonrası Everolimus kullanma durumuna göre akut rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.22).

Tablo 4.22. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Sonrası Everolimus Kullanma Durumu

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Everolimus Kullanımı [¥]						
Yok	37 (71,2)	40 (76,9)	77 (74,0)	0,74	(0,31-1,79)	0,655
Var	15 (28,8)	12 (23,1)	27 (26,0)			
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [¥]: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Vericisi kadavra olanların oranı, akut rejeksiyon grubunda %50,0 iken, kontrol grubunda %17,3'dür ($p<0,05$). Vericisi kadavra olanlarda, vericisi canlı olanlara göre akut rejeksiyon olma olasılığının 4,78 kat (%95 GA 1,94-11,76) arttığı saptanmıştır ($p<0,05$) (Tablo 4.23).

Tablo 4.23. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Verici Tipi

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Verici Tipi [¥]						
Kadavra	26 (50,0)	9 (17,3)	35 (33,7)	4,78	(1,94-11,76)	0,001
Canlı	26 (50,0)	43 (82,7)	69 (66,3)			
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [¥]: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Vericisinde HBsAb pozitifliği olmayanların oranı, akut rejeksiyon grubunda %76,9 iken, kontrol grubunda %73,1'dir ($p>0,05$). Vericisinde HBsAb pozitifliği varlığına göre akut rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.24).

Tablo 4.24. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Vericide HBsAb Varlığı

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
HBsAb Varlığı §						
Yok	40 (76,9)	38 (73,1)	78 (75,0)	1,23	(0,50-2,99)	0,651
Var	12 (23,1)	14 (26,9)	26 (25,0)			
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)			

* sütun yüzdesi, §: Ki-kare testi

Vericinin sağ böbreğinin nakledildiği hastaların oranı, akut rejeksiyon grubunda %55,8 iken, kontrol grubunda %46,2'dir ($p>0,05$). Vericiden nakledilen organ tipine (sağ böbrek, sol böbrek) göre akut rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.25).

Tablo 4.25. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Verici Organ Tipi

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Organ Tipi ¥						
Sağ Böbrek	29 (55,8)	24 (46,2)	53 (51,0)	1,47	(0,70-1,19)	0,433
Sol Böbrek	23 (44,2)	28 (53,8)	51 (49,0)			
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)			

* sütun yüzdesi, ¥: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Hasta ile verici arasında kan grubu uyumu olmayanların oranı, akut rejeksiyon grubunda %19,2 iken, kontrol grubunda %7,7'dir ($p>0,05$). Hasta ile verici arasında kan grubu uyumu varlığına göre akut rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.26).

Tablo 4.26. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hasta ile Verici Arasında Kan Grubu Uyumu

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Kan Grubu Uyumu [¶]						
Yok	10 (19,2)	4 (7,7)	14 (13,5)	2,86	(0,83-9,79)	0,151
Var	42 (80,8)	48 (92,3)	90 (86,5)			
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [¶]: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Hasta ile verici arasında Rh uyumu olmayanların oranı, akut rejeksiyon grubunda %7,7 iken, kontrol grubunda %9,6'dır ($p>0,05$). Hasta ile verici arasında Rh uyumu varlığına göre akut rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.27).

Tablo 4.27. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hasta ile Verici Arasında Rh Uyumu

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Rh Uyumu [¶]						
Yok	4 (7,7)	5 (9,6)	9 (8,7)	0,78	(0,19-3,09)	1,000
Var	48 (92,3)	47 (90,4)	95 (91,3)			
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [¶]: Fisher kesin ki-kare testi

HLA-G 14bç homozigot delesyon polimorfizmi olan hastaların akut rejeksiyon olma sıklığı (%16,7), *HLA-G* 14bç heterozigot polimorfizmi olanlara (%54,8) ve *HLA-G* 14bç homozigot insersiyon polimorfizmi olanlara (%88,5) göre daha düşüktür. Hastalarda *HLA-G* polimorfizmine göre akut rejeksiyon olma sıklığı arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo 4.28).

Tablo 4.28. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda *HLA-G* Polimorfizm Durumu

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)	
Polimorfizm [§]				
Homozigot İnsersiyon**	23 (88,5)	3 (11,5)	26 (100,0)	0,0001
Heterozigot**	23 (54,8)	19 (45,2)	42 (100,0)	
Homozigot Delesyon**	6 (16,7)	30 (83,3)	36 (100,0)	
Toplam	52 (50,0)	52 (50,0)	104 (100,0)	

* satır yüzdesi, ** farkı yaratan satır, [§]: Ki-kare testi

Vericilerin *HLA-G* polimorfizmine göre akut rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.29).

Tablo 4.29. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Vericilerde *HLA-G* Polimorfizm Durumu

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)	
Polimorfizm §				
Homozigot İnsersiyon	8 (15,4)	10 (19,2)	18 (17,3)	0,603
Heterezigot	20 (38,5)	23 (44,2)	43 (41,3)	
Homozigot Delesyon	24 (46,2)	19 (36,5)	43 (41,3)	
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)	

* sütun yüzdesi, §: Ki-kare testi

Vericilerin yaş ortalamasına göre akut rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.30).

Tablo 4.30. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Vericilerin Yaş Dağılımı

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu (n:52)	Kontrol Grubu (n:52)	Toplam (n:104)	p
	Ort ± SS	Ort ± SS	Ort ± SS	
Vericilerin Yaşı ‡	48,52 ± 15,26	45,67 ± 13,94	47,10 ± 14,61	0,323

‡: İki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi

Hastaların nakil sonrası (akut rejeksiyonda, kontrol grubu için ise nakil sonrası olgu ile aynı sürede) sHLA-G seviyesi, akut rejeksiyon grubunda ($18,5883 \pm 22,6427$ U/ml) kontrol grubuna ($59,7902 \pm 27,7902$ U/ml) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo 4.31).

Tablo 4.31. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Nakil Sonrası (Akut Rejeksiyon Grubu için Rejeksiyonda, Kontrol Grubu için ise Nakil Sonrası Olgu ile Aynı Sürede) sHLA-G seviyesi (U/ml)

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu (n:52)	Kontrol Grubu (n:52)	Toplam (n:104)	p
	Ort ± SS	Ort ± SS	Ort ± SS	
sHLA-G (U/ml) ‡	18,5883 ± 22,6427	59,7902 ± 27,7902	39,1892 ± 32,6309	0,0001

‡: İki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi

Hastaların nakil öncesi sHLA-G seviyesine göre akut rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.32).

Tablo 4.32. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Nakil Öncesi sHLA-G Seviyesi (U/ml)

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu (n:52)	Kontrol Grubu (n:52)	Toplam (n:104)	p
	Ort ± SS	Ort ± SS	Ort ± SS	
sHLA-G (U/ml) †	73,0910 ± 28,7470	69,5033 ± 37,8209	71,2971 ± 33,4768	0,587

†: İki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi

Hastaların nakil öncesi kreatinin seviyesine göre akut rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.33).

Tablo 4.33. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Nakil Öncesi Kreatinin Seviyesi (mg/dL)

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu (n:52)	Kontrol Grubu (n:52)	Toplam (n:104)	p
	Ort ± SS	Ort ± SS	Ort ± SS	
Kreatinin (mg/dL) †	5,46 ± 2,35	4,82 ± 1,52	5,14 ± 2,00	0,103

†: İki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi

Hastaların meslek durumuna göre akut rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.34).

Tablo 4.34. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Meslek Dağılımı

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)	
Meslek §				
İşsiz	34 (65,4)	35 (67,3)	69 (66,3)	0,973
İşçi / Esnaf	5 (9,6)	5 (9,6)	10 (9,6)	
Memur	13 (25,0)	12 (23,1)	25 (24,0)	
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)	

* sütun yüzdesi, §: Ki-kare testi

Vericilerin meslek durumuna göre akut rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.35).

Tablo 4.35. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Vericilerin Meslek Dağılımı

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)	
Meslek §				
İşsiz	36 (69,2)	31 (59,6)	67 (64,4)	0,540
İşçi / Esnaf	5 (9,6)	8 (15,4)	13 (12,5)	
Memur	11 (21,2)	13 (25,0)	24 (23,1)	
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)	

* sütun yüzdesi, §: Ki-kare testi

Hastaların eğitim durumuna göre akut rejeksiyon ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.36).

Tablo 4.36. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Eğitim Durumu

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Eğitim Durumu ¥						
İlköğretim	24 (46,2)	24 (46,2)	48 (46,2)	1,10	(0,46-2,16)	1,000
Lise ve üzeri	28 (53,8)	28 (53,8)	56 (53,8)			
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)			

* sütun yüzdesi, ¥: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Vericilerin eğitim durumuna göre akut rejeksiyon ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.37).

Tablo 4.37. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Vericilerin Eğitim Durumu

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Eğitim Durumu ¥						
İlköğretim	30 (57,7)	31 (59,6)	61 (58,7)	0,92	(0,42-2,02)	1,000
Lise ve üzeri	22 (42,3)	21 (40,4)	43 (41,3)			
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104(100,0)			

* sütun yüzdesi, ¥: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Hastaların medeni durumuna göre akut rejeksiyon ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.38).

Tablo 4.38. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Medeni Durumu

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Medeni Durumu [¶]						
Evli	33 (63,5)	37 (71,2)	70 (67,3)	0,70	(0,31-1,60)	0,531
Bekar	19 (36,5)	15 (28,8)	34 (32,7)			
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [¶]: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Vericilerin medeni durumuna göre akut rejeksiyon ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.39).

Tablo 4.39. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Vericilerin Medeni Durumu

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Medeni Durumu [¶]						
Evli	39 (75,0)	38 (73,1)	77 (74,0)	1,11	(0,46-2,66)	1,000
Bekar	13 (25,0)	14 (26,9)	27 (26,0)			
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [¶]: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Hastaların nakil öncesi transfüzyon durumuna göre akut rejeksiyon ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.40).

Tablo 4.40. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Nakil Öncesi Transfüzyon Durumu

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)	
Transfüzyon [§]				
Olmamış	29 (55,8)	32 (61,5)	61 (58,7)	0,797
Bir defa	20 (38,5)	18 (34,6)	38 (36,5)	
İki defa	3 (5,8)	2 (3,8)	5 (4,8)	
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)	

* sütun yüzdesi, [§]: Ki-kare testi

Kadın hastaların nakil öncesi gebelik durumuna göre akut rejeksiyon ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.41).

Tablo 4.41. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Kadın Hastaların Nakil Öncesi Gebelik Durumu

Özellikler	Akut Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)		(Min-Mak)	
Gebelik[¥]						
Var	17 (32,7)	17 (32,7)	34 (32,7)	1,00	(0,44-2,26)	1,000
Yok	35 (67,3)	35 (67,3)	70 (67,3)			
Toplam	52 (100,0)	52 (100,0)	104 (100,0)			

* sütun yüzdesi, ¥: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

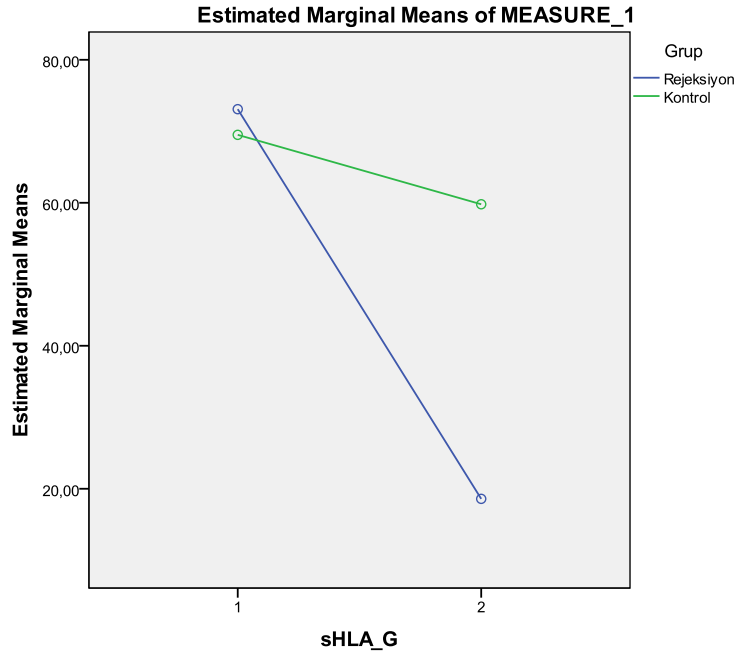
Akut rejeksiyon grubunda sHLA-G seviyesi nakil öncesine ($73,09 \pm 28,75$ U/ml) göre nakil sonrasında ($18,58 \pm 22,64$ U/ml) daha düşüktür. Akut rejeksiyon grubunda nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki düşme istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Kontrol grubunda sHLA-G seviyesi nakil öncesine ($69,50 \pm 37,82$ U/ml) göre nakil sonrasında ($59,79 \pm 27,80$ U/ml) daha düşüktür. Kontrol grubunda nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki düşme istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Buna göre hem akut rejeksiyon grubunun hem de kontrol grubunun sHLA-G seviyesi ortalaması nakil sonrası azalmıştır. Nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki düşme akut rejeksiyon grubunda ($54,50 \pm 38,77$ U/ml) kontrol grubuna ($9,71 \pm 15,72$ U/ml) göre daha fazladır. Akut rejeksiyon grubu ve kontrol grubuna göre nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki düşme miktarı arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$) Buna göre nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesi ortalaması akut rejeksiyon grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha çok düşmüştür ($p<0,05$) (Tablo 4.42).

Tablo 4.42. Akut Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Nakil Öncesi ve Nakil Sonrası (Akut Rejeksiyon Grubu için Rejeksiyonda, Kontrol Grubu için ise Nakil Sonrası Olgu ile Aynı Sürede) sHLA-G seviyesi (U/ml)

Özellikler	Nakil Öncesi sHLA-G (U/ml)	Nakil Sonrası sHLA-G (U/ml)	Nakil Öncesine Göre Nakil Sonrası sHLA-G Seviyesindeki Düşme (U/ml)	p
	Ort ± SS	Ort ± SS	Ort ± SS	
Akut Rejeksiyon Grubu (n:52)^Φ	73,09 ± 28,75	18,58 ± 22,64	54,50 ± 38,77	0,0001
Kontrol Grubu (n:52)^Φ	69,50 ± 37,82	59,79 ± 27,80	9,71 ± 15,72	0,0001

^Φ: İki eş arasındaki farkın önemlilik testi

Şekil 4.1.'de Tablo 4.42'nin grafik üzerinde gösterilmesi yer almaktadır. Grafik üzerinde görüldüğü gibi hem akut rejeksiyon grubunun hem de kontrol grubunun sHLA-G seviyesi ortalaması nakil sonrası istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p<0,05$). Nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesi ortalaması akut rejeksiyon grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha çok düşmüştür ($p<0,05$) (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. Akut rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Nakil Öncesi ve Nakil Sonrası sHLA-G Seviyesinin (U/ml) Grafikte Gösterilmesi

HLA-G 14bç homozigot delesyon polimorfizmi olan hastaların (akut rejeksiyon ve kontrol grubu) nakil sonrası sHLA-G seviyesi ($52,05 \pm 29,98$ U/ml), *HLA-G* 14bç heterozigot polimorfizmi olanlara ($34,82 \pm 29,78$ U/ml) ve *HLA-G* 14bç homozigot insersiyon polimorfizmi olanlara ($28,44 \pm 35,83$ U/ml) göre daha yüksektir. Hastalarda (akut rejeksiyon ve kontrol grubu) *HLA-G* polimorfizmine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$) (Tablo 4.43).

Tablo 4.43. *HLA-G* Polimorfizmine Göre Hastaların (Akut Rejeksiyon ve Kontrol Grubu) Nakil Sonrası (Akut Rejeksiyon Grubu için Rejeksiyonda, Kontrol Grubu için ise Nakil Sonrası Olgu ile Aynı Sürede) sHLA-G seviyesi (U/ml)

Özellikler	Homozigot Delesyon* (n:36)	Heterozigot (n:42)	Homozigot İnsersiyon (n: 26)	p
	Ort $\pm$ SS	Ort $\pm$ SS	Ort $\pm$ SS	
Nakil sonrası sHLA-G (U/ml) [†]	52,05 $\pm$ 29,98	34,82 $\pm$ 29,78	28,44 $\pm$ 35,83	0,009

* farkı yaratan grup (Homozigot Delesyon), [†]: Varyans analizi

Hastalarda (akut rejeksiyon ve kontrol grubu) *HLA-G* polimorfizmine göre nakil öncesi sHLA-G seviyesi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Tablo 4.44).

Tablo 4.44. *HLA-G* Polimorfizmine Göre Hastaların (Akut Rejeksiyon ve Kontrol Grubu) Nakil Öncesi sHLA-G seviyesi (U/ml)

Özellikler	Homozigot Delesyon (n:36)	Heterozigot (n:42)	Homozigot İnsersiyon (n: 26)	p
	Ort $\pm$ SS	Ort $\pm$ SS	Ort $\pm$ SS	
Nakil öncesi sHLA-G (U/ml) [†]	65,60 $\pm$ 29,62	68,94 $\pm$ 29,29	82,98 $\pm$ 42,23	0,109

[†]: Varyans analizi

Homozigot delesyon *HLA-G* polimorfizmi olan hastalarda (akut rejeksiyon ve kontrol grubu) sHLA-G seviyesi nakil öncesine ($65,60 \pm 29,62$ U/ml) göre nakil sonrasında ($52,05 \pm 29,98$ U/ml) daha düşüktür. Homozigot delesyon *HLA-G* polimorfizmi olan hastalarda nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki düşme istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Heterozigot *HLA-G* polimorfizmi olan hastalarda sHLA-G seviyesi nakil öncesine ($68,94 \pm 29,29$ U/ml) göre nakil sonrasında $34,82 \pm 29,78$ U/ml) daha düşüktür. Heterozigot *HLA-G* polimorfizmi olan hastalarda nakil

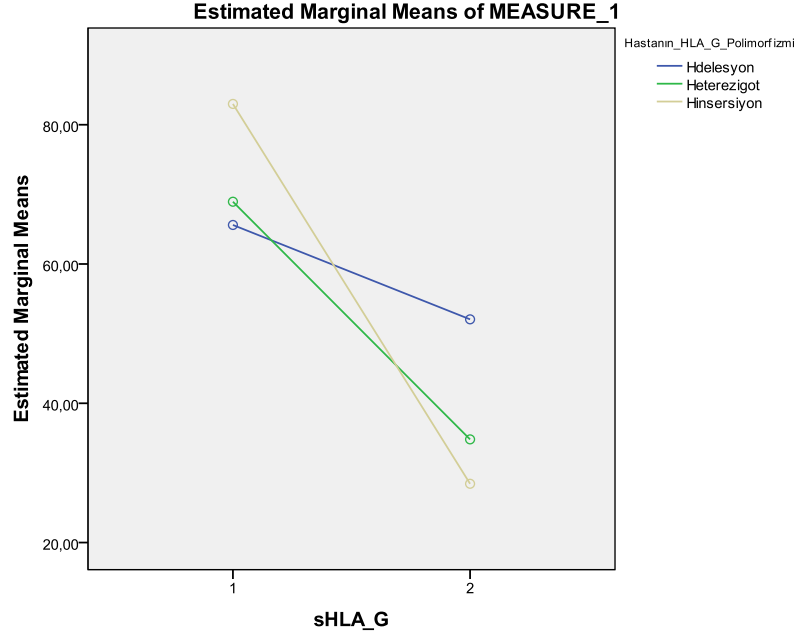
öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki düşme istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Homozigot insersiyon *HLA-G* polimorfizmi sHLA-G seviyesi nakil öncesine ($82,88 \pm 42,23$ U/ml) göre nakil sonrasında ($28,44 \pm 35,83$ U/ml) daha düşüktür. Homozigot insersiyon *HLA-G* polimorfizmi nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki düşme istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Buna göre homozigot delesyon, heterozigot ve homozigot insersiyon *HLA-G* polimorfizmi olan hastaların sHLA-G seviyesi ortalaması nakil sonrası azalmıştır. Nakil öncesi ve nakil sonrası sHLA-G seviyesi farkı homozigot delesyon *HLA-G* polimorfizmi olan hastalarda ($13,55 \pm 19,67$ U/ml) heterozigot *HLA-G* polimorfizmi olan hastalara ($34,12 \pm 36,60$ U/ml) ve homozigot insersiyon *HLA-G* polimorfizmi olan hastalara ($54,54 \pm 43,51$ U/ml) göre daha düşüktür. *HLA-G* polimorfizmine göre nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki düşme istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Buna göre nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesi ortalaması homozigot delesyon *HLA-G* polimorfizmi olan hastalarda diğerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha az düşmüştür. (Tablo 4.45).

Tablo 4.45. HLA-G Polimorfizmine Göre Hastaların (Akut Rejeksiyon ve Kontrol Grubu) Nakil Öncesi ve Nakil Sonrası sHLA-G seviyesi (U/ml)

Özellikler	Nakil Öncesi sHLA-G (U/ml)	Nakil Sonrası sHLA-G (U/ml)	Nakil Öncesine Göre Nakil Sonrası sHLA-G Seviyesindeki Düşme (U/ml)	p
	Ort $\pm$ SS	Ort $\pm$ SS	Ort $\pm$ SS	
Homozigot Delesyon (n:36) ^Φ	65,60 $\pm$ 29,62	52,05 $\pm$ 29,98	13,55 $\pm$ 19,67	0,0001
Heterozigot (n:42) ^Φ	68,94 $\pm$ 29,29	34,82 $\pm$ 29,78	34,12 $\pm$ 36,60	0,0001
Homozigot İnsersiyon (n:26) ^Φ	82,88 $\pm$ 42,23	28,44 $\pm$ 35,83	54,54 $\pm$ 43,51	0,0001

^Φ: İki eş arasındaki farkın önemlilik testi

Şekil 4.2’de Tablo 4.45’in grafik üzerinde gösterilmesi yer almaktadır. Grafik üzerinde görüldüğü gibi homozigot delesyon, heterozigot ve homozigot insersiyon *HLA-G* polimorfizmi olan hastaların sHLA-G seviyesi ortalaması nakil sonrası istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır. Nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesi ortalaması homozigot delesyon *HLA-G* polimorfizmi olan hastalarda diğerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha az düşmüştür (Şekil 4.2.).



Şekil 4.2. Hastaların (Akut Rejeksiyon ve Kontrol Grubu) HLA-G Polimorfizmine Göre Nakil Öncesi ve Nakil Sonrası sHLA-G Seviyesinin (U/ml) Grafikte Gösterilmesi

Ayrıca, akut rejeksiyon olmasını belirleyen bağımsız faktörlerin belirlenmesinde çoklu analizlerden lojistik regresyon (Backward LR) kullanılmıştır.

Akut rejeksiyon (AMR ve TCMR) olma durumunu etkileyebilecek faktörleri belirlemek amacıyla kullanılan lojistik regresyon analizine giren değişkenler Tablo 4.46'da açıklanmıştır.

Tablo 4.46. Akut Rejeksiyon Olma veya Olmama Durumunu Etkileyebilecek Farklı Faktörleri Belirleyebilmek İçin Yapılan Lojistik Regresyon Analizinde Kullanılan Değişkenler ve Özellikleri

Bağımsız Değişkenler	Değişken Türü	Referans Grup
Nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki düşme (U/ml)**	Sürekli	
Verici tipi	Dikotom	Canlı
Basiliximab kullanımı	Dikotom	Var
MMF kullanımı	Dikotom	Yok
Kan grubu uyumu	Dikotom	Var
Hasta ile verici HLA-B* alel uyumu	Dikotom	Var
Hasta ile verici akrabalığı	Dikotom	Var

** Nakil sonrası (olgu grubu için rejeksiyonda, kontrol grubu için ise nakil sonrası olgu ile aynı sürede)

Lojistik regresyon analizine göre böbrek nakli hastalarında akut rejeksiyon olma olasılığının, hastanın nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki bir

U/ml’lik düşmede 1,06 kat (%95 GA 1,04-1,09), hasta ile verici arasında akrabalık olmaması durumunda 5,44 kat (%95 GA 1,80-16,40) arttığı saptanmıştır (p<0,05) (Tablo 4.47).

Tablo 4.47. Böbrek Nakli Hastalarında Akut Rejeksiyon Varlığı ile İlişkili Değişkenler

Değişkenler**	B	S.H.	Wald	p	OR	%95 GA	
						min	mak
Nakil Sonrası sHLA-G Seviyesindeki Düşme (U/ml)	0,061	0,013	24,004	0,0001	1,063	1,038	1,090
Akrabalık Yok	1,693	0,563	9,032	0,003	5,437	1,802	16,402
Sabit	-2,542	0,528	23,147	0,0001	0,079		
-2 Log likelihood: 81,813							
Nagelkerke R ² : 0,601							

** Lojistik regresyon analizi, Kategoriler: “Kontrol (rejeksiyon olmayan)”, “Akut Rejeksiyon”. Referans kategori: “Kontrol (rejeksiyon olmayan)”.

i. Model: hasta ile verici arasında kan grubu uyumu, hasta ile verici arasında akrabalık durumu, hasta ile verici arasında HLA-B* aleli uyumu, vericinin tipi, hastada nakil sonrası basiliximab kullanma durumu, hastada nakil sonrası MMF kullanma durumu, hastanın nakil öncesine göre nakil sonrası (olgu grubu için rejeksiyonda, kontrol grubu için ise nakil sonrası olgu ile aynı sürede) sHLA-G seviyesindeki düşme (U/ml).

ii. Modelde hastanın nakil öncesine göre nakil sonrası (olgu grubu için rejeksiyonda, kontrol grubu için ise nakil sonrası olgu ile aynı sürede) sHLA-G seviyesindeki düşme (U/ml) sürekli değişken olarak, diğer değişkenler ise gruplandırılmış değişkenler olarak yer almıştır.

iii. Modelde yer alan ancak ilişkileri anlamlı bulunmayan diğer değişkenler tabloda gösterilmemiştir.

iv. Analiz, 52 akut rejeksiyon olan ve 52 kontrol grubu (rejeksiyon olmayan) olmak üzere toplam 104 erişkin (≥18 yaş) böbrek nakilli hasta üzerinde yapılmıştır.

Nakil öncesi hipertansiyon hastası olanların oranı, kronik rejeksiyon grubunda %24,7 iken, kontrol grubunda %21,9’dur (p>0,05). Nakil öncesi hipertansiyon varlığına göre kronik rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p>0,05) (Tablo 4.48).

Tablo 4.48. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Öncesi Hipertansiyon Varlığı

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Hipertansiyon Varlığı [¥]						
Var	18 (24,7)	16 (21,9)	34 (23,3)	1,17	(0,54-2,51)	0,845
Yok	55 (75,3)	57 (78,1)	112 (76,7)			
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)			

* sütun yüzdesi, ¥: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Nakil öncesi VUR hastası olanların oranı, kronik rejeksiyon grubunda %17,8 iken, kontrol grubunda %11,0'dır ($p>0,05$). Nakil öncesi VUR varlığına göre kronik rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.49).

Tablo 4.49. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Öncesi VUR Varlığı

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
VUR Varlığı [¥]						
Var	13 (17,8)	8 (11,0)	21 (14,4)	1,76	(0,68-4,54)	0,346
Yok	60 (82,2)	65 (89,0)	125 (85,6)			
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)			

* sütun yüzdesi, ¥: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Nakil öncesi Tip 1 DM hastası olanların oranı, kronik rejeksiyon grubunda %13,7 iken, kontrol grubunda %12,3'dür ($p>0,05$). Nakil öncesi Tip 1 DM varlığına göre kronik rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.50).

Tablo 4.50. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Öncesi Tip 1 DM Varlığı

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Tip 1 DM Varlığı [¥]						
Var	10 (13,7)	9 (12,3)	19 (13,0)	1,12	(0,43-2,96)	1,000
Yok	63 (86,3)	64 (87,7)	127 (87,0)			
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)			

* sütun yüzdesi, ¥: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Nakil öncesi Tip 2 DM hastası olanların oranı, kronik rejeksiyon grubunda %9,6 iken, kontrol grubunda %8,2'dir ($p>0,05$). Nakil öncesi Tip 2 DM varlığına göre kronik rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.51).

Tablo 4.51. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Öncesi Tip 2 DM Varlığı

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Tip 2 DM Varlığı[¥]						
Var	7 (9,6)	6 (8,2)	13 (8,9)	1,18	(0,38-3,71)	1,000
Yok	66 (90,4)	67 (91,8)	133 (91,1)			
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)			

* sütun yüzdesi, ¥: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Nakil öncesi PKB hastası olanların oranı, kronik rejeksiyon grubunda %11,0 iken, kontrol grubunda %9,6'dır ($p>0,05$). Nakil öncesi PKB varlığına göre kronik rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.52).

Tablo 4.52. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Öncesi PKB Varlığı

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
PKB Varlığı[¥]						
Var	8 (11,0)	7 (9,6)	15 (10,3)	1,60	(0,40-3,39)	1,000
Yok	65 (89,0)	66 (90,4)	131 (89,7)			
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)			

* sütun yüzdesi, ¥: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Nakil öncesi diyaliz alanların oranı, kronik rejeksiyon grubunda %72,6 iken, kontrol grubunda %54,8'dir ($p<0,05$). Nakil öncesi diyaliz alanlarda, diyaliz almayanlara göre kronik rejeksiyon olma olasılığının 2,19 kat (%95 GA 1,09-4,36) arttığı saptanmıştır ($p<0,05$) (Tablo 4.53).

Tablo 4.53. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Öncesi Diyaliz Varlığı

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Diyaliz Varlığı [¥]						
Var	53 (72,6)	40 (54,8)	93 (63,7)	2,19	(1,09-4,36)	0,039
Yok	20 (27,4)	33 (46,2)	53 (36,3)			
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [¥]: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Hasta ile verici arasında akrabalık olmayanların oranı, kronik rejeksiyon grubunda %50,7 iken, kontrol grubunda %32,9'dur ($p<0,05$). Hasta ile verici arasında akrabalık olmayanlarda, akraba olanlara göre kronik rejeksiyon olma olasılığının 2,09 kat (%95 GA 1,07-4,10) arttığı saptanmıştır ($p<0,05$) (Tablo 4.54).

Tablo 4.54. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hasta ile Verici Arasında Akrabalık Durumu

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Akrabalık Durumu [¥]						
Akraba Değil	37 (50,7)	24 (32,9)	61 (41,8)	2,10	(1,07-4,10)	0,044
Akraba	36 (49,3)	49 (67,1)	85 (58,2)			
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [¥]: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Hasta ile verici arasında cinsiyet uyumu (aynı cinsiyette) olmama durumuna göre kronik rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.55).

Tablo 4.55. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hasta ile Verici Arasında Cinsiyet Uyumu Varlığı

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Cinsiyet Uyumu [§]						
Yok	36 (49,3)	43 (58,9)	79 (54,1)	0,68	(0,35-1,31)	0,245
Var	37 (50,7)	30 (41,1)	67 (45,9)			
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [§]: Ki-kare testi

Hasta ile verici arasında *HLA-A** aleli uyumu varlığına göre kronik rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.56).

Tablo 4.56. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hasta ile Verici Arasında *HLA-A* Aleli Uyumu Varlığı

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
HLA-A Uyumu [¥]						
Uyum yok	25 (34,2)	16 (21,9)	41 (28,1)	1,86	(0,89-3,87)	0,141
En Az Bir Alel Uyumu	48 (65,8)	57 (78,1)	105 (71,9)			
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [¥]: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Hasta ile verici arasında *HLA-B** aleli uyumu olmayanların oranı, kronik rejeksiyon grubunda %42,5 iken, kontrol grubunda %23,3'dür ($p<0,05$). Hasta ile verici arasında *HLA-B** aleli uyumu olmayanlarda, en az bir *HLA-B** aleli uyumu olanlara göre kronik rejeksiyon olma olasılığının 0,41 kat (%95 GA 0,20-0,84) arttığı saptanmıştır ($p<0,05$) (Tablo 4.57).

Tablo 4.57. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hasta ile Verici Arasında *HLA-B* Aleli Uyumu Varlığı

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
HLA-B Uyumu [¥]						
Uyum yok	31 (42,5)	17 (23,3)	48 (32,9)	2,43	(1,19-4,97)	0,022
En Az Bir Alel Uyumu	42 (57,5)	56 (76,7)	98 (67,1)			
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	250(100,0)			

* sütun yüzdesi, [¥]: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Hasta ile verici arasında *HLA-DRB1** aleli uyumu varlığına göre kronik rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.58).

Tablo 4.58. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hasta ile Verici Arasında HLA-DRB1 Aleli Uyumu

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
HLA-DRB1 Uyumu [¶]						
Uyum yok	12 (16,4)	8 (11,0)	20 (13,7)	1,60	(0,61-4,18)	0,470
En Az Bir Alel Uyumu	61 (83,6)	65 (89,0)	126 (86,3)			
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [¶]: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Hasta ile verici arasında *HLA- DRB1*11* aleli uyumu varlığına göre kronik rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.59).

Tablo 4.59. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda HLA-DRB1*11 Aleli Varlığı

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%**)	Sayı (%**)	Sayı (%**)			
HLA-DRB1* 11 Aleli Varlığı [§]						
Var	26 (35,6)	25 (34,2)	51 (34,9)	1,06	(0,531-2,09)	0,862
Yok	47 (64,4)	48 (65,8)	95 (65,1)			
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)			

** sütun yüzdesi, [§]: Ki-kare testi

Hastalarda nakil öncesi HBsAb pozitifliği olanların oranı, kronik rejeksiyon grubunda %68,5 iken, kontrol grubunda %49,3'dür ($p<0,05$). Hastalarda nakil öncesi HBsAb pozitifliği olanlarda, nakil öncesi HBsAb pozitifliği olmayanlara göre kronik rejeksiyon olma olasılığının 2,23 kat (%95 GA 1,14-4,38) arttığı saptanmıştır ($p<0,05$) (Tablo 4.60).

Tablo 4.60. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Öncesi HBsAb Varlığı

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
HBsAb Varlığı [¶]						
Var	50 (68,5)	36 (49,3)	86 (58,9)	2,23	(1,14-4,38)	0,029
Yok	23 (31,5)	37 (50,7)	60 (41,1)			
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [¶]: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Hastalarda nakil sonrası Antitimosit Globulin kullanma durumuna göre kronik rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.61).

Tablo 4.61. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Sonrası Antitimosit Globulin Kullanma Durumu

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)		(Min-Mak)	
Antitimosit Globulin Kullanımı §						
Yok	34 (46,6)	34 (46,6)	68 (46,6)	1,00	(0,52-1,92)	1,000
Var	39 (53,4)	39 (53,4)	78 (53,4)			
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)			

* sütun yüzdesi, §: Ki-kare testi

Hastalarda nakil sonrası Basiliximab kullanma durumuna göre kronik rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,05$) (Tablo 4.62).

Tablo 4.62. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Sonrası Basiliximab Kullanma Durumu

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA	P
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)		(Min-Mak)	
Basiliximab Kullanımı ₺						
Yok	56 (76,7)	44 (60,3)	100 (68,5)	2,17	(1,06-4,45)	0,050
Var	17 (23,3)	29 (39,7)	46 (31,5)			
Toplam	73 (100,0)	73 (50,0)	146 (100,0)			

* sütun yüzdesi, ¥: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Hastalarda nakil sonrası Mikofenolat Mofetil kullanma durumuna göre kronik rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.63).

Tablo 4.63. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Sonrası Mikofenolat Mofetil Kullanma Durumu

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA	P
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)		(Min-Mak)	
Mikofenolat Mofetil Kullanımı [¥]						
Yok	67 (91,8)	58 (79,5)	125 (85,6)	2,88	(1,05-7,93)	0,059
Var	6 (8,2)	15 (20,5)	21 (14,4)			
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [¥]: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Hastalarda nakil sonrası Siklosporin kullanma durumuna göre kronik rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0,05) (Tablo 4.64).

Tablo 4.64. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Sonrası Siklosporin Kullanma Durumu

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)		(Min-Mak)	
Siklosporin Kullanımı [¥]						
Yok	59 (80,8)	58 (79,5)	117 (80,1)	1,09	(0,48-2,46)	1,000
Var	14 (19,2)	15 (20,5)	29 (19,9)			
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [¥]: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Hastalarda nakil sonrası Takrolimus kullanma durumuna göre kronik rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0,05) (Tablo 4.65).

Tablo 4.65. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Sonrası Takrolimus Kullanma Durumu

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)		(Min-Mak)	
Takrolimus Kullanımı [¥]						
Yok	6 (8,2)	12 (16,4)	18 (12,3)	0,46	(0,16-1,29)	0,208
Var	67 (91,8)	61 (83,6)	128 (87,7)			
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [¥]: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Hastalarda nakil sonrası Sirolimus kullanma durumuna göre kronik rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.66).

Tablo 4.66. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Sonrası Sirolimus Kullanma Durumu

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Sirolimus Kullanımı [¥]						
Yok	58 (79,5)	61 (83,6)	119 (81,5)	0,76	(0,32-1,76)	0,670
Var	15 (20,5)	12 (16,4)	27 (18,5)			
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [¥]: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Hastalarda nakil sonrası Everolimus kullanma durumuna göre kronik rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.67).

Tablo 4.67. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda Nakil Sonrası Everolimus Kullanma Durumu

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Everolimus Kullanımı [¥]						
Yok	58 (79,5)	58 (79,5)	116 (79,5)	1,00	(0,45-2,23)	1,000
Var	15 (20,5)	15 (20,5)	30 (20,5)			
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [¥]: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Vericisi kadavra olanların oranı, kronik rejeksiyon grubunda %35,6 iken, kontrol grubunda %9,6'dır ($p<0,05$). Vericisi kadavra olanlarda, vericisi canlı olanlara göre kronik rejeksiyon olma olasılığının 5,22 kat (%95 GA 2,09-13,02) arttığı saptanmıştır ($p<0,05$) (Tablo 4.68).

Tablo 4.68. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Verici Tipi

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Verici Tipi [¥]						
Kadavra	26 (35,6)	7 (9,6)	33 (22,6)	5,22	(2,09-13,02)	0,001
Canlı	47 (64,4)	66 (90,4)	113 (77,4)			
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [¥]: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Vericisinde HBsAb pozitifliği varlığına göre kronik rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.69).

Tablo 4.69. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Vericide HBsAb Varlığı

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
HBsAb Varlığı [¥]						
Yok	54 (74,0)	58 (79,5)	112 (76,7)	0,74	(0,34-1,60)	0,557
Var	19 (26,0)	15 (20,5)	34 (23,3)			
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [¥]: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Vericiden nakledilen organ tipine (sağ böbrek, sol böbrek) göre kronik rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.70).

Tablo 4.70. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Verici Organ Tipi

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Organ Tipi [§]						
Sağ Böbrek	38 (52,1)	38 (52,1)	38 (52,1)	1,00	(0,52-1,91)	1,000
Sol Böbrek	35 (47,9)	35 (47,9)	35 (47,9)			
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [§]: Ki-kare testi

Hasta ile verici arasında kan grubu uyumu olmayanların oranı, kronik rejeksiyon grubunda %20,5 iken, kontrol grubunda %5,5'dir ($p<0,05$). Hasta ile verici arasında kan grubu uyumu olmayanlarda, kan grubu uyumu olanlara göre kronik rejeksiyon olma olasılığının 4,46 kat (%95 GA 1,40-14,19) arttığı saptanmıştır ($p<0,05$) (Tablo 4.71).

Tablo 4.71. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hasta ile Verici Arasında Kan Grubu Uyumu

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Kan Grubu Uyumu [¶]						
Yok	15 (20,5)	4 (5,5)	19 (13,0)	4,46	(1,40-14,19)	0,014
Var	58 (79,5)	69 (94,5)	127 (87,0)			
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [¶]: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Hasta ile verici arasında Rh uyumu varlığına göre kronik rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.72).

Tablo 4.72. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hasta ile Verici Arasında Rh Uyumu

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Rh Uyumu [¶]						
Yok	5 (6,8)	12 (16,4)	17 (11,6)	0,37	(0,12-1,12)	0,122
Var	68 (93,2)	61 (83,6)	129 (88,4)			
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)			

* sütun yüzdesi, [¶]: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Hastaların *HLA-G* polimorfizmine göre kronik rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.73).

Tablo 4.73. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastalarda *HLA-G* Polimorfizm Durumu

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)	
Polimorfizm [§]				
Homozigot İnsersiyon	12 (16,4)	12 (16,4)	24 (16,4)	0,255
Heterezigot	40 (54,8)	31 (42,5)	71 (48,6)	
Homozigot Delesyon	21 (28,8)	30 (41,1)	51 (34,9)	
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)	

* sütun yüzdesi, [§]: Ki-kare testi

Vericilerin *HLA-G* polimorfizmine göre kronik rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.74).

Tablo 4.74. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Vericilerde HLA-G Polimorfizm Durumu

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)	
Polimorfizm §				
Homozigot İnsersiyon	8 (11,0)	9 (12,3)	17 (11,6)	0,708
Heterezigot	24 (32,9)	28 (38,4)	52 (35,6)	
Homozigot Delesyon	41 (56,2)	36 (49,3)	77 (52,7)	
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)	

* sütun yüzdesi, §: Ki-kare testi

Vericilerin yaş ortalamasına göre kronik rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.75).

Tablo 4.75. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Vericilerin Yaş Dağılımı

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu (n:73)	Kontrol Grubu (n:73)	Toplam (n:146)	p
	Ort $\pm$ SS	Ort $\pm$ SS	Ort $\pm$ SS	
Vericilerin Yaşı ‡	47,86 $\pm$ 13,01	43,70 $\pm$ 14,84	45,78 $\pm$ 14,06	0,074

‡: İki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi

Hastaların nakil sonrası (kronik rejeksiyonda, kontrol grubu için ise nakil sonrası olgu ile aynı sürede) sHLA-G seviyesi, kronik rejeksiyon grubunda (13,7623 $\pm$ 5,4305 U/ml) kontrol grubuna (55,6042 $\pm$ 25,1919 U/ml) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo 4.76).

Tablo 4.76. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Nakil Sonrası (Kronik Rejeksiyon Grubu için Rejeksiyonda, Kontrol Grubu için ise Nakil Sonrası Olgu ile Aynı Sürede) sHLA-G seviyesi (U/ml)

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu (n:73)	Kontrol Grubu (n:73)	Toplam (n:146)	p
	Ort $\pm$ SS	Ort $\pm$ SS	Ort $\pm$ SS	
sHLA-G (U/ml) ‡	13,7623 $\pm$ 5,4305	55,6042 $\pm$ 25,1919	34,6833 $\pm$ 27,7574	0,0001

‡: İki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi

Hastaların nakil öncesi sHLA-G seviyesine göre kronik rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.77).

Tablo 4.77. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Nakil Öncesi sHLA-G Seviyesi (U/ml)

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu (n:73)	Kontrol Grubu (n:73)	Toplam (n:146)	p
	Ort ± SS	Ort ± SS	Ort ± SS	
sHLA-G (U/ml) †	59,8108 ± 24,1876	66,3762 ± 32,8558	63,0935 ± 28,9376	0,171

†: İki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi

Hastaların nakil öncesi kreatinin seviyesine göre kronik rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.34).

Hastaların nakil öncesi kreatinin seviyesi, kronik rejeksiyon grubunda ($5,72 \pm 2,21$ mg/dL) kontrol grubuna ($4,79 \pm 1,65$ mg/dL) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo 4.78).

Tablo 4.78. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Nakil Öncesi Kreatinin Seviyesi (mg/dL)

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu (n:73)	Kontrol Grubu (n:73)	Toplam (n:146)	p
	Ort ± SS	Ort ± SS	Ort ± SS	
Kreatinin (mg/dL) †	5,72 ± 2,21	4,79 ± 1,65	5,26 ± 2,00	0,005

†: İki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi

Hastaların meslek durumuna göre kronik rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.79).

Tablo 4.79. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Meslek Dağılımı

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)	
Meslek §				
İşsiz	44 (60,3)	37 (50,7)	81 (55,5)	0,340
İşçi / Esnaf	6 (8,2)	11 (15,1)	17 (11,6)	
Memur	23 (31,5)	25 (34,2)	48 (32,9)	
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)	

* sütun yüzdesi, §: Ki-kare testi

Vericilerin meslek durumuna göre kronik rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.80).

Tablo 4.80. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Vericilerin Meslek Dağılımı

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)	
Meslek §				
İşsiz	48 (65,8)	52 (71,2)	100 (68,5)	0,619
İşçi / Esnaf	12 (16,4)	8 (11,0)	20 (13,7)	
Memur	13 (17,8)	13 (17,8)	26 (17,8)	
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)	

* sütun yüzdesi, §: Ki-kare testi

Hastaların eğitim durumuna göre kronik rejeksiyon ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.81).

Tablo 4.81. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Eğitim Durumu

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Eğitim Durumu §						
İlköğretim	36 (49,3)	33 (45,2)	69 (47,3)	1,18	(0,62-2,26)	0,619
Lise ve üzeri	37 (50,7)	40 (54,8)	77 (52,7)			
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)			

* sütun yüzdesi, §: Ki-kare testi

Vericilerin eğitim durumuna göre kronik rejeksiyon ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.82).

Tablo 4.82. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Vericilerin Eğitim Durumu

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Eğitim Durumu §						
İlköğretim	48 (65,8)	40 (54,8)	88 (60,3)	1,58	(0,81-3,09)	0,176
Lise ve üzeri	25 (34,2)	33 (45,2)	58 (39,7)			
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)			

* sütun yüzdesi, §: Ki-kare testi

Hastaların medeni durumuna göre kronik rejeksiyon ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.83).

Tablo 4.83. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Medeni Durumu

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Medeni Durumu §						
Evli	47 (64,4)	47 (64,4)	94 (64,4)	1,00	(0,51-1,97)	1,000
Bekar	26 (35,6)	26 (35,6)	52 (35,6)			
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)			

* sütun yüzdesi, §: Ki-kare testi

Vericilerin medeni durumuna göre kronik rejeksiyon ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.84).

Tablo 4.84. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Vericilerin Medeni Durumu

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA (Min-Mak)	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)			
Medeni Durumu ¥						
Evli	59 (80,8)	58 (79,5)	117 (80,1)	1,09	(0,48-2,46)	1,000
Bekar	14 (19,2)	15 (20,5)	29 (19,9)			
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)			

* sütun yüzdesi, ¥: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

Hastaların nakil öncesi transfüzyon durumuna göre kronik rejeksiyon ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.85).

Tablo 4.85. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Nakil Öncesi Transfüzyon Durumu

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)	
Transfüzyon §				
Olmamış	44 (60,3)	54 (74,0)	98 (67,1)	0,212
Bir defa	26 (35,6)	17 (23,3)	43 (29,5)	
İki defa	3 (4,1)	2 (2,7)	5 (3,4)	
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146 (100,0)	

* sütun yüzdesi, §: Ki-kare testi

Kadın hastaların nakil öncesi gebelik durumuna göre kronik rejeksiyon ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.86).

Tablo 4.86. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Kadın Hastaların Nakil Öncesi Gebelik Durumu

Özellikler	Kronik Rejeksiyon Grubu	Kontrol Grubu	Toplam	OR	%95 GA	p
	Sayı (%*)	Sayı (%*)	Sayı (%*)		(Min-Mak)	
Gebelik[¥]						
Var	52 (71,2)	55 (75,3)	107 (73,3)	0,89	(0,43-1,84)	0,708
Yok	21 (28,8)	18 (24,7)	39 (26,7)			
Toplam	73 (100,0)	73 (100,0)	146(100,0)			

* sütun yüzdesi, ¥: Yates düzeltilmeli ki-kare testi

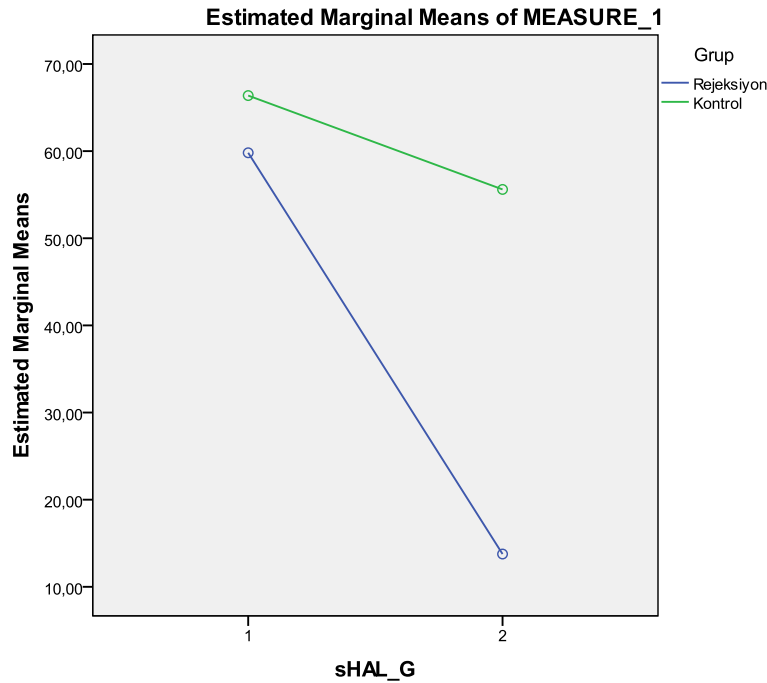
Kronik rejeksiyon grubunda sHLA-G seviyesi nakil öncesine ($59,81 \pm 24,19$ U/ml) göre nakil sonrasında ($13,76 \pm 05,43$ U/ml) daha düşüktür. Kronik rejeksiyon grubunda nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki düşme istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Kontrol grubunda sHLA-G seviyesi nakil öncesine ($66,38 \pm 32,86$ U/ml) göre nakil sonrasında ($55,60 \pm 25,20$ U/ml) daha düşüktür. Kontrol grubunda nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki düşme istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Buna göre hem kronik rejeksiyon grubunun hem de kontrol grubunun sHLA-G seviyesi ortalaması nakil sonrası azalmıştır. Nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki düşme kronik rejeksiyon grubunda ($46,05 \pm 23,80$ U/ml) kontrol grubuna ($10,77 \pm 13,37$ U/ml) göre daha fazladır. Kronik rejeksiyon grubu ve kontrol grubuna göre nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki düşme miktarı arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$) Buna göre nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesi ortalaması kronik rejeksiyon grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha çok düşmüştür ($p<0,05$) (Tablo 4.87).

Tablo 4.87. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Nakil Öncesi ve Nakil Sonrası (Kronik Rejeksiyon Grubu için Rejeksiyonda, Kontrol Grubu için ise Nakil Sonrası Olgu ile Aynı Sürede) sHLA-G seviyesi (U/ml)

Özellikler	Nakil Öncesi sHLA-G (U/ml)	Nakil Sonrası sHLA-G (U/ml)	Nakil Öncesine Göre Nakil Sonrası sHLA-G Seviyesindeki Düşme (U/ml)	p
	Ort ± SS	Ort ± SS	Ort ± SS	
Kronik Rejeksiyon Grubu (n:73) ^Φ	59,81 ± 24,19	13,76 ± 05,43	46,05 ± 23,80	0,0001
Kontrol Grubu (n:73) ^Φ	66,38 ± 32,86	55,60 ± 25,20	10,77 ± 13,37	0,0001

^Φ: İki eş arasındaki farkın önemlilik testi

Şekil 4.3.'de Tablo 4.87'nin grafik üzerinde gösterilmesi yer almaktadır. Grafik üzerinde görüldüğü gibi hem kronik rejeksiyon grubunun hem de kontrol grubunun sHLA-G seviyesi ortalaması nakil sonrası istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p<0,05$). Nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesi ortalaması kronik rejeksiyon grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha çok düşmüştür ($p<0,05$) (Şekil 4.3.).



Şekil 4.3. Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Gruplarına Göre Hastaların Nakil Öncesi ve Nakil Sonrası sHLA-G Seviyesinin (U/ml) Grafikte Gösterilmesi.

HLA-G 14bç homozigot delesyon polimorfizmi olan hastaların nakil sonrası sHLA-G seviyesi ($40,81 \pm 30,34$ U/ml), *HLA-G* 14bç heterozigot polimorfizmi olanlara ($32,54 \pm 27,54$ U/ml) ve *HLA-G* 14bç homozigot insersiyon polimorfizmi olanlara ($27,98 \pm 20,07$ U/ml) göre daha yüksektir. Hastalarda *HLA-G* polimorfizmine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p < 0,05$) (Tablo 4.88).

Tablo 4.88. *HLA-G* Polimorfizmine Göre Hastaların (Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Grubu) Nakil Sonrası (Kronik Rejeksiyon Grubu için Rejeksiyonda, Kontrol Grubu için ise Nakil Sonrası Olgu ile Aynı Sürede) sHLA-G seviyesi (U/ml)

Özellikler	Homozigot Delesyon (n:51)	Heterozigot (n:71)	Homozigot İnsersiyon (n: 24)	p
	Ort $\pm$ SS	Ort $\pm$ SS	Ort $\pm$ SS	
Nakil sonrası sHLA-G (U/ml) ^l	40,81 $\pm$ 30,34	32,54 $\pm$ 27,54	27,98 $\pm$ 20,07	0,115

^l: Varyans analizi

Hastalarda (kronik rejeksiyon ve kontrol grubu) *HLA-G* polimorfizmine göre nakil öncesi sHLA-G seviyesi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Tablo 4.89).

Tablo 4.89. *HLA-G* Polimorfizmine Göre Hastaların (Kronik Rejeksiyon ve Kontrol Grubu) Nakil Öncesi sHLA-G seviyesi (U/ml)

Özellikler	Homozigot Delesyon (n:87)	Heterozigot (n:113)	Homozigot İnsersiyon (n: 50)	p
	Ort $\pm$ SS	Ort $\pm$ SS	Ort $\pm$ SS	
Nakil öncesi sHLA-G (U/ml) ^l	66,06 $\pm$ 33,76	63,27 $\pm$ 26,07	56,27 $\pm$ 25,75	0,395

^l: Varyans analizi

Homozigot delesyon *HLA-G* polimorfizmi olan hastalarda sHLA-G seviyesi nakil öncesine ($66,06 \pm 33,76$ U/ml) göre nakil sonrasında ($40,82 \pm 30,34$ U/ml) daha düşüktür. Homozigot delesyon *HLA-G* polimorfizmi olan hastalarda nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki düşme istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Heterozigot *HLA-G* polimorfizmi olan hastalarda sHLA-G seviyesi nakil öncesine ($63,26 \pm 26,08$ U/ml) göre nakil sonrasında ($32,54 \pm 27,54$ U/ml) daha düşüktür. Heterozigot *HLA-G* polimorfizmi olan hastalarda nakil öncesine göre nakil

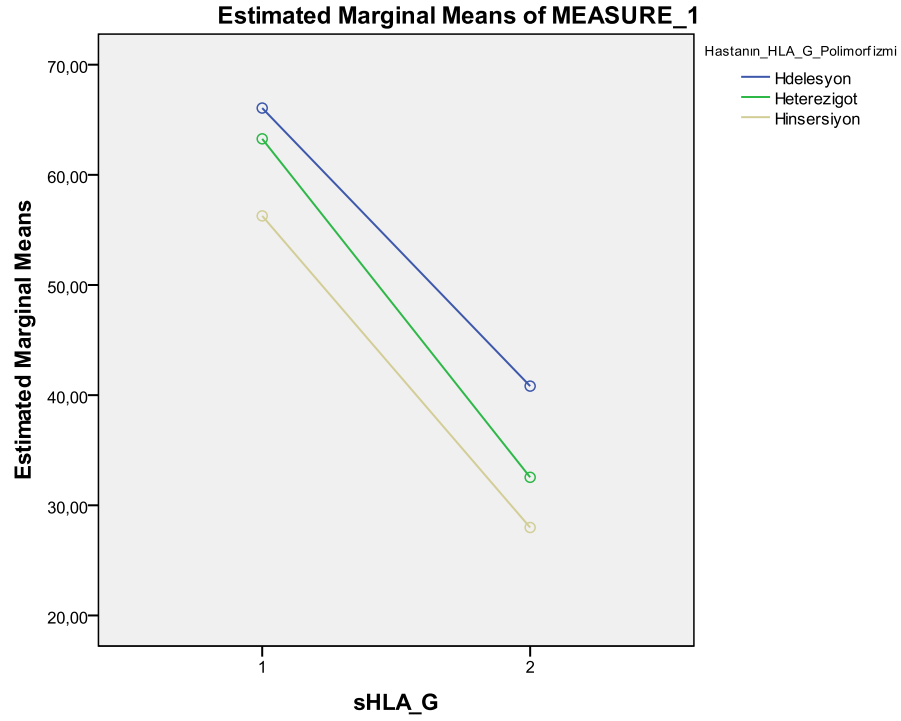
sonrası sHLA-G seviyesindeki düşme istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Homozigot insersiyon *HLA-G* polimorfizmi sHLA-G seviyesi nakil öncesine ($56,27 \pm 25,75$ U/ml) göre nakil sonrasında ($27,98 \pm 20,07$ U/ml) daha düşüktür. Homozigot insersiyon *HLA-G* polimorfizmi nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki düşme istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Buna göre homozigot delesyon, heterozigot ve homozigot insersiyon *HLA-G* polimorfizmi olan hastaların sHLA-G seviyesi ortalaması nakil sonrası azalmıştır. Nakil öncesi ve nakil sonrası sHLA-G seviyesi farkı homozigot delesyon *HLA-G* polimorfizmi olan hastalarda ($25,24 \pm 25,29$ U/ml) heterozigot *HLA-G* polimorfizmi olan hastalara ($30,72 \pm 25,57$ U/ml) ve homozigot insersiyon *HLA-G* polimorfizmi olan hastalara ($28,29 \pm 29,80$ U/ml) göre daha düşüktür. *HLA-G* polimorfizmine göre nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki düşme istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Buna göre nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesi ortalaması homozigot delesyon *HLA-G* polimorfizmi olan hastalarda diğerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha az düşmüştür ($p<0,05$) (Tablo 4.90).

Tablo 4.90. HLA-G Polimorfizmine Göre Kronik Rejeksiyon Hastalarının Nakil Öncesi ve Nakil Sonrası sHLA-G seviyesi (U/ml)

Özellikler	Nakil Öncesi sHLA-G (U/ml)	Nakil Sonrası sHLA-G (U/ml)	Nakil Öncesine Göre Nakil Sonrası sHLA-G Seviyesindeki Düşme (U/ml)	p
	Ort $\pm$ SS	Ort $\pm$ SS	Ort $\pm$ SS	
Homozigot Delesyon (n:87) ^Φ	66,06 $\pm$ 33,76	40,82 $\pm$ 30,34	25,24 $\pm$ 25,29	0,0001
Heterozigot (n:113) ^Φ	63,26 $\pm$ 26,08	32,54 $\pm$ 27,54	30,72 $\pm$ 25,57	0,0001
Homozigot İnsersiyon (n:50) ^Φ	56,27 $\pm$ 25,75	27,98 $\pm$ 20,07	28,29 $\pm$ 29,80	0,0001

^Φ: İki eş arasındaki farkın önemlilik testi

Şekil 4.4.'de Tablo 4.90'nın grafik üzerinde gösterilmesi yer almaktadır. Grafik üzerinde görüldüğü gibi homozigot delesyon, heterozigot ve homozigot insersiyon *HLA-G* polimorfizmi olan hastaların sHLA-G seviyesi ortalaması nakil sonrası istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p<0,05$). Nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesi ortalaması homozigot delesyon *HLA-G* polimorfizmi olan hastalarda diğerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha az düşmüştür ($p<0,05$) (Şekil 4.4.).



Şekil 4.4. Kronik Rejeksiyon Hastalarının HLA-G Polimorfizmine Göre Nakil Öncesi ve Nakil Sonrası sHLA-G Seviyesinin (U/ml) Grafikte Gösterilmesi.

Ayrıca, kronik rejeksiyon olmasını belirleyen bağımsız faktörlerin belirlenmesinde çoklu analizlerden lojistik regresyon (Backward LR) kullanılmıştır.

Kronik rejeksiyon (Krn Aktif Hum. Rej., Krn T Hücre Aracılı Rej.) olma durumunu etkileyebilecek faktörleri belirlemek amacıyla kullanılan lojistik regresyon analizine giren değişkenler Tablo 4.91’de açıklanmıştır.

Tablo 4.91. Kronik Rejeksiyon Olma veya Olmama Durumunu Etkileyebilecek Farklı Faktörleri Belirleyebilmek için Yapılan Lojistik Regresyon Analizinde Kullanılan Değişkenler ve Özellikleri

Bağımsız Değişkenler	Değişken Türü	Referans Grup
Nakil öncesi diyaliz öyküsü	Dikotom	Yok
Nakil öncesi kreatinin seviyesi (mg/dL)	Sürekli	
Nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki düşme (U/ml)**	Sürekli	
Hasta HBsAb	Dikotom	Yok
Verici tipi	Dikotom	Canlı
Kan grubu uyumu	Dikotom	Var
Hasta ile verici HLA-A* alel uyumu	Dikotom	Var
Hasta ile verici HLA-B* alel uyumu	Dikotom	Var
Hasta ile verici HLA-DRB1* alel uyumu	Dikotom	Var
Hasta ile verici akrabalığı	Dikotom	Var

** Nakil sonrası (olgu grubu için rejeksiyonda, kontrol grubu için ise nakil sonrası olgu ile aynı sürede)

Lojistik regresyon analizine göre böbrek nakli hastalarında rejeksiyon olma olasılığının, hastanın nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki bir U/ml'lik düşmede 1,14 kat (%95 GA 1,09-1,19) arttığı saptanmıştır (p<0,05) (Tablo 4.92).

Tablo 4.92. Böbrek Nakli Hastalarında Kronik Rejeksiyon Varlığı ile İlişkili Değişkenler

Değişkenler**	B	S.H.	Wald	p	OR	%95 GA	
						min	mak
Nakil Sonrası sHLA-G Seviyesindeki Düşme (U/ml)	0,127	0,022	32,534	0,0001	1,135	1,087	1,185
Sabit	-3,787	0,719	27,731	0,0001	0,023		
-2 Log likelihood: 100,518							
Nagelkerke R ² : 0,670							

** Lojistik regresyon analizi, Kategoriler: “Kontrol (rejeksiyon olmayan)”, “Kronik Rejeksiyon”. Referans kategori: “Kontrol (rejeksiyon olmayan)”.

i. Model: hasta ile verici arasında kan grubu uyumu, hasta ile verici arasında akrabalık durumu, hasta ile verici arasında HLA-A* aleli uyumu, hasta ile verici arasında HLA-B* aleli uyumu, hasta ile verici arasında HLA-DRB1* aleli uyumu, hastanın nakil öncesi kreatinin seviyesi (mg/dL), hastada nakil öncesi HBsAb varlığı, hastada nakil öncesi diyaliz varlığı, vericinin tipi, hastanın nakil öncesine göre nakil sonrası (olgu grubu için rejeksiyonda, kontrol grubu için ise nakil sonrası olgu ile aynı sürede) sHLA-G seviyesindeki düşme (U/ml).

ii. Modelde hastanın nakil öncesi kreatinin seviyesi (mg/dL), hastanın nakil öncesine göre nakil sonrası (olgu grubu için rejeksiyonda, kontrol grubu için ise nakil sonrası olgu ile aynı sürede) sHLA-G seviyesindeki düşme (U/ml) sürekli değişken olarak, diğer değişkenler ise gruplandırılmış değişkenler olarak yer almıştır.

iii. Modelde yer alan ancak ilişkileri anlamlı bulunmayan diğer değişkenler tabloda gösterilmemiştir.

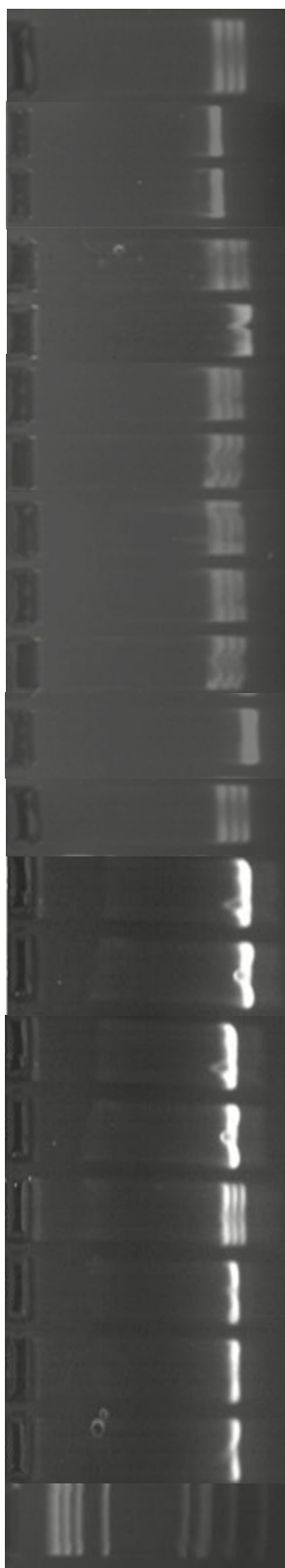
iv. Analiz, 73 kronik rejeksiyon olan ve 73 kontrol grubu (rejeksiyon olmayan) olmak üzere toplam 146 erişkin (≥18 yaş) böbrek nakilli hasta üzerinde yapılmıştır.

Akut ve kronik rejeksiyon hasta ve kontrol grupları ile vericilerinin *HLA-G* polimorfizm agaroz jel ve DNA dizi analiz görüntüleri Tablo 4.93'dedir.

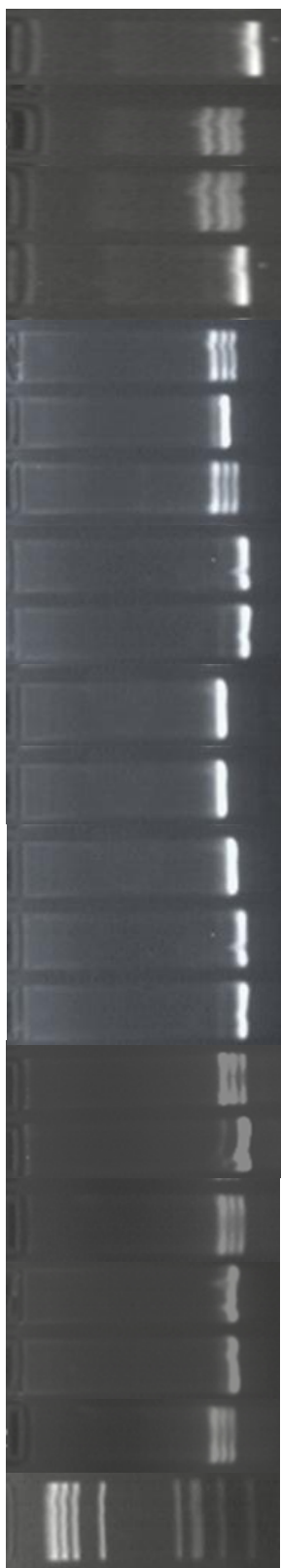
Tablo 4.93. Akut ve kronik rejeksiyon hasta ve kontrol grupları ile vericilerinin *HLA-G* polimorfizm agaroz jel ve DNA dizi analiz görüntüleri

Akut ve kronik rejeksiyon alıcılarının *HLA-G* polimorfizm agaroz jel ve DNA dizi analiz görüntüleri aşağıdaki gibidir.

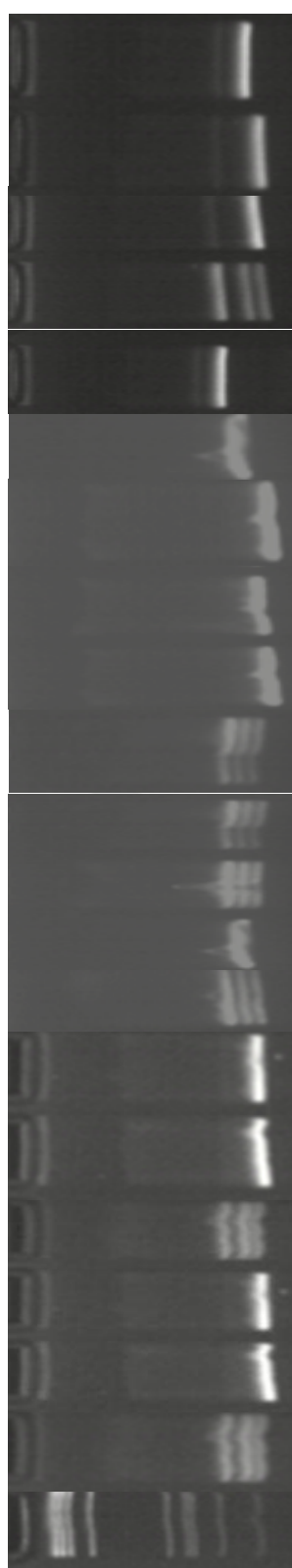


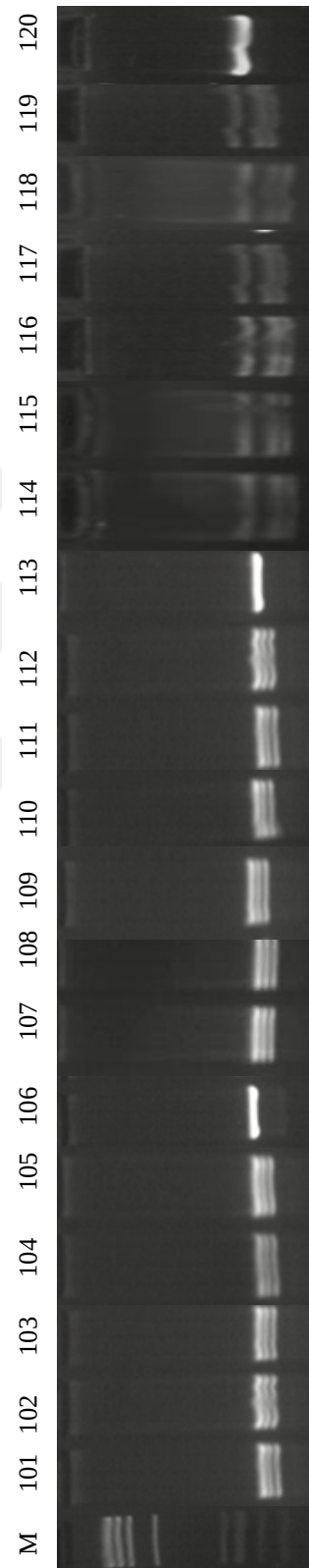
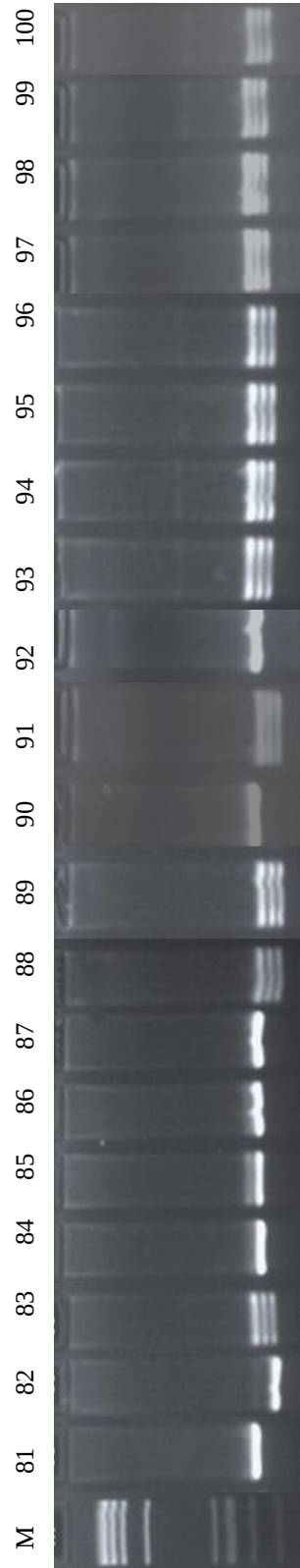
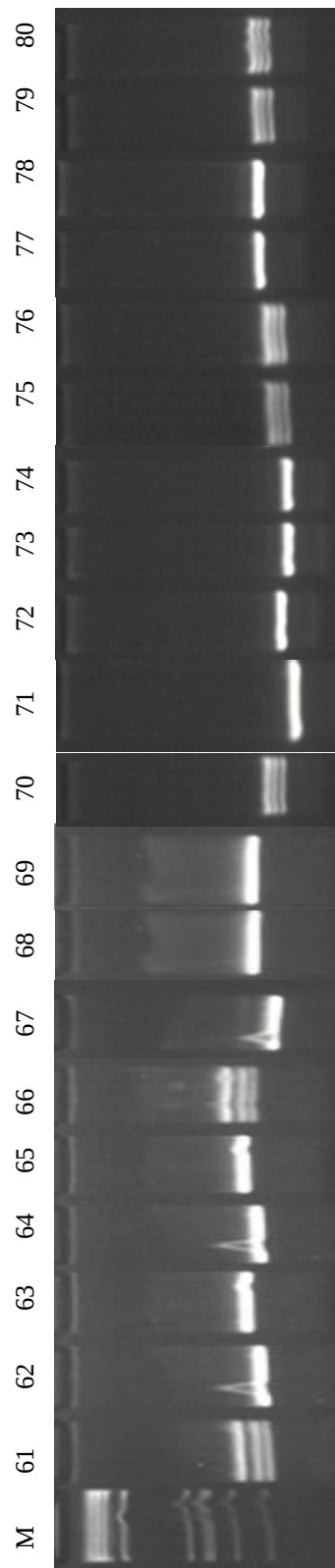


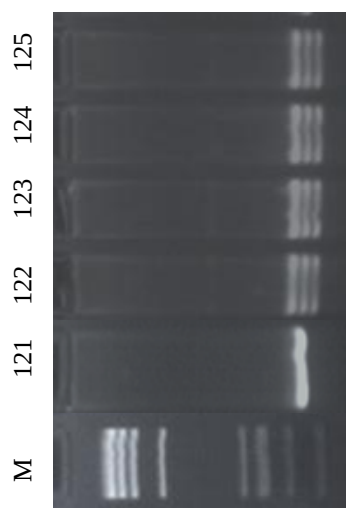
M 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40

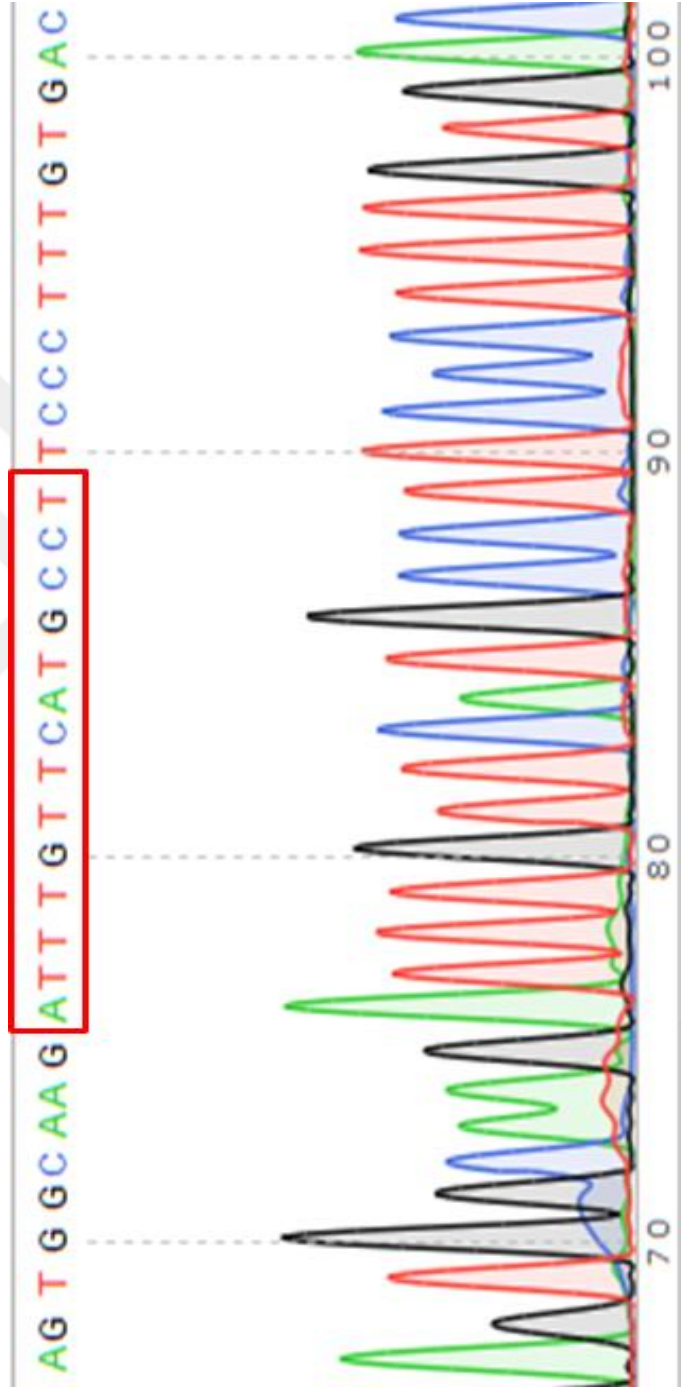


M 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60

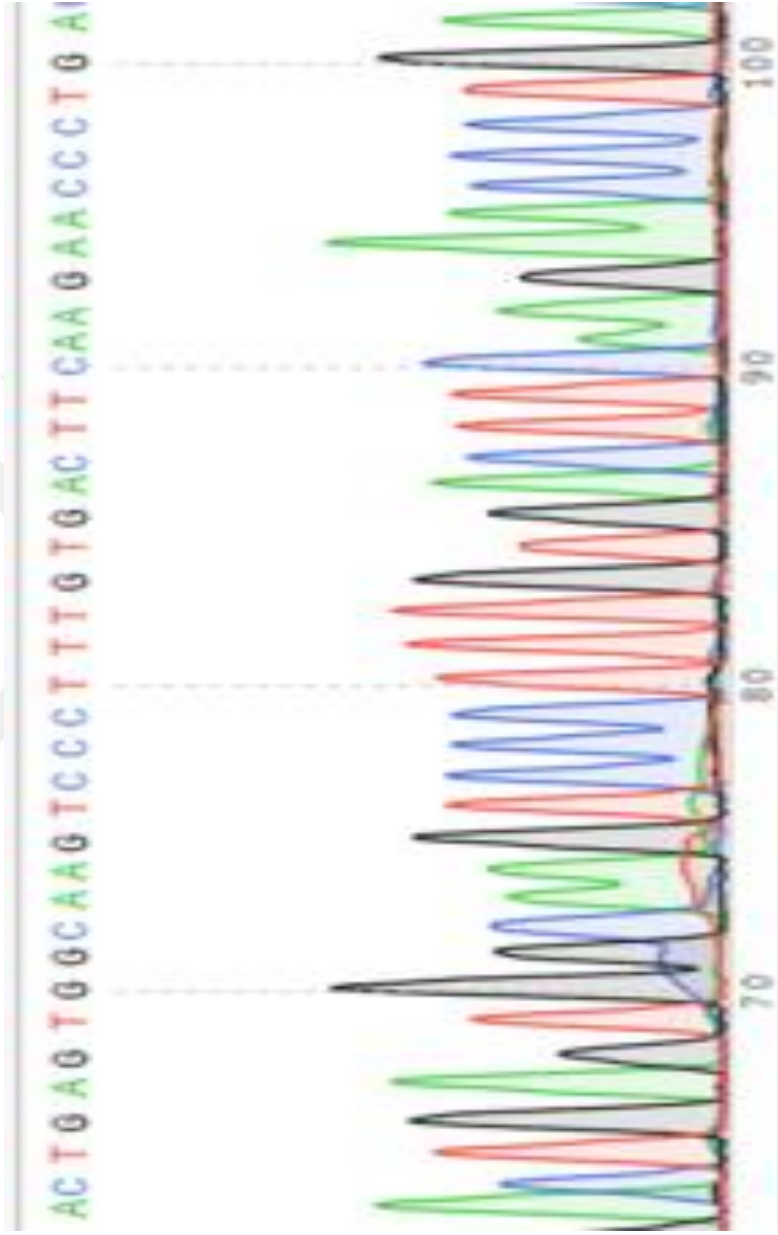




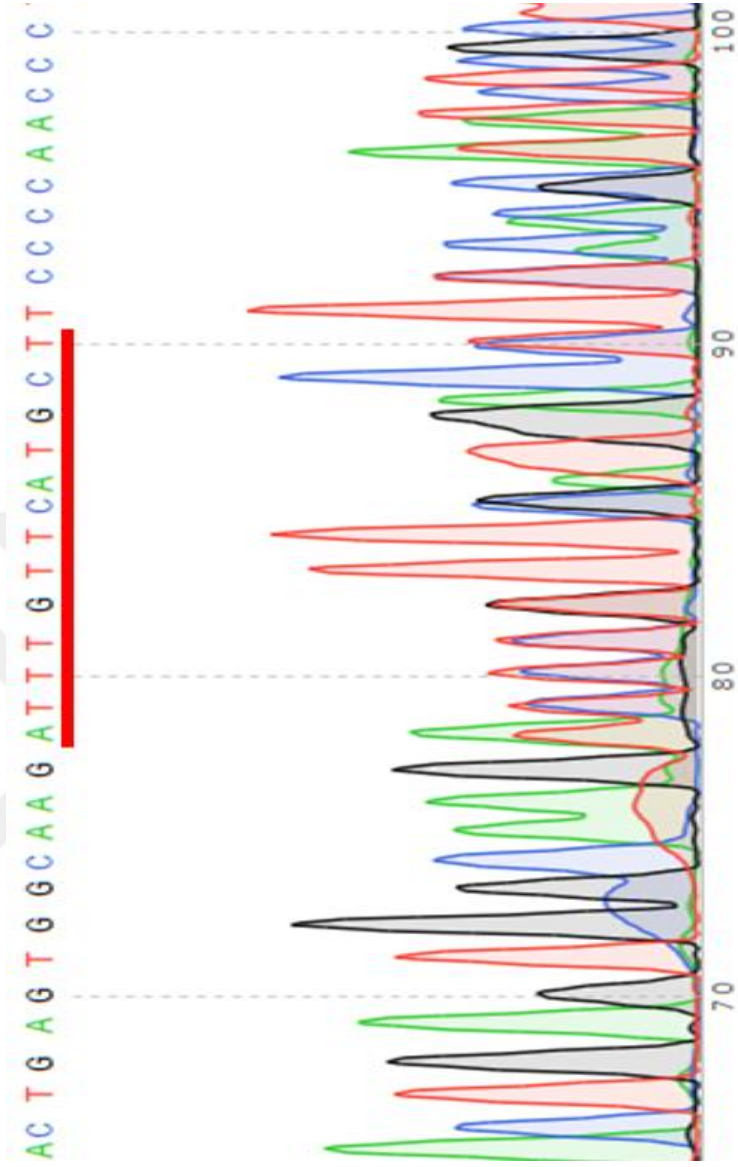




Homozigot İnsersiyon

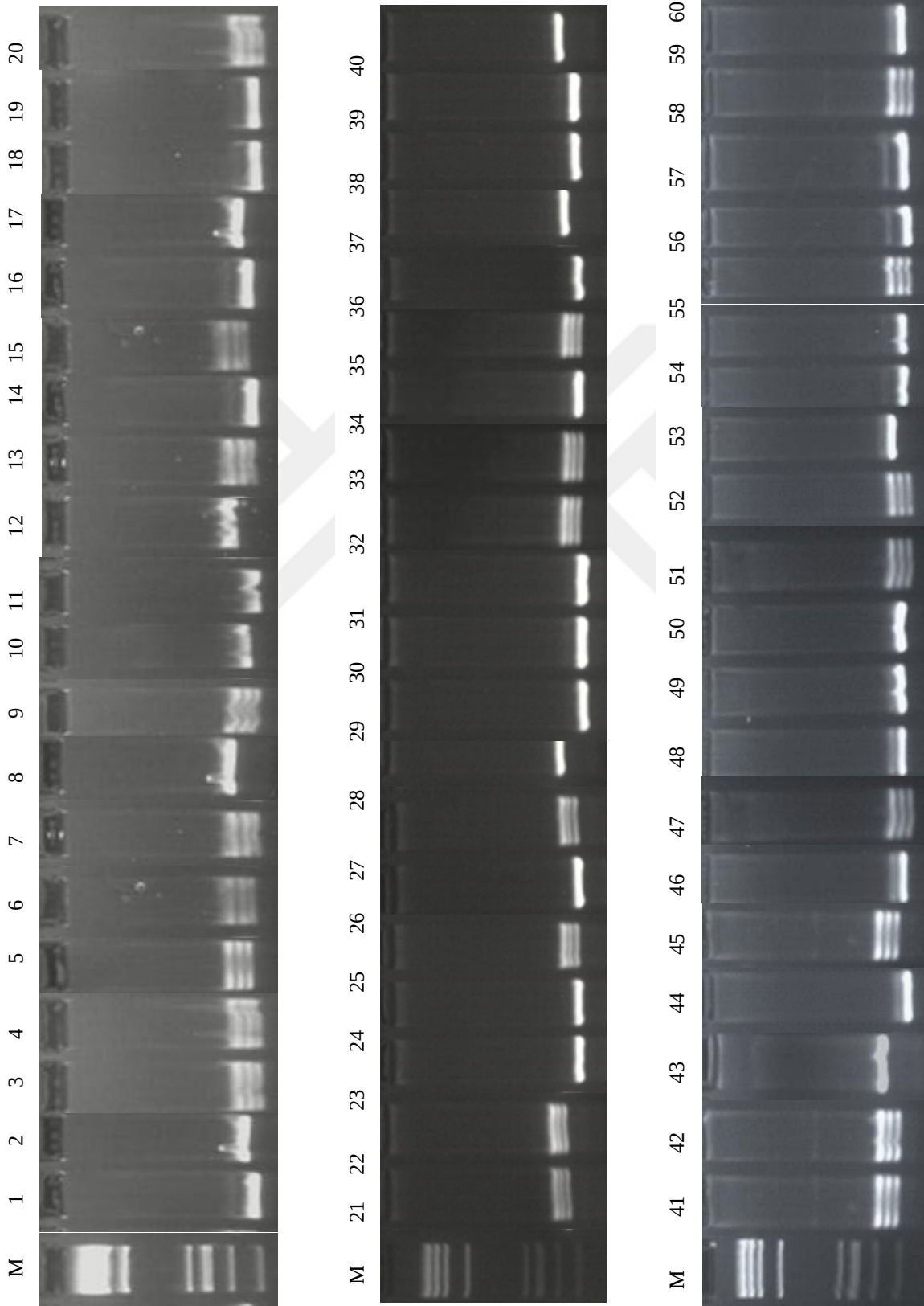


Homozigot Delesyon

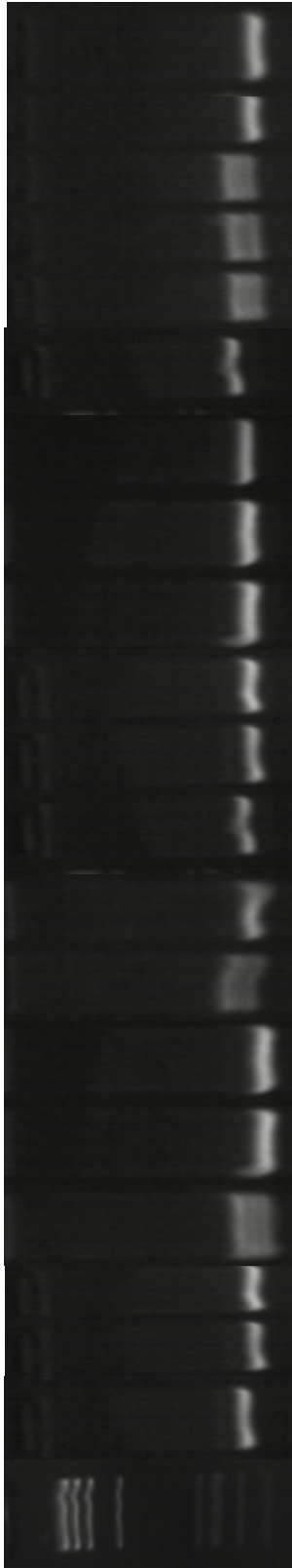


Heterozigot İnsersiyon

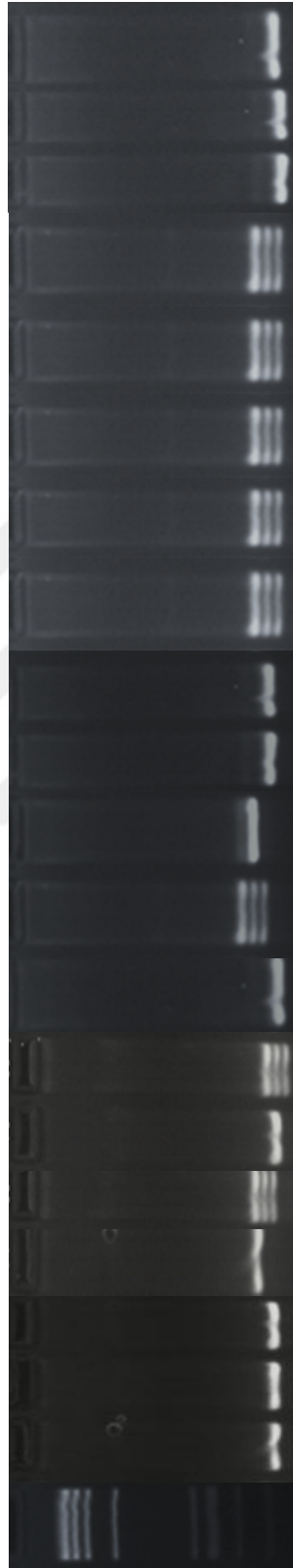
Kontrol grubunun HLA-G polimorfizm agaroz jel ve DNA dizi analiz görüntüleri aşağıdaki gibidir.



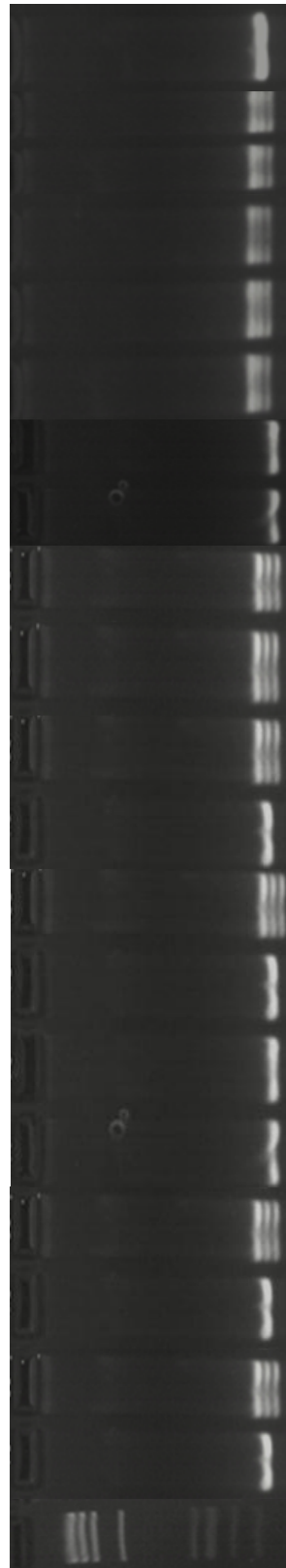
M 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80

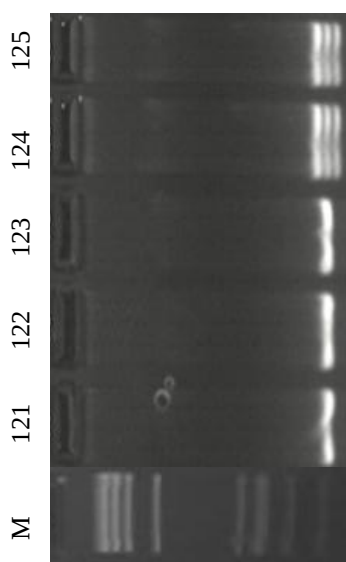


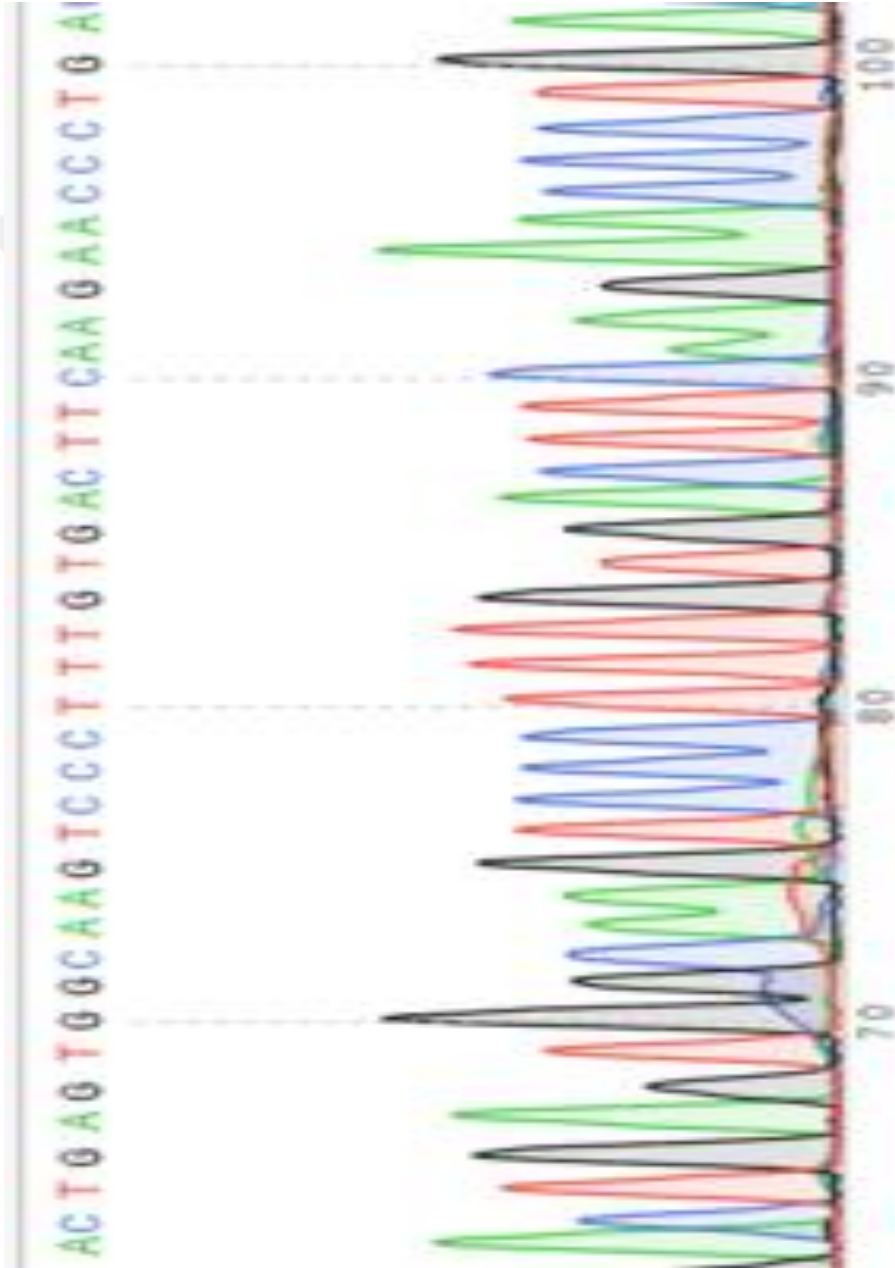
M 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100



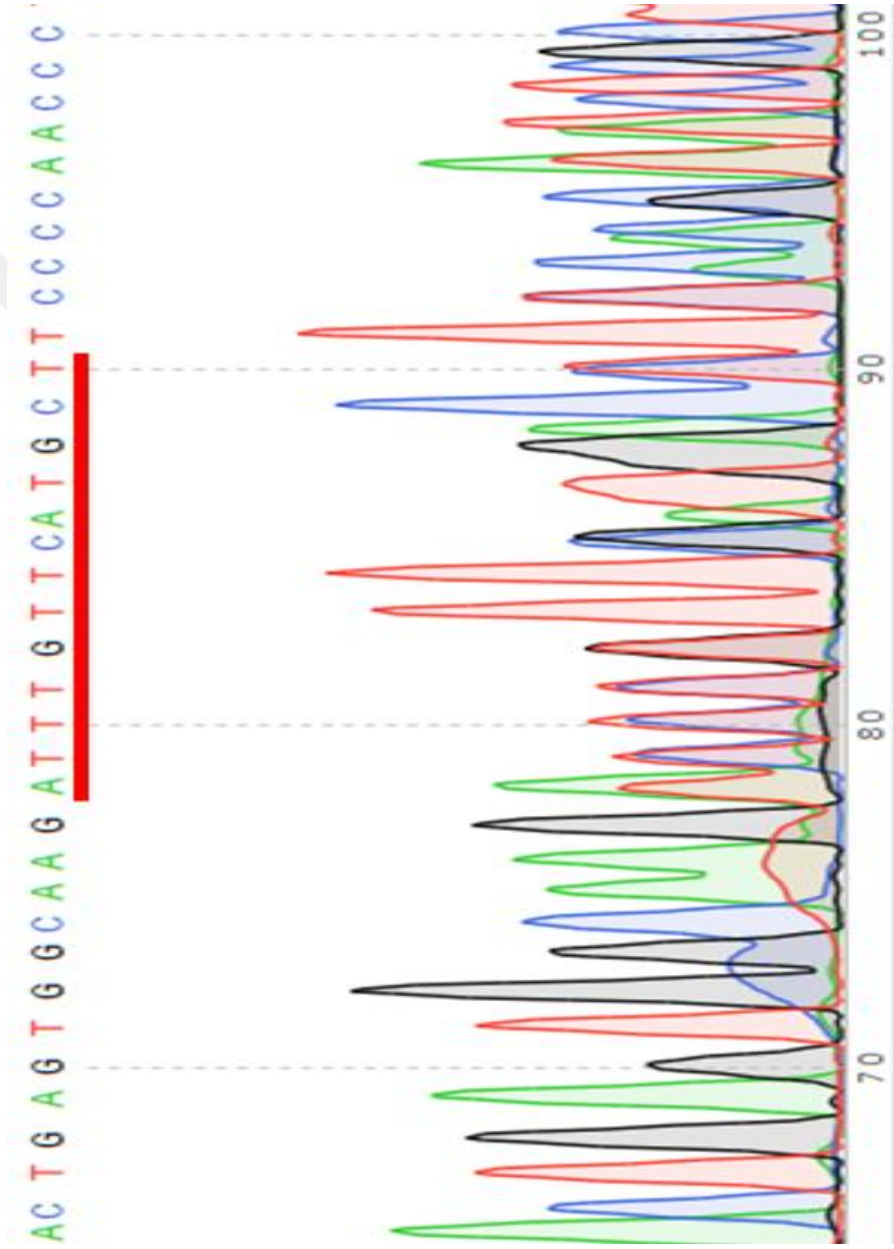
M 101 102 103 104 105 106 107 108 109 110 111 112 113 114 115 116 117 118 119 120





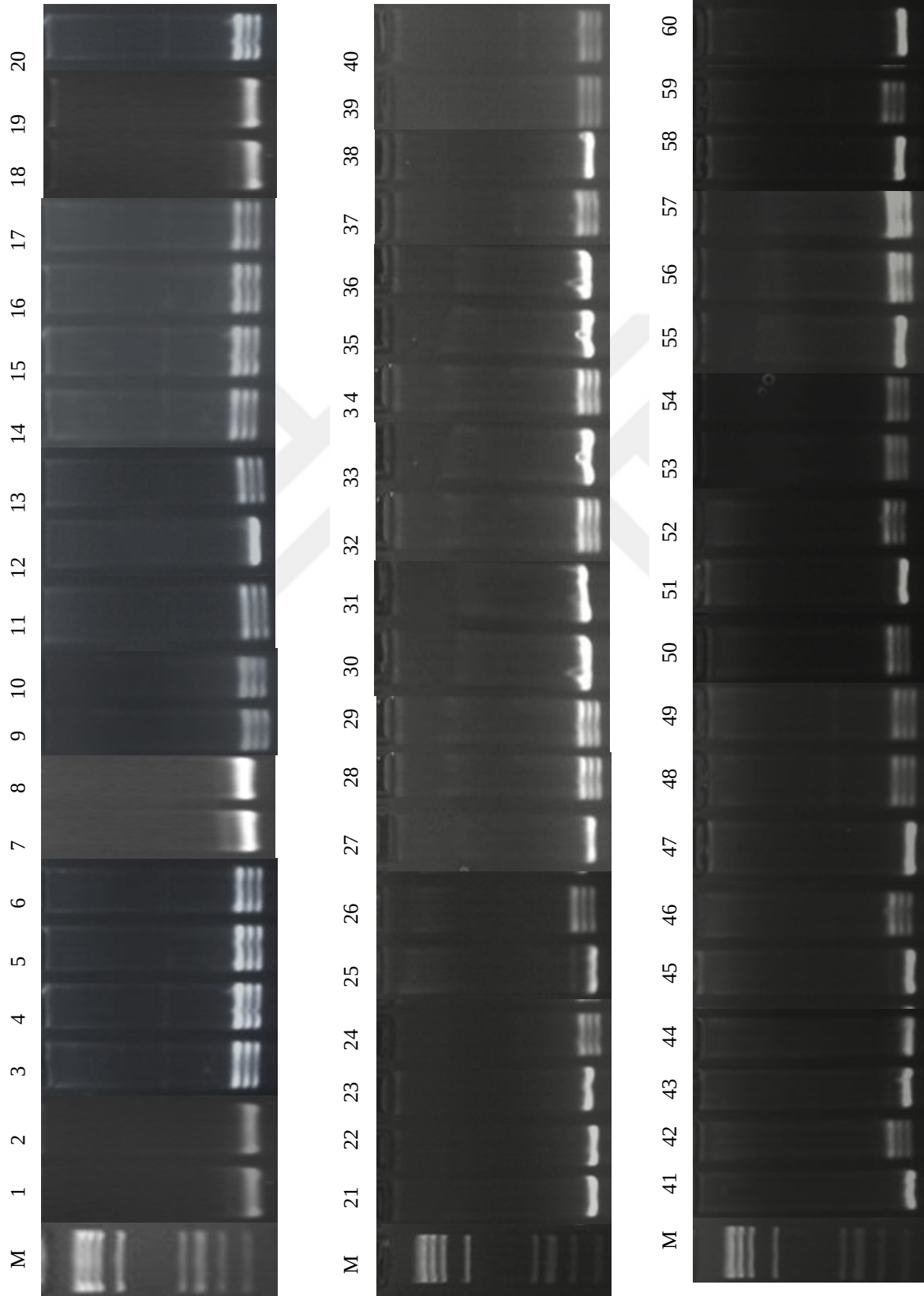


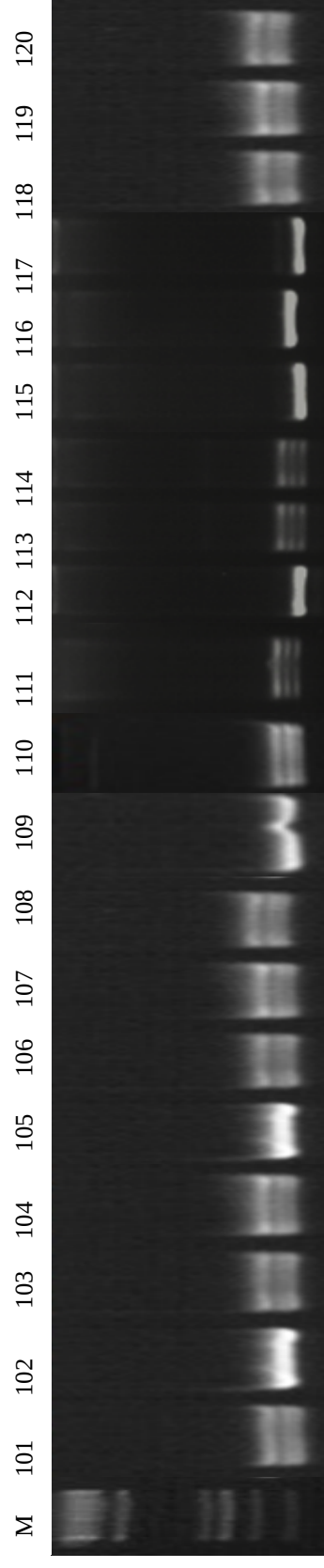
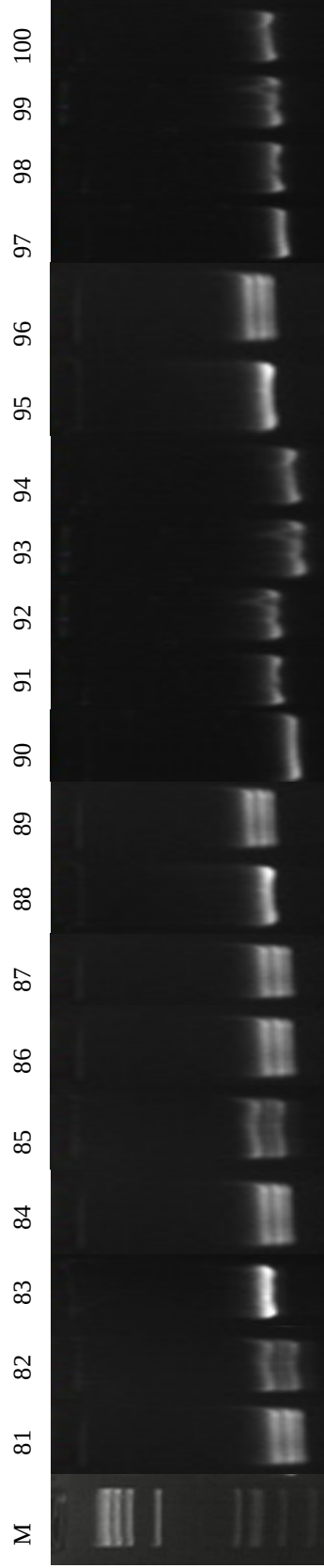
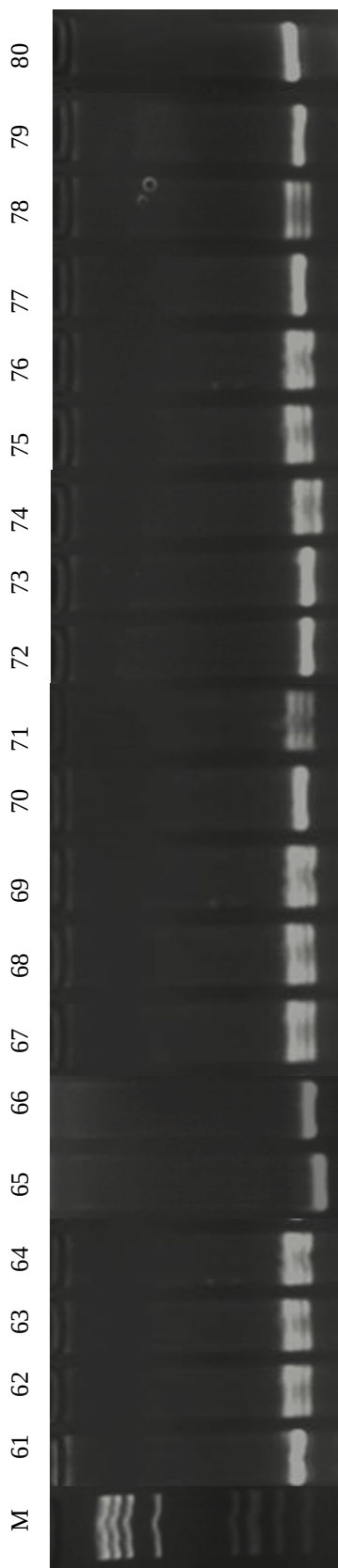
Homozigot Delesyon

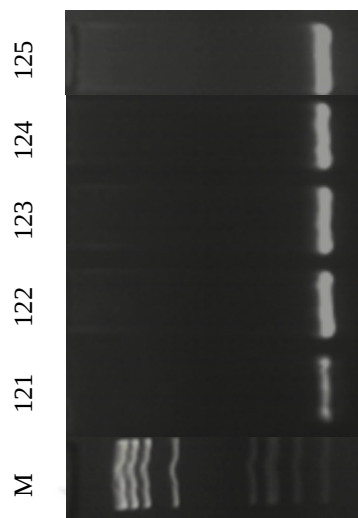


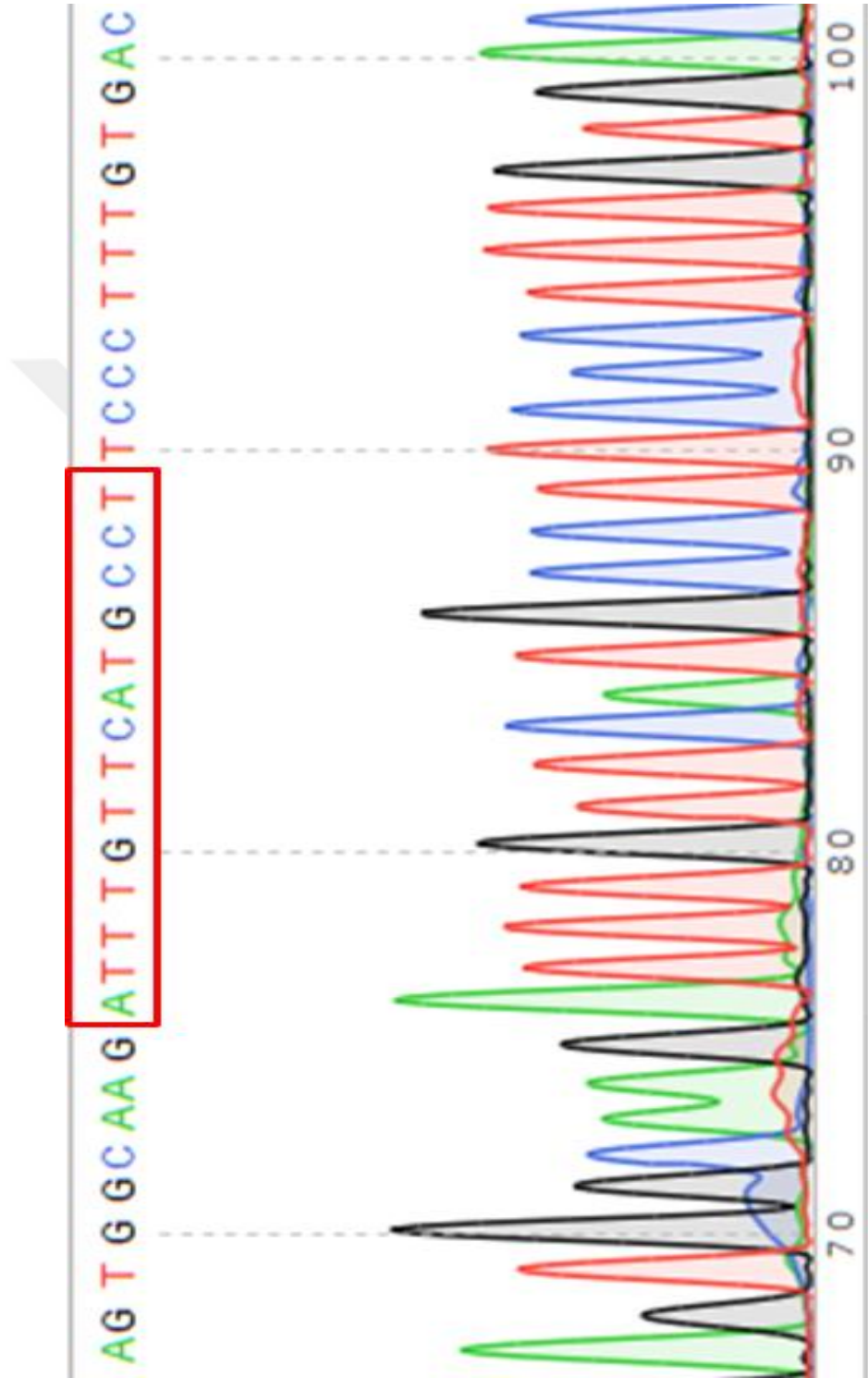
Heterozigot İnsersiyon

Akut ve kronik rejeksiyon alıcılarının verici HLA-G polimorfizm agaroz jel ve DNA dizi analiz görüntüleri aşağıdaki gibidir.

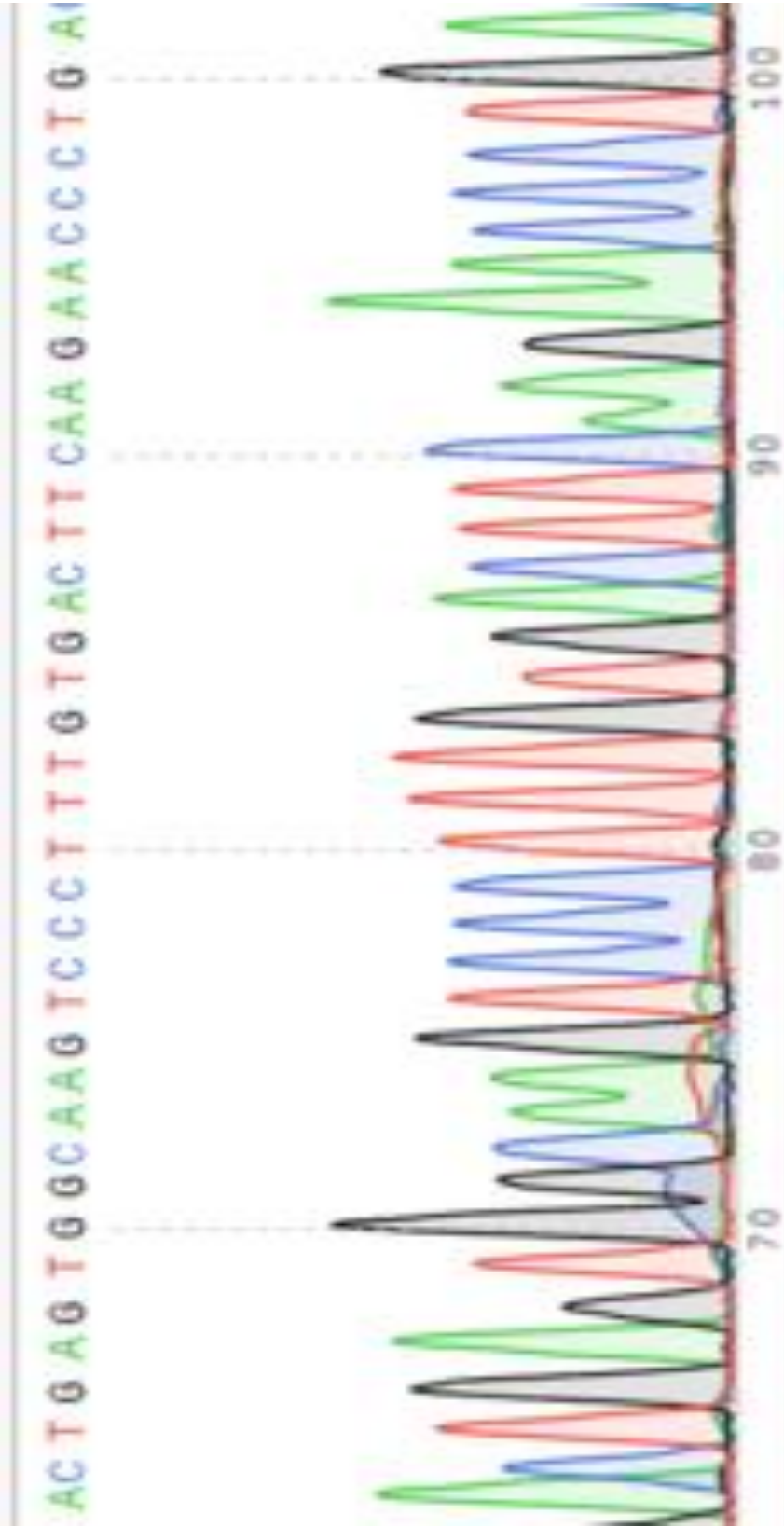




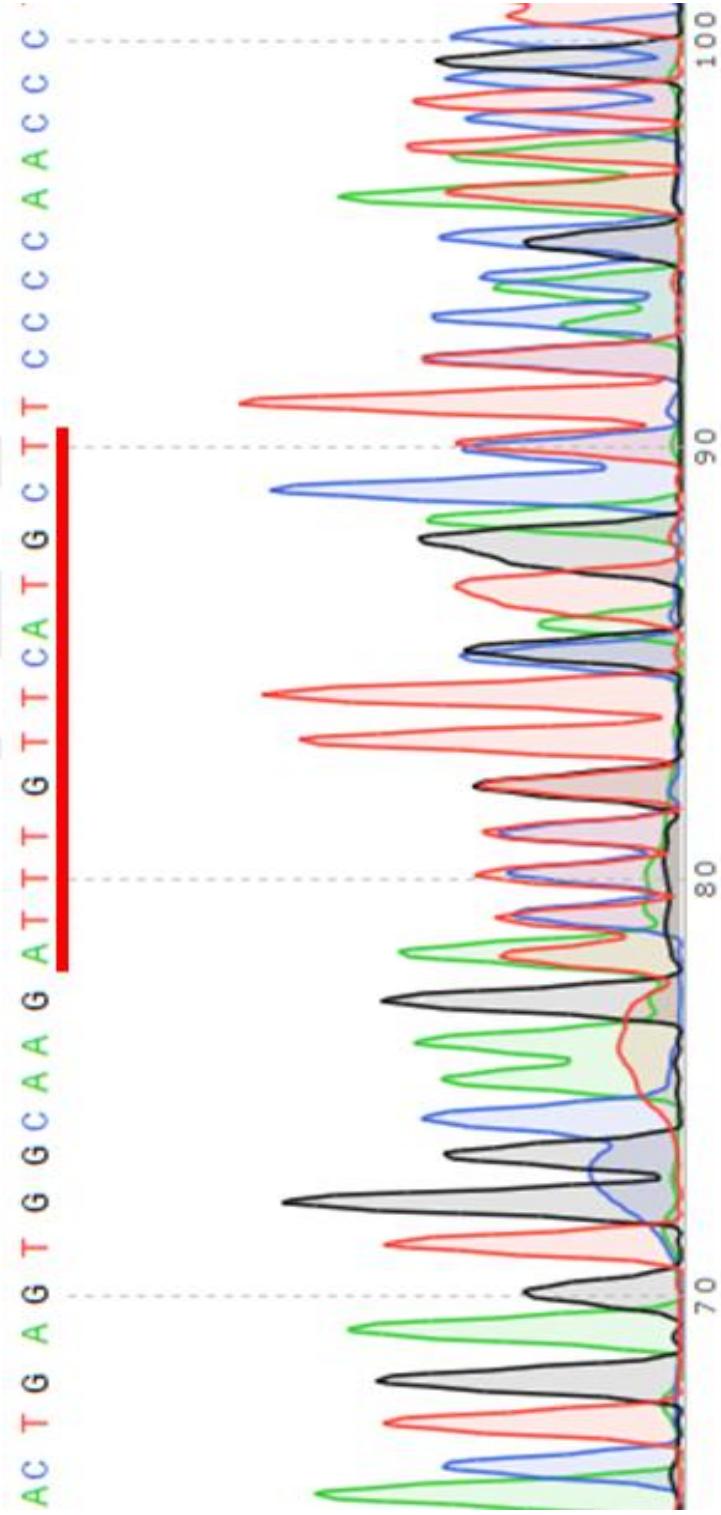




Homozygot Insertion

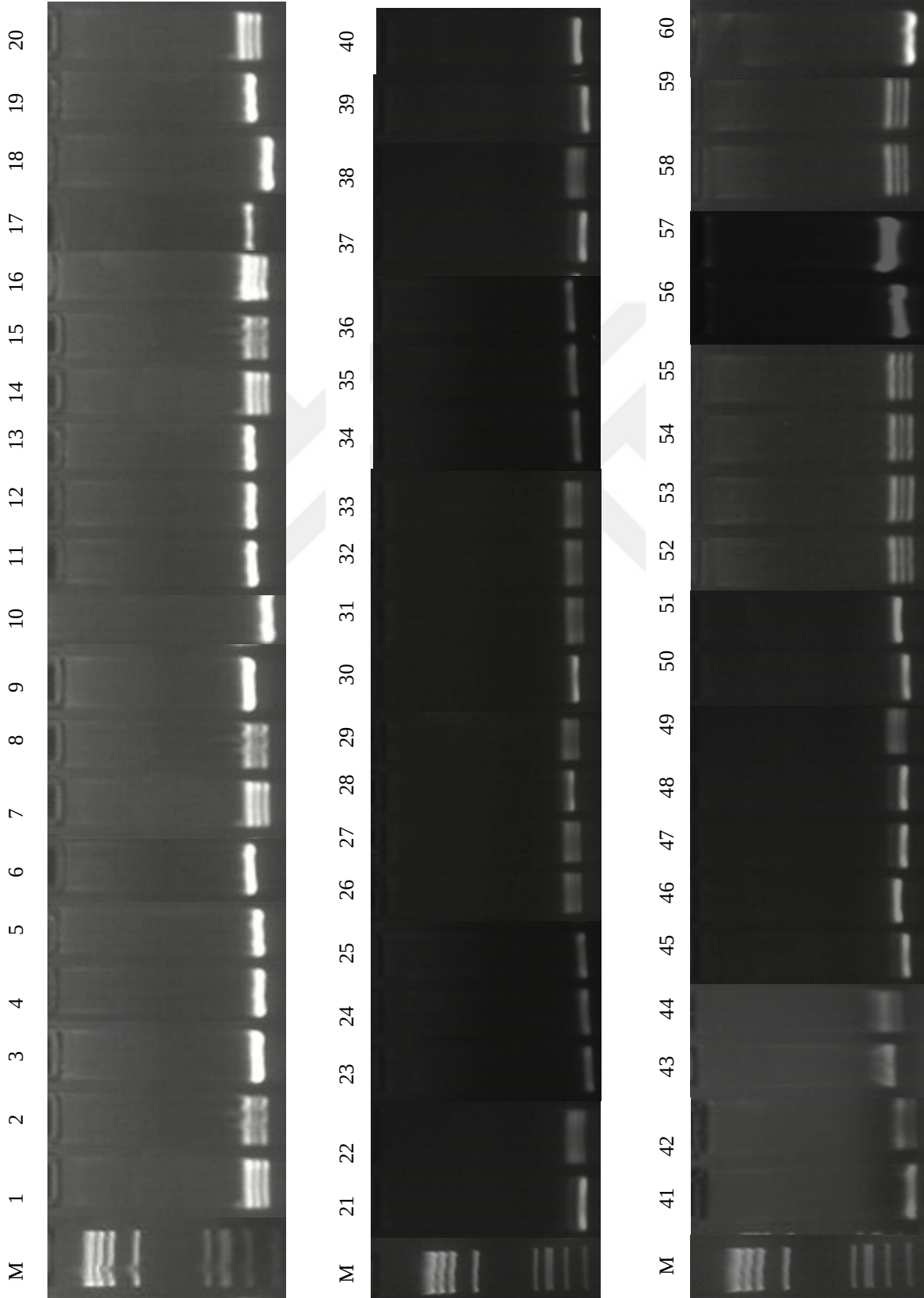


Homozigot Delesyon

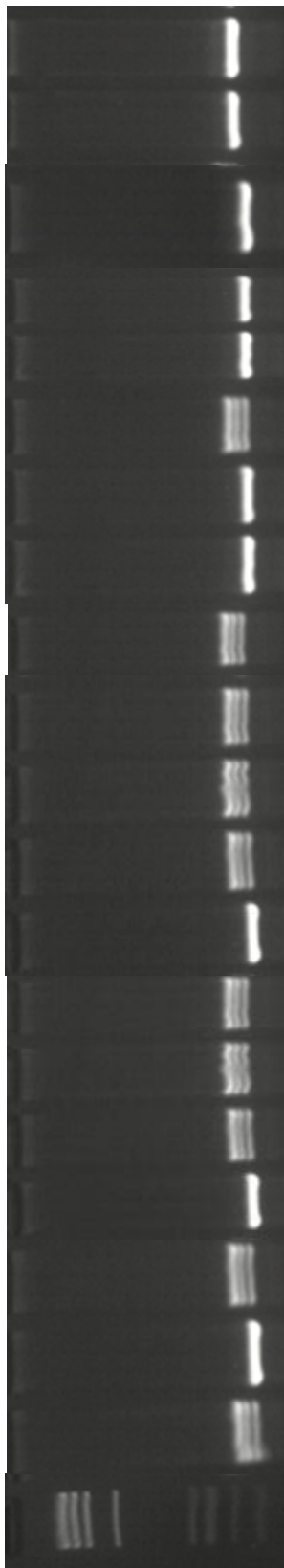


Heterozigot insersiyon

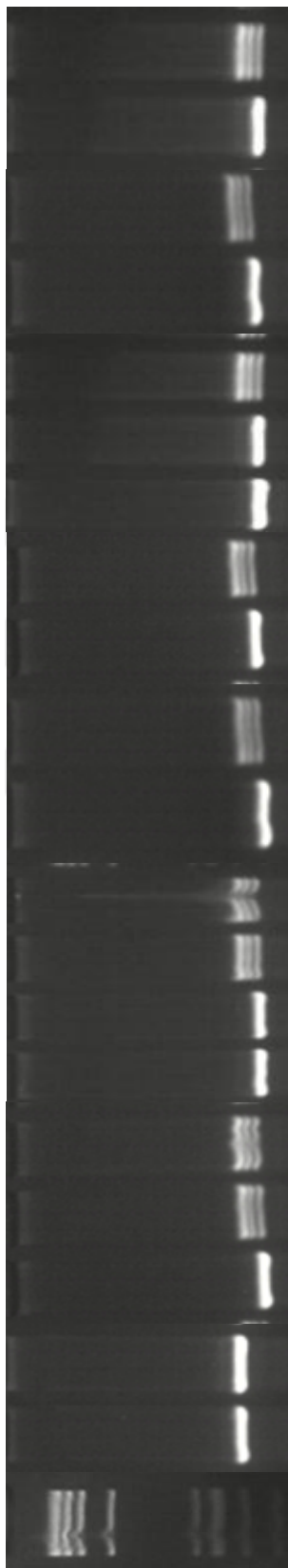
Kontrol grubu alıcılarının verici HLA-G polimorfizm agaroz jel ve DNA dizi analiz görüntüleri aşağıdaki gibidir.



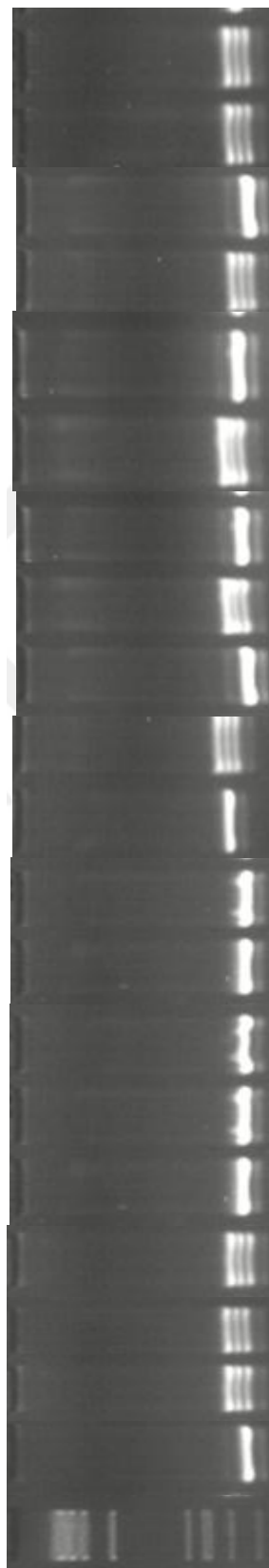
M 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80

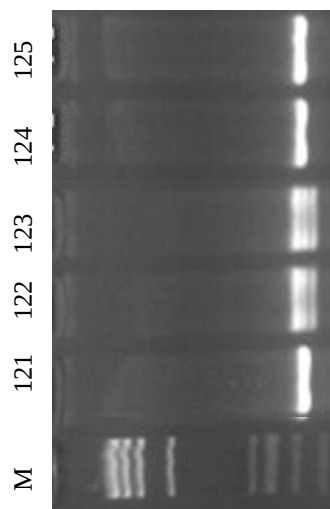


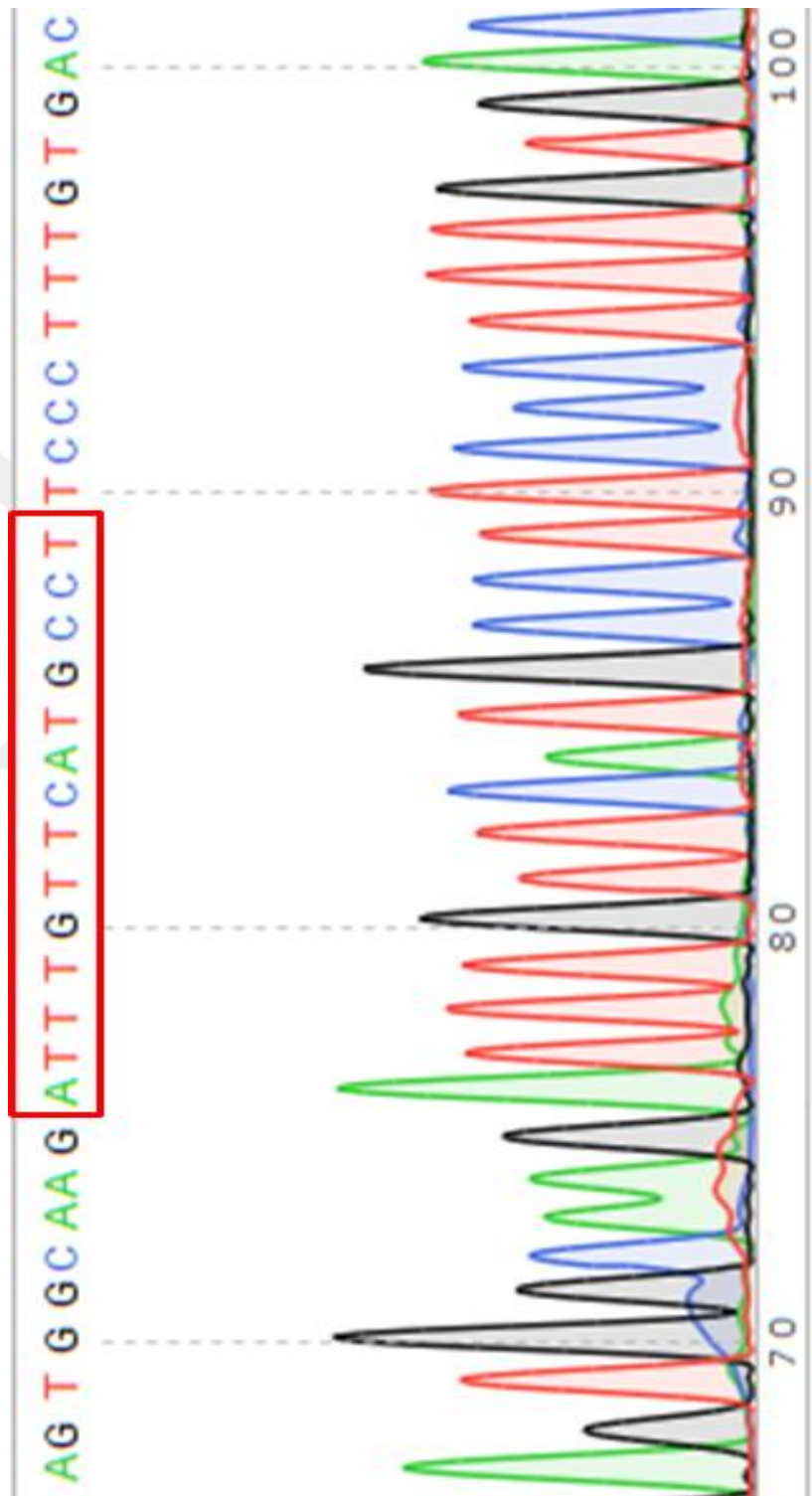
M 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100



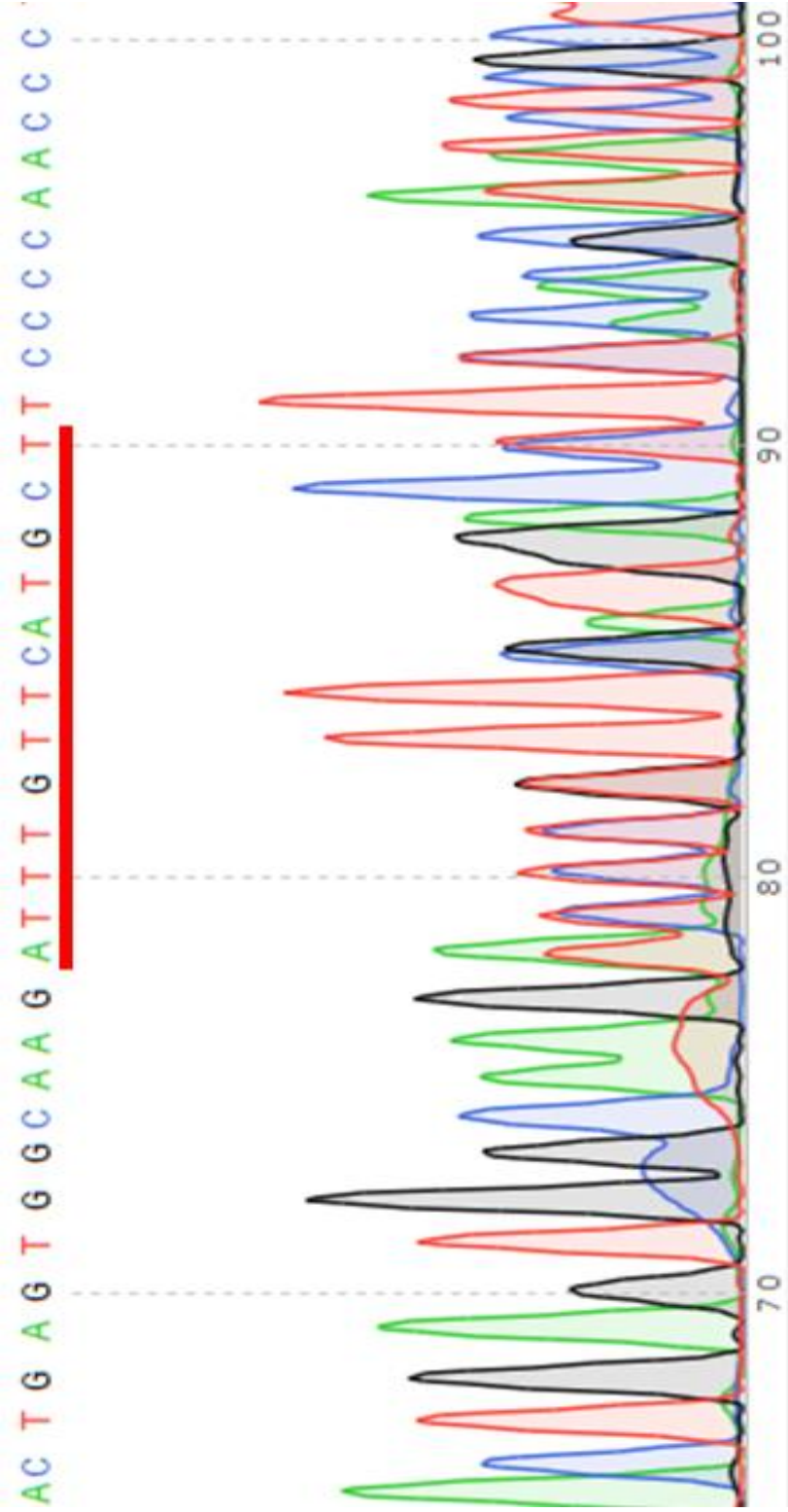
M 101 102 103 104 105 106 107 108 109 110 111 112 113 114 115 116 117 118 119 120







Homozigot İnsersiyon



Heterozigot İnsersiyon

5. TARTIŞMA

Böbrek nakli, SDBY hastalarının üremiden kaçınmak, yaşam kalitesini ve süresini arttırmak için başlıca tedavi seçeneğidir. Ancak nakil sonrası rejeksiyon organ naklinin en büyük sorunu olarak görülmektedir (Meier-Kriesche HU ve Kaplan B. 2002). Rejeksiyonlar farklı şekillerde sınıflandırılabilir. Kreatinin yüksekliği ile birlikte olan klinik rejeksiyonlar olduğu gibi, normal kreatinin düzeyi ile karakterize protokol biyopsilerde saptanan subklinik rejeksiyonlar da olabilir. Zamanlama olarak ise hiperakut (dakikalar), akut (günler haftalar), geç akut (3-6 aydan sonra) ve kronik (aylar, yıllar sonra) olarak ayrabiliriz. Patofizyolojik mekanizmaya göre rejeksiyonlar, T hücre aracılı (hücresel, intertisyel) ve B hücre aracılı (antikor aracılı, humoral) olabilir. Etiyoloji, klinik tablo ve histolojik değerlendirmeler sonucunda rejeksiyon tipleri; hiperakut, akut ve kronik olarak sınıflandırılabilir (Nankivell B J ve Alexander S I. 2010). Çalışmamıza dahil edilen rejeksiyon hastaları patofizyolojik mekanizmaya ve zamanlamaya göre sınıflandırılmıştır. Çalışma grubumuzu oluşturan AÜHONM'ne başvuran 18 yaş üstü 250 böbrek nakli hastasından 125 hasta, akut veya kronik rejeksiyon tanısı alan (hayatta olan veya olmayan) olgu grubunu oluşturmaktadır. Olgu grubunun 69'u erkek iken, 56'sı kadındır. Kontrol grubu olarak ise; olgu grubu ile aynı sayıda, aynı cinsiyette ve aynı yaşta iken böbrek nakli olup akut veya kronik rejeksiyon olmayan böbrek nakli hastaları alınmıştır. Çalışmaya alınan olgu grubunda akut rejeksiyon tanısı alanlar %41,6 iken, kronik rejeksiyon tanısı alanlar %58,4'dür. Akut rejeksiyon tanısı alanların %76,9'u (40 olgu) akut antikor aracılı rejeksiyon, %23,1'i (12 olgu) T hücre aracılı rejeksiyondur. Kronik rejeksiyon tanısı alanların %94,5'i (69 olgu) kronik aktif humoral rejeksiyon, %5,5'i (4 olgu) kronik T hücre aracılı rejeksiyondur. Bu değerler literatürle uyumlu bulunmuştur.

KBY ile TND tarafından yapılan araştırmada hastalığın en önemli sebebinin hipertansiyon ve diyabet olduğu belirtilmiştir (Suleymanlar G ve ark., 2011). Çalışma grubuna dahil edilen olgu ve kontrol grubuna göre hastalarda nakil öncesi hipertansiyon hastası olanların oranı %53,5 iken, kontrol grubunda %51,8'dir. Tip 1 DM hastası olanların oranı, olgu grubunda %11,2 iken, kontrol grubunda %13,6'dır. Tip 2 DM hastası olanların oranı, olgu grubunda %10,4 iken, kontrol grubunda %11,2'dir.

Son dönem böbrek yetmezliği olan hastaların hastanın ömrünü uzatıp, yaşam kalitesini arttırmak ve tedavi maliyetlerini azaltmak için diyaliz tedavisi başlamadan ilk renal replasman tedavisi olarak böbrek nakli seçilmelidir. Diyalizin rejeksiyonla direk ilişkisini gösteren net bir çalışma olmamakla birlikte bu çalışmada nakil öncesi diyaliz alanlarda, diyaliz almayanlara göre kronik rejeksiyon olma olasılığının arttığı saptanmıştır(Shrestha A ve ark., 2010). Bu veri rejeksiyonla diyaliz arasındaki ilişkinin değerlendirilmesinde hasta sayısının artırılıp, daha geniş bir popülasyonda çalışılarak literatüre katkı sağlaması açısından önemlidir.

Böbrek nakli sonrası akut ve kronik rejeksiyon risk faktörleri arasında hasta ile verici arasında akrabalık durumu vardır. Alıcı ile verici arasında akrabalık olması rejeksiyon için düşük risk grubundayken, akraba olmayan birisinden nakil ise rejeksiyon için yüksek risk grubuna girmektedir (Tait BD ve ark., 2013, Pratschke, J ve ark., 2016). Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak hasta ile verici arasında akrabalık olmayanların oranı, akut rejeksiyon grubunda %63,5 iken, kronik rejeksiyon grubunda %32,9'dur ($p<0,05$). Hasta ile verici arasında akrabalık olmayanlarda, akraba olanlara göre akut rejeksiyon olma olasılığı 4,28 kat, kronik rejeksiyon grubunda 2,09 kat arttığı saptanmıştır. Çalışmamızın lojistik regresyon analizine göre de böbrek nakli hastalarında akut rejeksiyon olma olasılığının, hasta ile verici arasında akrabalık olmaması durumunda 5,44 kat arttığı saptanırken, kronik rejeksiyon olma olasılığının 2,09 kat arttığı saptanmıştır. Bu verilerin literatürle uyumlu olması böbrek naklinde alıcı ve verici arasında akrabalık durumunun önemini vurgulamıştır.

Böbrek nakli öncesi alıcı ve verici arasındaki kan grubu uyumu rejeksiyon için yüksek risk grubuna girmektedir (Nelson PW ve ark., 1992; Morath C ve ark., 2012). Literatürde nakil öncesi alıcıda vericinin anti-ABO kan grubu antikorlarının bulunması çoğunlukla hiperakut rejeksiyona neden olduğu belirtilmiş olup, bizim çalışmamıza alınan hasta grubunda kan grubu uyumu olmayanlarda, kan grubu uyumu olanlara göre kronik rejeksiyon olma olasılığı artmıştır. Bu bulgu alıcı verici arasında ABO kan grubu uyumunun böbrek nakil öncesi bakılması gereken bir parametre olduğunu desteklemektedir.

HLA doku tiplemesi bazı hastalıkların tanısında, babalık tayininde, antropolojik çalışmalarda kullanılmasının yanısıra, kan grubu antijenleri ile birlikte doku ve organ transplantasyonlarında, özellikle HLA-A, B, DRB1 antijenleri tiplendirilmesi yapılarak haploid uyumun belirlenmesinde başvurulmaktadır. Hücreler yüzeylerindeki HLA molekülleri ile kendinden olanı olmayandan ayırt ederek, organ naklinde organ reddini veya kabulünü belirleyen immün yanıtın oluşmasında temel rol oynamaktadır (Browning, M. ve McMichael, A. 1996; Bodmer, JG ve ark., 1999). Doku uyumu, böbrek naklinde organın kabulünde veya reddedilmesinde etki eden en önemli faktörlerden birisidir. Ancak HLA antijenlerinin polimorfik özellik göstermesi hasta ve greftin sağkalımında engel oluşturmaktadır. Bu nedenle ilk olarak nakil öncesi alıcı ve verici arasında HLA antijenlerinin uyumuna bakılmalıdır. Hastalar, belirli bir *HLA* lokusunda sadece belirli allellere antikor oluşturabileceğinden, alıcı ve vericinin kesin *HLA* allelinin tanımlanması gereklidir (Somasundaran M ve Quiroga I. 2011). Böbrek nakillerinde alıcı ve verici arasında HLA antijenlerinde tam uyum olduğunda en iyi sonuç alınmaktadır. Uyumsuzluk oranı arttıkça rejeksiyon gelişme olasılığı artmaktadır. (Pratschke, J ve ark., 2016; Valenzuela, N.M ve Reed, E.F. 2017). Greftin yaşam süresi, hastaya uygulanan immünsüpresif tedavi dozu ve diğer oluşabilecek komplikasyonlar alıcı ve verici arasında uyumsuz antijen sayısına bağlıdır. Bu nedenle nakil öncesi hasta ve vericinin HLA antijenlerinin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır (Browning, M. McMichael, A. 1996, Bodmer, JG ve ark.1999).

Yapılan çalışmalarda böbrek ve pankreas naklinde *HLA-A**, *B**, *C** uyumundan daha önemli olanın *HLA-DRB1** uyumu olduğu gösterilmiştir. Kornea naklinde ise *HLA-A**, *B** uyumunun önemli olduğu gösterilmiştir. Kalp naklinde *HLA-DRB1** uyumunun önemli olduğu gösterilmiştir Karaciğer naklinde ise *HLA* uyumunun önemini tartışmalı olduğu belirtilmektedir (Hamosh A ve ark., 2000; Shiina T ve ark., 2004; Choo, S. Y. 2007). Başarılı bir nakil için nakil öncesi alıcı-vericiler için *HLA-A**, *B** ve *DRB1** lokus allellerinin tiplendirilmesi yapılır. Çalışmamızda hasta ile verici arasında *HLA-B** aleli uyumu olmayanlarda, en az bir *HLA-B** aleli uyumu olanlara göre akut rejeksiyon ve kronik rejeksiyon riski artmaktadır. Ancak hasta ile verici arasında *HLA-A** ve *HLA-DRB1** alel uyumsuzluğuna göre, akut ve kronik rejeksiyon açısından olgu grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir. Bunun nedeni

ise, bu araştırmanın olgu-kontrol tipi bir çalışma olarak planlanması ve olgu grubuyla kontrol grubunun aynı sayıda, aynı cinsiyette ve aynı yaşta iken böbrek nakli olması nedeniyle daha az sayıda ve daha seçici hasta grubunda çalışılmış olmasıdır. Bu nedenle bizim çalışmamızda hasta ile verici arasında HLA uyumu açısından literatürle farklılık görülmüştür.

Nakil sonrası organ rejeksiyonu oranını azaltmak ve sağ kalımı artırmak için HLA antijenlerine karşı oluşan anti-HLA antikorlarının saptanması gerekir (Halloran PF. 2003). Nakilden önce ve sonra anti-HLA antikorlarının varlığı akut ve kronik rejeksiyon riskini artırır (Lee P-C ve ark., 2002; Woodle E S ve ark., 2005). Nakil öncesinde vericiye karşı olan antikorlar cross-match testleriyle belirlenirken, nakil öncesinde ve sonrasında hastada potansiyel antikorlar PRA ve SA testleriyle belirlenir (Cinti P ve ark., 2009; Susal C ve ark., 2009). Nakil öncesi, nakil sonrası veya nakil sonrası de-novo gelişen antikorları tespit etmek için çok hassas ve spesifik bir yöntem olan PRA, yüksek pozitifliği durumunda rejeksiyon için risk faktörü olarak bilinmektedir (Sheldon, S. ve Poulton, K. 2006; Tinckam K. 2009). SA testi ise, PRA testine göre anti-HLA antikor spesifikliklerinin doğru tanımlanmasını sağlayan daha ileri bir test tekniğidir. SA analizi, sınıf I ve II anti-HLA antikorları arasında kesin bir ayırım sağlamanın yanısıra spesifik HLA antijenlerine karşı antikorları tespit edebilmesiyle uygun bir vericinin bulunmasında büyük avantaj sağlamaktadır (Dunn T. B ve ark., 2011). FCXM kullanılarak yapılan çapraz karşılaştırma testi dolaşımdaki çok düşük miktarlardaki antikorları bile tespit edebilmesiyle CDCXM testinden daha duyarlıdır. Ayrıca CDCXM çaprazlama testine göre özgüllüğü yüksek ve objektif olan bu test ile tüm IgG alt grupları belirlenebilir. FCXM sonucu pozitif olan böbrek nakillerinde erken akut rejeksiyon gelişme riski daha yüksektir. Bu hastalarda 1 yıllık rejeksiyon olmadan sağ kalım daha düşüktür (Azar H ve ark., 2015; Lee PC ve ark., 2009). Alıcıda bulunan mevcut antikorların donör spesifik olup olmadığını gösteren CDCXM testi altın standart çaprazlama testi olarak kabul edilmekle birlikte FCXM testi daha duyarlı ve solid faz testidir. Lumineks çaprazlama testi ise sınıf I ve sınıf II antijenlerine karşı donör spesifik HLA IgG antikorlarını tespit edebilen ve bu yönüyle daha spesifik bir testtir. FCXM ile kıyaslanabilir duyarlılıkta ve özgüllükte olan bu testte antikor özgüllüğü daha basit bir yolla saptanır. Ayrıca CDCXM ve FCXM yöntemlerine göre bu yöntem nakil sonrası

greft sağkalımının takibinde kullanılabilir. Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Doku Tipleme laboratuvarımızda nakil öncesinde potansiyel antikorlar PRA ve SA testleri ile çalışmakta ve alıcı verici arasında CDCXM, FCXM ve Lumineks çaprazlama testleri çalışmaktadır. Nakilden hemen önce yapılan bu çaprazlama testlerin sonucunun negatif olması hiperakut rejeksiyonun gerçekleşmesini önemli ölçüde engeller (Shrestha B M. 2014). Bizim çalışma grubumuza dahil ettiğimiz hastaların nakil öncesi ve nakil sonrası anti-HLA antikor ve çaprazlama testleri negatiftir. Bu da böbrek naklinde merkezimizin başarısını göstermektedir.

Böbrek nakli sonrası rejeksiyon görülme riskini azaltmak için immün sistemi baskılayıcı ajanlar kullanılmaktadır (Aw. M M. 2003, Hardinger K L. 2006). Nakilden hemen sonra kullanılan indüksiyon tedavileri kortikosteroidler, poliklonal ve monoklonal antikorlardır. Monoklonal antikorlardan çalışmamızda kullanılan basiliksimab T lenfositlerin yüzeyinde antijen sunumuna cevap olarak oluşan IL-2 reseptörlerinin α zincirine karşı geliştirilmiş bir antikordur. Bu sayede T lenfositlerinin proliferasyonu için sinyal görevi gören IL-2 aracılı yanıtlar engellenir. Basiliksimab temelde akut rejeksiyonu engellemek için tasarlanmış bir antikordur. Literatürde akut rejeksiyonun önlenmesinde basiliksimab kullanımının etkili olduğu vurgulanmıştır (Kapic E ve ar., 2004, Becker, L. E ve ark., 2013). Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak hastalarda nakil sonrası basiliksimab kullanmayanlarda, nakil sonrası basiliksimab kullananlara göre akut rejeksiyon gelişme riski daha yüksektir. Böbrek nakli sonrası kullanılan diğer tedavi protokolü idame tedavidir. Bu tedavi şeklinde kullanılan ilaçlardan anti-proliferatif ilaç grubundan MMF/MFA'nın etki mekanizması, T ve B lenfositlerinin proliferasyonunu, antikor oluşumunu ve CD8⁺ Tc hüce aktivasyon oluşumunu inhibe etmektir. MMF kullanan hastalarda nakil sonrası hem erken dönemde hem de geç dönemde akut rejeksiyon daha az görülmektedir (Land W, Vincenti F. 2005; Srinivas TR ve ark., 2003; Morales J M. 2005). Bu gözlemle uyumlu olarak da hastalarımızda nakil sonrası MMF kullanmayanlarda, kullananlara göre akut rejeksiyon olasılığının arttığı görülmüştür. Bu veriler nakil sonrası immünosüpresif ilaç kullanımının rejeksiyon açısından önemini vurgulamıştır.

Böbrek nakli hastalarında vericisi canlı olanların akut rejeksiyon riski daha düşükken, vericisinin kadavra olması kronik rejeksiyon için risk faktörüdür. Kadavradan nakil olan böbrek nakli hastalarının canlı vericiye göre akut rejeksiyondan kronik rejeksiyona ilerleme hızı daha fazladır (Knight RJ ve ark., 2001). Bizim hasta grubumuzda da literatürle uyumlu olarak vericisi kadavra olanlarda vericisi canlı olanlara göre akut rejeksiyon ve kronik rejeksiyon olma olasılığı artmıştır.

Moleküler tekniklerin gelişmesiyle genomumuzdaki en polimorfik gen bölgesi olan *HLA* ile KBH arasındaki ilişkiyi araştıran çeşitli yayınlar literatürde mevcuttur (Ucar ve ark., 2011). Ülkemizde rejeksiyon ile *HLA* arasındaki ilişkiyi araştıran çeşitli yayınlar literatürde mevcut olsa da sHLA-G ve *HLA-G* geninin 3' UTR 14 bç polimorfizmi ile böbrek rejeksiyonu arasındaki ilişkiyi araştıran çalışma bulunmamaktadır. Ülkemizin her bölgesinden Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Organ Nakli birimine böbrek nakli hastaları başvurmaktadır. Bu nedenle çalışmamıza dahil edilen böbrek nakli hastalarında akut veya kronik rejeksiyon ile *HLA-G* ilişkisinin belirlenmesi, ülke ortalamasını yansıtacağından nakil sonrası hastaların rejeksiyon riski açısından literatüre katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

Karaciğer, kalp ve akciğer transplantasyonunda *HLA-G*'nin koruyucu etkisinin olduğu bilinmektedir. (Lila N ve ark., 2002; Sheshgiri R ve ark., 2008; Rebmann V ve ark., 2009; Zarkhin V ve ark., 2010). Solid organ nakli sırasında, artmış *HLA-G* ekspresyonu, allogreft sağkalımının uzaması ve daha az akut rejeksiyon ile ilişkilendirilmiştir (Creput C ve ark., 2003; Creput C., Durrbach A ve ark., 2003; Crispim J.C ve ark., 2008). Başka bir çalışmada da kronik böbrek rejeksiyonu olan hastalara kıyasla rejeksiyona uğramayan hastalarda sHLA-G seviyeleri anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur (Qiu J ve ark., 2006).

İnsan allotransplantasyonunda, *HLA-G* böbrek, karaciğer ve kombine karaciğer-böbrek transplant hastalarında in vivo olarak plazma ve greftlerde tespit edilmiş olup, daha iyi greft kabulü ile ilişkilendirilmiştir. Artmış *HLA-G* plazma seviyelerinin, kalp, karaciğer ve kombine karaciğer böbrek nakli sonrası akut ve kronik rejeksiyon insidansının azalması ile korele olduğu görülmüştür (Qiu, J ve ark., 2006; Naji, A ve ark., 2007; Creput C., Durrbach A ve ark., 2003). Yapılan bu araştırmalar *HLA-G*

molekölünün dokunun kabulü ve immün toleransla ilişkili olabileceğini göstermiştir. Dahası, sHLA-G molekülünün allogreft kabulünde pozitif bir rol oynayabileceğini göstermiştir. Ancak sHLA-G ve böbrek allogreft kabulü arasındaki ilişki ile ilgili veriler sınırlıdır. 2009 yılında yapılan bir çalışmada böbrek ve pankreas/böbrek nakli sonrası hastalarda serum sHLA-G seviyesinin rejeksiyon olan hastalarda rejeksiyona uğramayan hastalara göre azaldığı gösterilmiştir (Rebmann ve ark. 2009). Bu çalışmanın sonuçları akut rejeksiyon hastalarında serum sHLA-G düzeylerinin normal böbrek fonksiyonu olan hastalardan daha düşük olduğu diğer çalışmalarla da doğrulanmıştır (Jin Z-K ve ark., 2012; Xiao L ve ark. 2013). Ancak bazı çalışmalarda ise pediatrik böbrek nakli hastalarında nakil sonrası greft kabulü ve akut rejeksiyon arasında serum sHLA-G düzeylerinde fark saptanmamıştır (Zarkhin V. ve ark., 2011). sHLA-G ekspresyonunun regülasyonu 14 bç ins/del polimorfizm ile ilişkilendirildiğinden (Rousseau P ve ark., 2003), 2014 yılında yapılan 5 çalışmada 14 bç ins/del polimorfizm ve greft kabulü arasındaki olası ilişki araştırılmış, ancak sonuçlar tartışmalı bulunmuştur (Crispim JC ve ark., 2008; Durmanova V ve ark., 2016; Hou W ve ark., 2014; Jin Z-K ve ark., 2012; Misra M.K ve ark., 2013). İki çalışmada *HLA-G* 14-bç ins/del polimorfizmi ve böbrek nakli reddi riski arasındaki ilişki tanımlanmıştır ve insersiyon genotipinin akut rejeksiyon duyarlılığı ile ilişkili bulunmuştur. Slovak Kafkas popülasyonunda *HLA-G* geninin 14 bç ins/del polimorfizmi ile sHLA-G düzeyi arasındaki ilişkinin değerlendirildiği çalışmada, sHLA-G seviyesi 14 bç ins/ins genotipi için akut rejeksiyona gitmeyen hastalarda akut rejeksiyon grubuna göre artmıştır (Misra M.K ve ark., 2013). Brezilya'da ve İtalya'da organ nakli merkezlerinde böbrek nakli hastalarında yapılan çalışmada nakil sırasında 14 bç ins/del genotiplerinin sıklığı, sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık göstermedi (Crispim JC ve ark., 2008; Piancatelli D ve ark., 2009). Ancak 14 bç insersiyon homozigot genotip sıklığının anlamlı olmamakla ($p>0.05$) birlikte akut rejeksiyon gösteren hastalarda arttığı gözlenilmiştir (Crispim JC ve ark., 2008). Buna karşılık, kalp nakli için, 14 bç delesyon homozigot genotip daha yüksek sHLA-G seviyeleri ve daha yüksek siklosporin biyoyararlanımı ile ilişkilendirilmiştir (Torres MI ve ark., 2009). 2016 yılında Durmonava ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 14bç del/del homozigot genotipine sahip akut rejeksiyona gitmeyen böbrek nakli hastaların nakil öncesi sHLA-G seviyesinin daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Benzer bulgular

2019 yılında yaptıkları çalışmada da görülmüş olup 14bç del/del homozigot genotipi taşıyan akut rejeksiyona gitmeyen hasta grubunda sHLA-G seviyesinin artmış olduğunu göstermişlerdir. Bu veriler *HLA-G* polimorfizmi ve buna bağlı sHLA-G seviyesinin izlenmesi böbrek nakli sonrası rejeksiyon riski yüksek hasta popülasyonunun belirlenmesine yardımcı olacağını göstermektedir (Durmanova V ve ark., 2019). Mevcut çalışmada da *HLA-G* 3'UT bölgesindeki polimorfizm ve buna bağlı sHLA-G seviyesindeki değişikliğin greft rejeksiyonundaki etkisine bakılmıştır. Hastalarımızın nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki düşme literatürle uyumlu olarak bulunmuştur. sHLA-G seviyesindeki düşme akut rejeksiyon grubunda ($54,50 \pm 38,77$ U/ml) kontrol grubuna ($9,71 \pm 15,72$ U/ml) göre daha fazla bulunmuştur. Benzer şekilde kronik rejeksiyon grubunda ($46,05 \pm 23,80$ U/ml) kontrol grubuna ($10,77 \pm 13,37$ U/ml) göre sHLA-G seviyesindeki düşme daha fazla bulunmuştur. Akut ve kronik rejeksiyon grubunda rejeksiyona gitmeyen hastalara göre nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki bu düşme oranlarının istatistiksel olarak da anlamlı derecede daha fazla olduğunun belirlenmesi bu çalışma verilerimizin literatüre katkı sağlayacağını göstermiştir. Ayrıca *HLA-G* 14bç homozigot delesyon polimorfizmi olan hastaların akut rejeksiyon olma sıklığı (%16,7), *HLA-G* 14bç heterozigot polimorfizmi olanlara ve *HLA-G* 14bç homozigot insersiyon polimorfizmi olanlara göre istatistiksel olarak daha düşüktür. *HLA-G* 14bç homozigot delesyon, heterozigot ve homozigot insersiyon polimorfizmi olan akut ve kronik rejeksiyon hastaların sHLA-G seviyesi ortalaması nakil sonrası azalmıştır. Nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki bu düşme homozigot delesyon genotiplerini taşıyan akut rejeksiyon ($13,55 \pm 19,67$ U/ml) ve kronik rejeksiyon ($25,24 \pm 25,29$) hastalarımızda, heterozigot ve homozigot insersiyon genotipini taşıyan hastalarımıza göre daha azdır. Bu veriler *HLA-G* polimorfizmi ve buna bağlı sHLA-G seviyesinin izlenmesi böbrek nakli hastalarında rejeksiyon riski daha yüksek hasta popülasyonunun belirlenmesine yardımcı olacağını göstermektedir. Bu da rejeksiyon riski olan hastalarda immünsüpresif ilaçların doğru kullanımını etkileyecektir.

Böbrek greft biyopsi örneklerindeki *HLA-G* transkriptlerinin ekspresyon seviyeleri ile serum sHLA-G protein seviyelerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada ise ilk kez akut rejeksiyon hastalarında transplantasyon sonrası çeşitli zaman aralıklarında serum sHLA-

G düzeyleri ile biyopsi HLA-G transkript değerleri arasında korelasyon olduğu ve ayrıca düşük serum sHLA-G seviyelerinin greft reddi ile ilişkili ($p = 0,0058$) olduğu görülmüştür. Bu sonuç, sHLA-G'nin seviyesinin artmasının allogreft kabulüne katkıda bulunabileceği varsayımını desteklemektedir (Poláková K ve ark., 2015). Greft böbrek tübüler epitel hücrelerinde *HLA-G*'nin eksprese edildiğinin (Creput C ve ark., 2003) gösterilmesiyle vericinin 14bç ins/del polimorfizminin rejeksiyonun oluşumu veya derecesi üzerinde bir etkisi olabileceği hipotezi ortaya atılmıştır (Crispim JC ve ark., 2008; Racca A ve ark., 2009; Misra M.K ve ark., 2014; Žilinská Z ark., 2015; Okushi Y ve ark., 2017). 2018 yılında yapılan çalışmada akut rejeksiyonda vericinin *HLA-G* 14 bç ins/ins ve + 3142GG genotiplerinin koruyucu oldukları belirtilmiştir (Janssens M. ve ark., 2018). Başka bir çalışmada da vericinin 14bç ins/ins genotipini taşıyan rejeksiyon hastalarında sHLA-G serum seviyelerinin daha yüksek olduğu görülmüştür (Cilião Alves DC ve ark., 2012). Bu çalışmalar diğer çalışmalarla çelişkili bulunmuş olup bunun nedeni olarak ise hastaların otoimmün hastalığa sahip olması veya immünosüpresif tedavinin sHLA-G seviyelerini etkileyebileceği yönünde olmuştur (Hviid T V F ve ark., 2004; Chen X.Y ve ark., 2008; Twito T ve ark., 2011; Gonzalez A ve ark., 2010; Rizzo R ve ark., 2012; Le Rond S ve ark., 2006; Piancatelli D ve ark., 2009; Hviid T V F ve ark., 2004; Martelli-Palomino G ve ark., 2013). Bizim çalışmamızda ise vericilerin *HLA-G* polimorfizmine göre akut ve kronik rejeksiyon grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

2014 yılında yapılan bir çalışmada sHLA-G seviyesinin, böbrek allotransplant hastalarında rejeksiyonu ve inflamatuvar durumu kontrol etmek için potansiyel bir belirteç olarak yararlı olabileceği bildirilmiştir (Ezeakile M ve ark., 2014). Bizim çalışmamızın lojistik regresyon analizine göre de böbrek nakli hastalarında akut rejeksiyon olma olasılığının, hastanın nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki bir U/ml'lik düşmede 1,06 kat arttırdığı, kronik rejeksiyon olma olasılığının 1,14 kat arttırdığı saptanmıştır. Bu durum böbrek nakli olan hastaların nakil öncesi *HLA-G* 3'UT bölgesindeki polimorfizminin ve sHLA-G seviyesinin belirlenmesinin rejeksiyon olasılığının öngörülmesi açısından önemli olduğunu göstermektedir.

Türkiye’de yapılan araştırmalarda böbrek nakli hastalarında akut veya kronik rejeksiyon ile *HLA-G* geninin 3' UTR 14 bç polimorfizminin ilişkisinin daha önce çalışılmaması ve böbrek nakli hastalarında akut veya kronik rejeksiyon ile HLA-G molekülü arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmaların daha küçük sayılarla yapılması nedeniyle, bu tez çalışmasının böbrek nakli hastalarının rejeksiyon riski yüksek hasta popülasyonunun belirlenmesi açısından literatüre katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

- Çalışmaya alınan olgu grubunda akut rejeksiyon tanısı alanlar %41,6 iken, kronik rejeksiyon tanısı alanlar %58,4'dür. Akut rejeksiyon tanısı alanların %76,9'u (40 olgu) akut antikor aracılı rejeksiyon, %23,1'i (12 olgu) T hücre aracılı rejeksiyondur. Kronik rejeksiyon tanısı alanların %94,5'i (69 olgu) kronik aktif humoral rejeksiyon, %5,5'i (4 olgu) kronik T hücre aracılı rejeksiyondur.
- Hasta ile verici arasında akrabalık olmayanlarda, akraba olanlara göre akut ve kronik rejeksiyon olma olasılığının istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı saptanmıştır.
- Vericisi kadavra olanlarda, vericisi canlı olanlara göre akut ve kronik rejeksiyon olma olasılığının istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı saptanmıştır.
- Nakil sonrası Basiliximab kullanmayan hastalarda, nakil sonrası Basiliximab kullananlara göre akut rejeksiyon olma olasılığının istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı saptanmıştır.
- Nakil sonrası Mikofenolat Mofetil kullanmayan hastalarda, nakil sonrası Mikofenolat Mofetil kullananlara göre akut rejeksiyon olma olasılığının istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı saptanmıştır.
- Hasta ile verici arasında kan grubu uyumu olmayanların oranı, kronik rejeksiyon grubunda %20,5 iken, kontrol grubunda %5,5'dir ($p<0,05$). Hasta ile verici arasında kan grubu uyumu olmayanlarda, kan grubu uyumu olanlara göre kronik rejeksiyon olma olasılığının 4,46 kat (%95 GA 0,21-0,86) arttığı saptanmıştır.
- Hasta ile verici arasında *HLA-B** aleli uyumu olmayanlarda, en az bir *HLA-B** aleli uyumu olanlara göre akut ve kronik rejeksiyon olma olasılığının istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı saptanmıştır.
- Hastaların nakil sonrası sHLA-G seviyesi, akut ve kronik rejeksiyon grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur.
- *HLA-G* 14bç homozigot delesyon polimorfizmi olan hastaların akut rejeksiyon olma sıklığı (%16,7), *HLA-G* 14bç heterozigot polimorfizmi olanlara (%54,8) ve *HLA-G* 14bç homozigot insersiyon polimorfizmi olanlara (%88,5) göre daha

düşüktür. Hastalarda *HLA-G* polimorfizmine göre akut rejeksiyon olma sıklığı arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

- *HLA-G* 14bç homozigot delesyon polimorfizmi olan akut rejeksiyon hastalarının nakil sonrası sHLA-G seviyesi ($52,05 \pm 29,98$ U/ml), *HLA-G* 14bç heterozigot polimorfizmi olanlara ($34,82 \pm 29,78$ U/ml) ve *HLA-G* 14bç homozigot insersiyon polimorfizmi olanlara ($28,44 \pm 35,83$ U/ml) göre daha yüksektir. Akut rejeksiyon hastalarında *HLA-G* polimorfizmine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.
- Nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki düşme akut rejeksiyon grubunda ($54,50 \pm 38,77$ U/ml) kontrol grubuna ($9,71 \pm 15,72$ U/ml) göre daha fazladır. Akut rejeksiyon grubu ve kontrol grubuna göre nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki düşme miktarı arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Buna göre nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesi ortalaması akut rejeksiyon grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha çok düşmüştür.
- *HLA-G* polimorfizmine göre akut rejeksiyon hastalarının nakil öncesi ve nakil sonrası sHLA-G seviyesi farkı homozigot delesyon *HLA-G* polimorfizmi olan hastalarda ($13,55 \pm 19,67$ U/ml) heterozigot *HLA-G* polimorfizmi olan hastalara ($34,12 \pm 36,60$ U/ml) ve homozigot insersiyon *HLA-G* polimorfizmi olan hastalara ($54,54 \pm 43,51$ U/ml) göre daha düşüktür. Nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki bu düşme istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Buna göre nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesi ortalaması homozigot delesyon *HLA-G* polimorfizmi olan hastalarda diğerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha az düşmüştür.
- Nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki düşme kronik rejeksiyon grubunda ($46,05 \pm 23,80$ U/ml) kontrol grubuna ($10,77 \pm 13,37$ U/ml) göre daha fazladır. Kronik rejeksiyon grubu ve kontrol grubuna göre nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki düşme miktarı arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$) Buna göre nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesi ortalaması kronik rejeksiyon grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha çok düşmüştür.

- *HLA-G* polimorfizmine göre kronik rejeksiyon hastalarının nakil öncesi ve nakil sonrası sHLA-G seviyesi farkı homozigot delesyon *HLA-G* polimorfizmi olan hastalarda ($25,24 \pm 25,29$ U/ml) heterozigot *HLA-G* polimorfizmi olan hastalara ($30,72 \pm 25,57$ U/ml) ve homozigot insersiyon *HLA-G* polimorfizmi olan hastalara ($28,29 \pm 29,80$ U/ml) göre daha düşüktür. Nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki bu düşme istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Buna göre nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesi ortalaması homozigot delesyon *HLA-G* polimorfizmi olan hastalarda diğerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha az düşmüştür.
- Akut rejeksiyon olma durumunu etkileyebilecek faktörleri belirlemek amacıyla kullanılan lojistik regresyon analizine göre böbrek nakli hastalarında akut rejeksiyon olma olasılığının, hastanın nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki bir U/ml'lik düşmede 1,06 kat (%95 GA 1,04-1,09), hasta ile verici arasında akrabalık olmaması durumunda 5,44 kat (%95 GA 1,80-16,40) arttığı saptanmıştır.
- Kronik rejeksiyon olma durumunu etkileyebilecek faktörleri belirlemek amacıyla kullanılan lojistik regresyon analizine göre, böbrek nakli hastalarında rejeksiyon olma olasılığının, hastanın nakil öncesine göre nakil sonrası sHLA-G seviyesindeki bir U/ml'lik düşmede 1,14 kat (%95 GA 1,09-1,19) arttığı saptanmıştır.
- *HLA-G* geni 3' UTR 14 bç polimorfizminin belirlenmesi, *HLA-G* eksprese edebilen ya da eksprese edemeyen böbrek nakilli hastaların tanımlanması, *HLA-G* üretiminin arttırılması ve buna bağlı organ toleransını sağlanması tedavi stratejileri geliştirilmesinde yararlı olacaktır.
- Serum sHLA-G seviyesinin akut ve kronik rejeksiyon riskinin değerlendirilmesinde non-invaziv standart tanı kriteri olarak kullanılabilirliğinin saptanması, özellikle rejeksiyonda kullanılacak yeni bir biyomarker saptama adına, böyle bir araştırmaya gerek duyulmuştur. Özellikle, böbrek nakli başarısının uygun tedavi stratejileri ile arttırılması için klinisyenlere akut ve kronik rejeksiyon riski konusunda önerilerde bulunabilecektir.

KAYNAKLAR

Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. 2011. Cellular and molecular immunology. seventh edition Elsevier Health Sciences; 109-38.

Afzali B, Lombardi G, Lechler R I. 2008 Aug. Pathways of Major Histocompatibility Complex Allorecognition. *Curr Opin Organ Transplant*.13(4):438-44. doi: 10.1097/MOT.0b013e328309ee31.

Aghdaie M.H., Azarpira N., Kazemi K., Geramizadeh B., Darai M., Malekhoseini S.A., 2011. Frequency of HLA-G exon 8 polymorphisms and kidney allograft outcome in Iranian population, *Mol. Biol. Rep.* 38 3593–3597, <https://doi.org/10.1007/s11033-010-0470-y>.

Akoğlu E, Süleymanlar G. 1996. Kronik Böbrek Yetersizliği, Temel İç Hastalıkları, Ankara:Güneş Kitabevi pp.769-776.

Alelign T, Ahmed Momin M., Bobosha K, Tadesse Y, Howe R, and Petros B. 2018 Mar. Kidney Transplantation: The Challenge of Human Leukocyte Antigen and Its Therapeutic Strategies. *J Immunol Res.* 5986740. doi: 10.1155/2018/5986740

Almond P S, Matas A, Gillingham K, Dunn D L, Payne W D, Gores P, Gruessner R, Najarian J S. 1993 Apr. Risk Factors for Chronic Rejection in Renal Allograft Recipients. *Transplantation.* 55(4):752-6; discussion 756-7. doi: 10.1097/00007890-199304000-00013.

Altınanahtar, A. 2016. Dünya’da ve Türkiye’de Organ Tedariki ve Nakli: İktisadi Perspektifler, Sorunlar ve Çözüm Önerileri. *Sosyoekonomi*, 24(28), 11-30.

Altınören O, Aydın G, Güngör Ö. 2017. Böbrek anatomisi. In: Arınsoy T, Güngör Ö, Koçyiğit Ğ, editors. *Böbrek fizyopatolojisi*. p. 1-6.

Amico, P., Honger, G., Biemann, D., Lutz, D., Garzoni, D., Steiger, J., Mihatsch, M. J., Dragun, D., and Schaub, S. 2008 Jun. Incidence and prediction of early antibody-mediated rejection due to non-human leukocyte antigen-antibodies. *Transplantation*, 85(11), 1557-63.

Amodio G, Sales de Albuquerque R, Gregori S. 2014 Sep. New insights into HLA-G mediated tolerance. *Tissue Antigens.* 84(3):255-63. doi: 10.1111/tan.12427.

Anastasopoulos NA, Duni A, Peschos D, Agnantis N, Dounousi E. 2015. ‘‘The Spectrum of Infectious Diseases in Kidney Transplantation: A Review of the Classification, Pathogens and Clinical Manifestations.’’ *In Vivo*;29:415-22.

Anatomy and Physiology. 25.3 Gross Anatomy Of The Kidney. Chapter 25. The Urinary System

Anfossi N., Doisne J.M., Peyrat M.A., Bonnaud O., Bossy D., Pitard V., Merville P., Moreau J.-F., Delfraissy J.-F., Dechanet-Merville J., Bonneville M., Venet A., Vivier E., 2004 Dec. Coordinated expression of Ig-like inhibitory MHC class I receptors and acquisition of cytotoxic function in human CD8⁺ T cells, *J. Immunol.* 173 7223–7229, <https://doi.org/10.4049/jimmunol.173.12.7223>.

Arora P, Vasa P, Brenner D. 2013 Jun. Prevalence estimates of chronic kidney disease in canada: Results of a nationally representative survey. *CMAJ:Canadian Medical Association journal* 185: 417-23. doi: 10.1503/cmaj.120833

Aw. M M. 2003 Sep. Transplant Immunology. *J Pediatr Surg.* 38(9):1275-80. doi: 10.1016/s0022-3468(03)00381-6.

Azar H, Mourani C, Nehme Chelala D. 2015. Donor specific anti-hla antibodies detection and impact in kidney transplantation. *Le Journal medical libanais The Lebanese medical journal* 63: 154-8

Bainbridge DR, Ellis SA, Sargent IL. 2000. HLA-G suppresses proliferation of CD4(+) T-lymphocytes. *J Reprod Immunol*, 1:17-26.

Banasik, M., Koscielska-Kasprzak, K., Myszk, M., Bartoszek, D., Zabinska, M., Boratynska, M., Kaminska, D., Mazanowska, O., Zmonarski, S., Krajewska, M., Halon, A., Dawiskiba, T., Nowakowska, B., and Klinger, M. 2014 Oct. A significant role for anti- human leukocyte antigen antibodies and antibody-mediated rejection in the biopsy-for-cause population. *Transplantation Proceedings*, 46(8), 2613-7.

Baricordi R O, Stignani M, Melchiorri L, Rizzo R. 2008 Jun HLA-G and Inflammatory diseases. *Inflammation & Allergy - Drug Targets.* 7(2):67-74. doi: 10.2174/187152808785107615.

Basturk B, Kantaroglu B, Kavuzlu M. 2016. The most common hla alleles and anti-hla antibodies to know for virtual cross-match. *Experimental and clinical transplantation: official journal of the Middle East Society for Organ Transplantation* 14: 53-5.

Becker, L. E., Susal, C. and Morath, C. 2013 Aug. Kidney transplantation across HLA and ABO antibody barriers. *Current Opinion in Organ Transplantation*. 18(4):445-54. doi: 10.1097/MOT.0b013e3283636c20.

Benichou G, Valujskikh A and Heeger P S. 1999. Contributions of Direct and Indirect T Cell Alloreactivity During Allograft Rejection in Mice. *The Journal of Immunology*. 162:352-358.

Berger DS, Hogge WA, Barmada MM, Ferrell RE. 2010 ‘Comprehensive analysis of HLA-G: implications for recurrent spontaneous abortion.’ *Reprod Sci*;17:331–8.

Bertram JF, Douglas-Denton RN, Diouf B. 2011.Sep. Human nephron number: Implications for health and disease. *Pediatr Nephrol* 26: 1529-33. doi: 10.1007/s00467-011-1843-8

Bi L L, Gao Y, Sun Y J, Kong X R, He X Y, Ma X H, Zhang W H, Xiao L, Shi B Y. 2017 Jan. Research of mHLA-G and the Receptor Expression With Kidney Rejection and CMV Active Infection Following Kidney Transplantation. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 10;97(2):104-107. doi: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2017.02.005.

Billingham, R. E., Brent, L. and Medawar, P. B. 1953 Oct. Activity acquired tolerance of foreign cells. *Nature*, 172(4379), 603-6. doi: 10.1038/172603a0.

Bingaman, A. W. and Farber, D. L. 2004 Jun. Memory T Cells in Transplantation: Generation, Function, and Potential Role in Rejection. *American Journal of Transplantation*, 4(6), 846-852. doi: 10.1111/j.1600-6143.2004.00453.x.

Bodmer, JG. Marsh, SG. Albert, ED. 1999. Nomenclature for the factors of the HLA system, 1998. *Euro J of Immuno*. 26: 81-116.

Bos, I. G., Ten Berge, I. J. and Hack, C. E. 2002 July. Role of complement in graft rejection after organ transplantation. *Transfusion Medicine Reviews*, 16(3). 251-64. doi.org/10.1053/tmr.v.2002.33460

Bostock I C., Alberú J., Arvizu A., Hernández-Mendez E A., De-Santiago A., González-Tableros N., López M., Castelán N., Contreras A G., Morales-Buenrostro L E., Gabilondo B., Vilatobá M. 2013 Jun. Probability of deceased donor kidney transplantation based on % PRA. *Transplant Immunology*. doi.org/10.1016/j.trim.2013.05.002

Bostock, I. C., Alberu, J., Arvizu, A., Hernandez-Mendez, E. A., De-Santiago, A., Gonzalez-Tableros, N., Lopez, M., Castelan, N., Contreras, A. G., Morales-Buenrostro, L. E., Gabilondo, B., and Vilatoba, M. 2013 May. Probability of deceased donor kidney

transplantation based on % PRA. *Transplant Immunology*, 28(4), 154-8. doi: 10.1016/j.trim.2013.05.002.

Bouteiller PL, Mallet V. 1997 Jan. HLA-G and Pregnancy. *Rev Reprod*. 2(1):7-13. doi: 10.1530/ror.0.0020007.

Bradley BA. 2002 Aug. Rejection and Recipient Age. *Transpl Immunol*. 10(2-3):125-32. doi: 10.1016/s0966-3274(02)00058-8.

Brennan D C, Daller J A, Lake K D, Cibrik D, Castillo D D, Thymoglobulin Induction Study Group. 2006 Nov Rabbit Antithymocyte Globulin Versus Basiliximab in Renal Transplantation. *N Engl J Med*. 9;355(19):1967-77. doi: 10.1056/NEJMoa060068.

Brennan D C, Schnitzler M A. 2008 Oct. Long-term Results of Rabbit Antithymocyte Globulin and Basiliximab Induction. *N Engl J Med*. 16;359(16):1736-8. doi: 10.1056/NEJMc0805714.

Brenol C V, Veit T D, Chies J A B, Xavier R M. 2012 Feb. The role of the HLA-G gene and molecule on the clinical expression of rheumatologic diseases; *Rev Bras Rheumatology*. 52 (1):75-91.

Browning, M. McMichael, A. 1996. MHC and HLA: Genes, Molecules and Function. Oxford: Bios Scientific Publishers.

Bruck K, Stel VS, Gambaro G. 2016 Jul. Ckd prevalence varies across the european general population. *J Am Soc Nephrol* 27: 2135-47. doi: 10.1681/ASN.2015050542.

Carosella E D, HoWangYin K-Y, Favier B, LeMaout J. 2008 Nov. HLA-G–dependent suppressor cells: Diverse by nature, function, and significance. *Human Immunology*. 69(11):700-7. doi: 10.1016/j.humimm.2008.08.280.

Carosella ED. 2011 Jul. The tolerogenic molecule HLA-G. *Immunology Letters*: 138(1):22-4. doi: 10.1016/j.imlet.2011.02.011.

Carosella ED, Rouas Freiss N, Paul P, ve ark. HLA-G: A Tolerance Molecule from the Major Histocompatibility Complex. *Immunol Today*, 1999; 20: 60-62

Castelli EC, Veiga-Castelli LC, Yaghi L, Moreau P, Donadi EA. 2014. Transcriptional and Posttranscriptional Regulations of the HLA-G Gene. *J Immunol Res*. 2014:734068. doi: 10.1155/2014/734068.

Castelli EC, Mendes-Junior CT, Deghaide NH, et al. 2010 Mar. The genetic structure of 3'untranslated region of the HLA-G gene: polymorphisms and haplotypes. *Genes Immun* 11: 134–141. 11(2):134-41. doi: 10.1038/gene.2009.74.

Castelli EC, Moreau P, e Chiromatzo O, Mendes-Junior CT, Veiga-Castelli LC, Yaghi L, et al. 2009. In silico analysis of microRNAs targeting the HLA-G 3' untranslated region alleles and haplotypes. *Hum Immunol*;70:1020–5.

Cheigh JS, Chami J, Stenzel KH, Riggio R R, Saal S, Mouradian J A, Fotino M, Stubenbord W T, Rubin A L. 1977. May. ‘ ‘ Renal Transplantation Between HLA Identical Siblings. Comparison With Transplants From HLA Semi-Identical Related Donors’ ’ *N Engl J Med*. 296 (18), 1030-4. DOI: 10.1056/NEJM197705052961803.

Chen X.Y., Yan W.H., Lin A., Xu H.H., Zhang J.G., Wang X.X., 2008 Oct. The 14 bp deletion polymorphism in HLA-G gene play an important role in the expression of soluble HLA-G in plasma, *Tissue Antigens* 72 (2008) 335–341, <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2008.01107.x>.

Cho J.H., Kim H.O., Webster K., Palendira M., Hahm B., Kim K.S., King C., Tangye S.G., Sprent J., 2011. Calcineurin-dependent negative regulation of CD94/NKG2A expression on naive CD8⁺ T cells, *Blood* 118 116–128, <https://doi.org/10.1182/blood-2010-11-317396>.

Choo, S. Y. 2007 Feb. The hla system: Genetics, immunology, clinical testing, and clinical implications. *Yonsei medical journal*. 48 (1): 11-23.

Cilião Alves DC, de Oliveira Crispim JC, Castelli EC, Mendes-Junior CT, Deghaide NH, Barros Silva GE, Costa RS, Saber LT, Moreau P, Donadi EA. 2012 Jan. Human leukocyte antigen-G 3' untranslated region polymorphisms are associated with better kidney allograft acceptance. *Hum Immunol*.;73(1):52-9. doi: 10.1016/j.humimm.2011.10.007.

Cinti P, Pretagostini R. Lai Q, Tamburro ML, Rossi M. Poli L and Berloco P. 2009. Alloantibodies and outcomes of deceased donor kidney allografts. *Hum Immunol*. 70: 651-654.

Clements CS, Kjer-Nielsen L, McCluskey J, Rossjohn J. 2007 Apr. Structural Studies on HLA-G: Implications for Ligand and Receptor Binding. *Hum Immunol*. 68(4):220-6. doi: 10.1016/j.humimm.2006.09.003.

Coleman, W.B. and Tsongalis, G.J. (Eds.). 2006. *Molecular Diagnostics: for The Clinical Laboratorian*, Second Edition edHumana Press, 485-494.

Collins AB, Schneeberger EE, Pascual MA, Saidman SL, Williams WW, Tolkoff-Rubin N, Cosimi AB, Colvin RB: Complement activation in acute humoral renal allograft rejection: Diagnostic significance of C4d deposits in peritubular capillaries. *J Am Soc Nephrol* 10: 2208-2214, 1999

Colombo MB, Haworth SE, Poli F, Nocco A, Puglisi G, Innocente A, Serafini M, Messa P, Scalamogna M. 2007 Nov. Cytometry B Clin Cytom. Luminex Technology for anti-HLA Antibody Screening: Evaluation of Performance and of Impact on Laboratory Routine. 72(6):465-71. doi: 10.1002/cyto.b.20353.

Colvin, R. B. 2007 Apr. Antibody-mediated renal allograft rejection: diagnosis and pathogenesis. Journal of the American Society of Nephrology, 18(4), 1046-56. doi: 10.1681/ASN.2007010073.

Creput C, Le Friec G, Bahri R, Amiot L, Charpentie B, Carosella ED, Rouas-Freiss N, Durrbach A. 2003. Detection of HLA-G in serum and graft biopsy associated with fewer acute rejections following combined liver–kidney transplantation: possible implications for monitoring patients. Hum. Immunol. 64, 1033-38.

Creput C., Durrbach A., Menier C., Guettier C., Samuel D., Dausset J., Charpentier B., Carosella ED., Rouas-Freiss N. 2003. Human leukocyte antigen-G (HLA- G) expression in biliary epithelial cells is associated with allograft acceptance in liver-kidney transplantation, J. Hepatol. 39 587–594, [https://doi.org/10.1016/S0168-8278\(03\)00354-4](https://doi.org/10.1016/S0168-8278(03)00354-4).

Crespo M, Lozano M, Sole M, Mila J, Esforzado N, Martorell J, Oppenheimer F. 2003 Aug. Diagnosis and Treatment of Acute Humoral Rejection After Kidney Transplantation: Preliminary Experience. 35(5):1677-8. doi: 10.1016/s0041-1345(03)00620-1.

Crespo M, Pascual M, Tolkoff-Rubin N, Mauiyyedi S, Collins AB, Fitzpatrick D, Delmonico FL, Cosimi AB, Colvil RB, Saidman S. 2001 Mar. Acute humoral rejection in renal allograft recipients: incidence, serology and clinical characteristics.: Transplantation 71: 652-658, 2001. doi: 10.1097/00007890-200103150-00013.

Crispim JC., Duarte R.A., Soares C.P., Costa R., Silva J.S., Mendes-Junior C.T., Wastowski I.J., Faggioni L.P., Saber L.P., Donadi E. 2008. Human leukocyte antigen G expression after kidney transplantation is associated with a reduced incidence of rejection, Transpl. Immunol. 18 <https://doi.org/10.1016/j.trim.2007.10.010>.

Crispim JC, Mendes-Junior CT, Wastowski IJ, Costa R, Castelli EC, Saber LT, Donadi EA. 2008. Frequency of insertion/deletion polymorphism in exon 8 of HLA-G and kidney allograft outcome. Tissue Antigens 71: 35–41. doi: 10.1111/j.1399-0039.2007.00961.x

Critchley WR1, Fildes JE. 2012. Jun. ‘Graft rejection - endogenous or allogeneic? Immunology. 136(2):123-32. doi: 10.1111/j.1365-2567.2012.03560.x.

Curigliano G, Criscitiello C, Gelao L, Goldhirsch A. 2013 Oct Molecular Pathways: Human Leukocyte Antigen G (HLA-G). Clin Cancer Res. 15;19(20):5564-71. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-3697.

Danovitch GM. 2003. Böbrek Nakli El Kitabı. Tuncay Karpuzoğlu, çeviri editörü. Üçüncü baskı. Ankara: Günes Kitapevi; pp. 1-16.

de Almeida B S, Muniz Y C N, Prompt A H, Castelli E C, Mendes-Junior C T, Donadi E A. 2018 Oct. Genetic Association Between HLA-G 14-bp Polymorphism and Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis. Hum Immunol.79(10):724-735. doi: 10.1016/j.humimm.2018.08.003.

Delgado JC, Eckels DD. 2008. Positive B-cell only flow cytometric crossmatch: implications for renal transplantation. Exp Mol Pathol. 85: 59-63.

Deniz MN. Böbrek fizyolojisi. <http://www.jcam.com.tr/files/JCAM-3906.pdf>. Erişim tarihi: 26/01/2019

DeWolf, S., Sykes, M. 2107 Jun. Alloimmune T Cells in Transplantation. Journal of Clinical Investigation, 127 (7):2473-2481. doi: 10.1172/JCI90595.

Donadi EA, Castelli EC, Arnaiz-Villena A, Roger M, Rey D, Moreau P. 2011 “Implications of the polymorphism of HLA-G on its function, regulation, evolution and disease association.” Cell Mol Life Sci;68(3):369–95.

Dunn T. B., Noreen H., Gillingham K., Maurer D., Ozturk O. G., Pruett T L., Bray R A., Gebel H M., Matas A J., 2011 Aug. Revisiting Traditional Risk Factors for Rejection and Graft Loss After Kidney Transplantation. doi.org/10.1111/j.1600-6143.2011.03640.x.

Durmanova V, Bandzuchova H, Zilinskac Z, Tirpakova J, Kuba D, Buc M, Polakova K. 2019 Aug. Association of HLA-G Polymorphisms in the 3'UTR Region and Soluble HLA-G with Kidney Graft Outcome. Immunological Investigations A Journal of Molecular and Cellular Immunology. 48 (6), 644-658. DOI: 10.1080/08820139.2019.1610888

Durmanova V, Bandzuchova H, Zilinskac Z, Tirpakova J, Kuba D, Buc M, Polakova K. 2016 Sep. Impact of HLA-G 14 bp polymorphism and soluble HLA-G level on kidney graft outcome. Open Life Sci. 11: 372–379 DOI 10.1515/biol-2016-0049.

Endert PV and Villadangos JA. 2007 Feb. Antigen processing and recognition. Curr Opin Immunol. 19: 63-65. doi: 10.1016/j.coi.2006.11.015.

Everly MJ, Rebellato LM, Haisch CE, Ozawa M, Parker K, Briley KP, Catrou PG, Bolin P, Kendrick WT, Kendrick SA, Harland RC, Terasaki PI. 2013 Feb. Incidence and Impact of De Novo Donor-Specific Alloantibody in Primary Renal Allografts. *Transplantation*. 15;95(3):410-7. doi: 10.1097/TP.0b013e31827d62e3.

Ezeakile M, Portik-Dobos V, Wu J, Horuzsko DD, Kapoor R, Jagadeesan M, Mulloy LL, Horuzsko A. 2014 HLA-G dimers in the prolongation of kidney allograft survival. *J Immunol Res*;2014:153981. doi: 10.1155/2014/153981.

Fainardi E, Castellazzi M, Stignani M, Morandi F, Sana G, Gonzalez R, Pistoia V, Baricordi O R, Sokal E, Pena J. 2011 Feb Emerging topics and new perspectives on HLA-G *Cell. Mol. Life Sci*. 68(3):433-51. doi: 10.1007/s00018-010-0584-3.

Farid E, Al-Wedaie F, Tabbara K, El-Agroudy A E, Al-Ghareeb Human S M . 2015 Apr Leukocyte Antigen G and Renal Allograft Transplant. *Exp Clin Transplant*. 13 Suppl 1:371-6.

Favier B, LeMaoult J, Carosella ED. 2007 Apr. Functions of HLA-G in the immune system. *Journal compilation*. 69 Suppl 1:150-2. doi: 10.1111/j.1399-0039.2006.763_6.x.

Flechner SM, Modlin CS, Serrano DP, Goldfarb DA, Papajcik D, Mastroianni B, Goormastic M, Novick AC. 1996 Nov. Determinants of Chronic Renal Allograft Rejection in Cyclosporine-Treated Recipients. *Transplantation*. 15;62(9):1235-41. doi: 10.1097/00007890-199611150-00009.

Fraser SD, Aitken G, Taal MW. 2015 Feb. Exploration of chronic kidney disease prevalence estimates using new measures of kidney function in the health survey for england. *PLoS One* 10: 1-16. doi.org/10.1371/journal.pone.0118676.

Fujii T, Ishitani A and Geraghty D E. 1994 Dec. A soluble form of the HLA-G antigen is encoded by a messenger ribonucleic acid containing intron 4. *J Immunol*. 153 (12) 5516-5524

Gaston RS. 2001 Dec. Maintenance immunosuppression in the renal transplant recipient: an overview. *Am J Kidney Dis*. 38(6 Suppl 6):S25-35. doi: 10.1053/ajkd.2001.28923

Geraghty. D, E., Koller. B. H. & Orr. H. T. 1987 Dec A Human Major Histocompatibility Complex Class I Gene That Encodes a Protein With a Shortened Cytoplasmic Segment. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 84(24):9145-9. doi: 10.1073/pnas.84.24.9145.

Girndt M, Trocchi P, Scheidt-Nave C. 2016 Feb. The prevalence of renal failure. Results from the german health interview and examination survey for adults, 2008-2011 (degs1). *Dtsch Arztebl Int* 113: 85-91. doi: 10.3238/arztebl.2016.0085.

Goldsby RA, Kindt TK, Osborne BA and Kuby J. 2003. Major Histocompatibility Complex. In Goldsby RA, Kindt TK, Osborne BA and Kuby J, *Immunology* (5th ed). W.H. Freeman and Company, New York. p161-184

Gonzalez A, Rebmann V, LeMaout J, Horn PA., Carosella ED., Alegre E. 2012 Apr. The immunosuppressive molecule HLA-G and its clinical Implications. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*; 49 (3): 63–84. doi.org/10.3109/10408363.2012.677947.

Gonzalez A., Alegre E., Torres M.I., Diaz-Lagares A., Lorite P., Palomeque T., Arroyo A., 2010 May. Evaluation of HLA-G 5 plasmatic levels during pregnancy and relationship with 14-bp polymorphism, *Am. J. Reprod. Immunol.* 64 367–374, <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2010.00855.x>.

Gorer, P. A. 1936 May. The detection of antigenic differences in mouse erythrocytes by the employment of immune sera. *Br. J. Exp. Pathol.* 17, 42–50.

Gould D S, Auchincloss Jr H. 1999 Feb. Direct and Indirect Recognition: The Role of MHC Antigens in Graft Rejection. *Immunol Today.* 20(2):77-82. doi: 10.1016/s0167-5699(98)01394-2.

Grafft, C. A., Cornell, L. D., Gloor, J. M., Cosio, F. G., Gandhi, M. J., Dean, P. G., Stegall, M. D., and Amer, H. 2010 Jan. Antibody-mediated rejection following transplantation from an HLA-identical sibling. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 25(1), 307-10. doi: 10.1093/ndt/gfp526.

Guichard-Romer A, Marino-Vazquez L A, Castelán N, López Mayra, González-Tableros N, Arvizu A, Santiago A D, Alberú J, Morales-Buenrostro L E. 2016 Sep. Impact of Pretransplant Exposure to Allosensitization Factors Generating HLA Antibodies in the Luminex Era. *Transpl Immunol.* 38:33-9. doi: 10.1016/j.trim.2016.08.003.

Günay ES, Töz H. 2008. “Böbrek Transplantasyonunda Rejeksiyon” *Türkiye Klinikleri J Nephrol-Special Topics*, 1(1):95-101.

Haberal M, Sert S, Aybasti N, et al 1988: Living donor kidneytransplantation. *Transplant Proc* 20(1 Suppl 1):353.

Haberal, M. 1995 Oct. Historical evolution of kidney and liver transplantation in Turkey. *Transplantation Proceedings*, 27(5), 2771-4.

Halloran PF, Schlaut J, Solez K, Srinivasa NS. 1992 Mar. The significance of the anti-class 1 antibody response. II. Clinical and pathologic features of renal transplants with anti- class I-like antibody. *Transplantation* 53: 550-555.

Halloran PF. 2003 Jun. The clinical importance of alloantibody mediated rejection. *Am J Transplant*. 3: 639-640. doi: 10.1034/j.1600-6143.2003.00172.x

Hamosh A, Scott AF, Amberger J, Valle D, McKusick V A. 2000. Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). *Hum Mutat*: 15: 57–61. doi:10.1002/(SICI)1098-1004(200001)15:1<57::AID-HUMU12>3.0.CO;2-G

Hardinger K L, Bohl D L, Schnitzler M A, Lockwood M, Storch G A, Brennan D C 2005 Jul. A Randomized, Prospective, Pharmacoeconomic Trial of Tacrolimus Versus Cyclosporine in Combination With Thymoglobulin in Renal Transplant Recipients. *Transplantation*. 15;80(1):41-6. doi: 10.1097/01.tp.0000162980.68628.5a.

Hardinger K L, Brennan D C, Klein C L. 2013 Jul. Selection of Induction Therapy in Kidney Transplantation. *Transpl Int*. 26(7):662-72. doi: 10.1111/tri.12043.

Hardinger K L, Brennan D C, Schnitzler M A. 2009 May Rabbit Antithymocyte Globulin Is More Beneficial in Standard Kidney Than in Extended Donor Recipients. *Transplantation*. 15;87(9):1372-6. doi: 10.1097/TP.0b013e3181a2475f.

Hardinger K L. 2006 Dec. Rabbit Antithymocyte Globulin Induction Therapy in Adult Renal Transplantation. *Pharmacotherapy*. 26(12):1771-83. doi: 10.1592/phco.26.12.1771.

Harrison G.A., Humphrey K.E., Jakobsen I.B. ve Cooper D.W. 1993 Dec. A 14 bp Deletion Polymorphism in The HLA-G Gene. *Hum Mol Genet* 2(12):2200. doi: 10.1093/hmg/2.12.2200-a.

Heinrichs H, Orr H T. 1990. HLA non-A,B,C Class I Genes: Their Structure and Expression. *Immunol Res*. 9(4):265-74. doi: 10.1007/bf02935526.

Herrera OB, et al. 2004 Oct. A novel pathway of alloantigen presentation by dendritic cells. *J Immunol*. 173(8):4828–4837. doi: 10.4049/jimmunol.173.8.4828.

Herrera OB, Golshayan D, Tibbott R, Ochoa FS, James MJ, Marelli-Berg FM, Lechler RI. 2004 Oct A Novel Pathway of Alloantigen Presentation by Dendritic Cells. *J Immunol*. 15;173(8):4828-37. doi: 10.4049/jimmunol.173.8.4828.

Hiby SE, King A, Sharkey A, Loke YW. 1999 Jan Molecular studies of trophoblast HLA-G: Polymorphism, isoforms, imprinting and expression in preimplantation embryo. *Tissue Antigens*. 53(1):1-13. doi: 10.1034/j.1399-0039.1999.530101.x.

Hickey MJ., Valenzuela NM., and Reed EF. 2016 Feb. Alloantibody Generation and Effector Function Following Sensitization to Human Leukocyte Antigen. *Front Immunol*. doi: 10.3389/fimmu.2016.00030

Hill NR, Fatoba ST, Oke JL. 2016 Jul. Global prevalence of chronic kidney disease - a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 11: 1-18. doi: 10.1371/journal.pone.0158765.

HLA alleles numbers. Erişim: (<http://hla.alleles.org/nomenclature/stats.html>). Erişim tarihi: 26/01/2019.

Hou W, Huang Z, Ji Z, Zhou J. 2014 Apr. Human leukocyte antigen-G-14-base-pair-insertion/deletion polymorphism and graft survival in kidney transplant recipients. *Exp Clin Transplant*, 12(2):89-94.

<https://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/stats.html>. EMBL-EBI 2020. Erişim tarihi: 16.06.2020

Hume DM, Merrill JP, Miller BF, Thorn GW. 1955 Feb Experiences With Renal Homotransplantation in the Human: Report of Nine Cases. *J Clin Invest*. 34(2):327-82. doi: 10.1172/JCI103085.

Hume, D. M., Merrill, J. P., Miller, B. F. and Thorn, G. W. 1955 Feb. Experiences with renal homotransplantation in the human: report of nine cases. *Journal of Clinical Investigation*, 34(2), 327-82. doi: 10.1172/JCI103085.

Hviid T V F, Rizzo R, Christiansen O B, Melchiorri L, Lindhard A, Baricordi O R. 2004 Jun. HLA-G and IL-10 in Serum in Relation to HLA-G Genotype and Polymorphisms. *Immunogenetic*. 56(3):135-41. doi: 10.1007/s00251-004-0673-2.

Hviid T.V.F. 2006 May-Jun. HLA-G in Human Reproduction: Aspects of Genetics, Function and Pregnancy Complications. *Hum Reprod Update*. 12(3):209-32. doi: 10.1093/humupd/dmi048.

Hviid TV, Christiansen OB. 2005 Jun "Linkage disequilibrium between human leukocyte antigen (HLA) class II and HLA-G--possible implications for human reproduction and autoimmune disease." *Hum Immunol.*;66(6):688-99.

Hviid TV, Hylenius S, Rorbye C, Nielsen LG. 2003 May ‘HLA-G allelic variants are associated with differences in the HLA-G mRNA isoform profile and HLA-G mRNA levels.’ *Immunogenetics*;55(2):63-79.

Hviid TV, Rizzo R, Melchiorri L, Stignani M, Baricordi OR. 2006. ‘Polymorphism in the 5’ upstream regulatory and 3’ untranslated regions of the HLA-G gene in relation to soluble HLA-G and IL-10 expression.’ *Hum Immunol*;67:53–62.

Hviid TV, Sørensen S, Morling N. 1999 Dec. Polymorphism in the Regulatory Region Located More Than 1.1 Kilobases 5' to the Start Site of Transcription, the Promoter Region, and Exon 1 of the HLA-G Gene. *Hum Immunol*. 60(12):1237-44. doi: 10.1016/s0198-8859(99)00130-5.

Hwang HS, Hyoung BJ, Lee SY, Jeon YJ, Yoon HE, Kim JY ve ark. 2009. Comparison of antibody monitoring system with flow cytometric crossmatch test in renal transplant recipients with high panel-reactive antibody. *Nephron Clin Pract*. 111: 260-264.

Ingelfinger, J. R. 2005. Agonistic autoantibodies and rejection of renal allografts. *The New England Journal of Medicine*, 352(6), 617-9.

Ishida H, Tanabe K, Toma H, Akiba T. 2003 Dec Therapeutic apheresis therapy for ABO incompatible renal transplantation. *Ther Apher Dial*. 7(6):520-8. doi: 10.1046/j.1526-0968.2003.00099.x

Ishitani A, Geraghty DE. 1992 May. Alternative splicing of HLA-G transcripts yields proteins with primary structures resembling both class I and class II antigens. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 89(9):3947-51. doi: 10.1073/pnas.89.9.3947.

İnternet: T.C. Sağlık Bakanlığı Organ, Doku Nakli ve Diyaliz Hizmetleri Daire Başkanlığı Güncel Verileri. Son erişim tarihi: <http://organ.saglik.gov.tr> 07.01.2019

Janeway, C. 2001. *Immunobiology* five: Garland Pub.; p: 553-554.

Janssen M, Thaisse F, Nashana B, Kocha M, Thüde H. 2018 Dec. Donor derived HLA-G polymorphisms have a significant impact on acute rejection in kidney transplantation. *Human Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2018.12.011>

Jin Z, Xu C, Duan W, Yang J, Tian P. 2017 Jul Serum Soluble HLA-G, Soluble CD30 Is Correlated to the Time After Transplantation in Renal Transplant Recipients. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*;33(7):947-952.

Jin Z-K, Xu C-X, Tian P-X, Xue W-J, Ding X-M, Zheng J, Ding C-G, Ge G-Q, Mao T-C, Lin Y. 2012 Oct. Impact of HLA-G 14-bp Polymorphism on Acute Rejection and

Cytomegalovirus Infection in Kidney Transplant Recipients From Northwestern China. *Transpl Immunol.* 27(2-3):69-74. doi: 10.1016/j.trim.2012.06.008.

Jindal RM, Das NP, Neff RT, Hurst FP, Falta EM, Elster EA, Abbott KC. 2009. Outcomes in African-Americans vs. Caucasians Using Thymoglobulin or interleukin-2 Receptor Inhibitor Induction: Analysis of USRDS Database. *Am J Nephrol.* 29(6):501-8. doi: 10.1159/000182816.

Juriscova A., Casper R.F., MacLusky N.J., Mills G.B., Librah C.L. 1996 Jan HLA-G Expression During Preimplantation Human Embryo Development. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 93(1):161-5. doi: 10.1073/pnas.93.1.161.

Kaech SM, Wherry EJ, Ahmed R. 2002 Apr. Effector and memory T cell differentiation: Implication for vaccine development. *Nat Rev Immunol.* 2: 251-262. doi: 10.1038/nri778.

Kaneku H., 2006. Detection of soluble HLA-G and its correlation with kidney transplant outcome, *Clin. Transpl.*,447-454.

Kapic E, Becic F, Kusturica J. 2004. Basiliximab, mechanism of action and pharmacological properties. *Med Arh.* 58(6):373-6.

Kirszenbaum M, Moreau P, Gluckman E, Dausset J, and Carosella ED. 1994 May. An alternatively spliced form of HLA-G mRNA in human trophoblasts and evidence for the presence of HLA-G transcript in adult lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 91 (10) 4209-4213; <https://doi.org/10.1073/pnas.91.10.4209>

Klein J, Sato A. 2000. The hla system. First of two parts. *The New England journal of medicine* 343: 702-9.

Klein, J., & Sato, A. 2000. The hla system. *New England Journal of Medicine.* 343 (10): 702-709.

Knight RJ, Burrows L, Bodian C. 2001 Jul The Influence of Acute Rejection on Long-Term Renal Allograft Survival: A Comparison of Living and Cadaveric Donor Transplantation. *Transplantation.* 15;72(1):69-76. doi: 10.1097/00007890-200107150-00015.

Kocak, T., Nane, I., Ander, H., Ziylan, O., Oktar, T., Özsoy, C. 2004. Urological and surgical complications in 362 consecutive living related donor kidney transplantations. *Urologia Internationalis,* 72: 252-6. <https://doi.org/10.1159/000077125>

Konvalinka A, Tinckam K. 2015 Jul. Utility of HLA Antibody Testing in Kidney Transplantation. *J Am Soc Nephrol.* 26(7):1489-502. doi: 10.1681/ASN.2014080837.

Kopyt N. 2007 Nov. Management and treatment of chronic kidney disease. *Nurse Pract.* 32(11):14-23. Doi: 10.1097/01.npr.0000298267.70526.b8

Krongvorakul J, Kantachuvesiri S, Ingsathit A, Rattanasiri S, Mongkolsuk T, Kitpoka P, Thammanichanond D. 2015 Jun. Association of Soluble Human Leukocyte antigen-G With Acute Tubular Necrosis in Kidney Transplant Recipients. *Asian Pac J Allergy Immunol.* 33(2):117-22. doi: 10.12932/AP0528.33.2.2015.

Lachmann N, Terasaki PI, Budde K, Liefeldt L, Kahl A, Reinke P, Pratschke J, Rudolph B, Schmidt D, Salama Ar, Schönemann C. 2009 May. Anti-human leukocyte antigen and donor-specific antibodies detected by luminex posttransplant serve as biomarkers for chronic rejection of renal allografts. *Transplantation* 87: 1505-13. doi: 10.1097/TP.0b013e3181a44206.

Land W, Vincenti F. 2005 Oct. Toxicity-sparing protocols using mycophenolate mofetil in renal transplantation. *Transplantation.* 80(2 Suppl):S221-34. doi: 10.1097/01.tp.0000186386.13597.cb.

Landsteiner, K. 1901. Über Agglutinationserscheinungen normalen menschlichen Blutes [German]. *Wien Klin. Wochenschr.* 14, 1132–1134.

Laterza O.F. Price C.P. Scott M.G. 2002 May. Cystatin C: an improved estimator of glomerular filtration rate? *Clin Chem* 48:5 699-707

Le Bouetiler P., Legrand-Abravanel F., Solier C.. 2003 Apr. Soluble HLA-G1 at The Materno-Foetal Interface – A Review. *Placenta*, 24 Suppl A:S10-5. doi: 10.1053/plac.2002.0931.

Le Gal FA, Riteau B, Sedlik C, Khalil-Daher I, Menier C, Dausset J, Guillet JG, Carosella ED, Rouas-Freiss N. 1999. HLA-G mediated inhibition of antigen-specific cytotoxic T lymphocytes. *Int Immunol*, 8: 1351-56.

Le Rond S, Azéma C, Krawice-Radanne I, Durrbach A, Guettier C, Carosella ED, Rouas-Freiss N. 2006 Mar. Evidence to support the role of HLA-G5 in allograft acceptance through induction of immunosuppressive/ regulatory T cells. *J Immunol.* 1;176(5):3266-76.

Lee PC , Terasaki P I, Takemoto S K, Lee P-H, Hung C-J, Chen Y-L, Tsai A, Lei H-Y. 2002 Oct. All Chronic Rejection Failures of Kidney Transplants Were Preceded by the

Development of HLA Antibodies. *Transplantation*. 27;74(8):1192-4. doi: 10.1097/00007890-200210270-00025.

Lee PC, Zhu L, Terasaki PI, Everly MJ. 2009 Aug. Hla-specific antibodies developed in the first year posttransplant are predictive of chronic rejection and renal graft loss. *Transplantation*. 88: 568-74. doi: 10.1097/TP.0b013e3181b11b72.

Lee R S, Grusby M J, Glimcher L H, Winn H J, Jr H Auchincloss. 1994 Mar. Indirect recognition by helper cells can induce donor-specific cytotoxic T lymphocytes in vivo. *J Exp Med*. 1994; 179(3):865–872. doi: 10.1084/jem.179.3.865.

Levey AS, Coresh J. 2012 Jan. Chronic kidney disease. *The Lancet* 379: 165-80. doi: 10.1016/S0140-6736(11)60178-5.

Levin A, SPE, Bilous R.W., Coresh J., De Francisco A.L.M., De Jong P.E., Griffith K.E., Winearls C.G. 2013 Jan. Kdigo 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney International Supplements* 3: 1-150

Lila N, Carpentier A, Amrein C, Khalil-Daher I, Dausset J, Carosella ED. 2000 Jun. Implication of HLA-G molecule in heart-graft acceptance. *Lancet*. 17;355(9221):2138.

Lila N., Amrein C., Guillemain R., Chevalier P., Latremouille C., Fabiani J.N., Dausset J, Carosella ED, Carpentier A. 2002 Apr. Human leukocyte antigen-G expression after heart transplantation is associated with a reduced incidence of rejection, *Circulation*. 23;105(16):1949-54. doi: 10.1161/01.cir.0000015075.89984.46.

Lila N., Rouas-Freiss N., Dausset J., Carpentier A. ve Carosella ED. 2001 Oct. Soluble HLA-G Protein Secreted by Allo-Specific CD4⁺ T cells Suppresses The Allo-Proliferative Response: A CD4⁺ T Cell Regulatory Mechanism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 9;98(21):12150-5. doi: 10.1073/pnas.201407398.

Loupy A, Suberbielle-Boissel C, Hill GS, Lefaucheur C, Anglicheau D, Zuber J, Martinez F, Thervet E, Méjean A, Charron D, Duong van Huyen J P, Bruneval P, Legendre C, Nochy D. 2009 Nov. Outcome of subclinical antibody-mediated rejection in kidney transplant recipients with preformed donor-specific antibodies. *American journal of transplantation: official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 9(11):2561-70. doi: 10.1111/j.1600-6143.2009.02813.x.

Luque J, Torres MI, Aumente MD, Marín J, García-Jurado G, González R, Pascual D, Guerra N, López-Rubio F, Alvarez-López MR, Arizón JM, Peña J 2006 Apr-May. Soluble HLA-G in heart transplantation: their relationship to rejection episodes and immunosuppressive therapy. *Hum Immunol*.;67(4-5):257-63.

Madden DR. 1995. The three dimensional structure of peptide MHC complexes. *Ann Rev Immunol.* 13: 587-622.

Mak TW, Saunders ME. 2008. *The Major Histocompatibility Complex.* Elsevier, Oxford, UK. p101-113

Manaster I, Goldman-Wohl D, Greenfield C, Nachmani D, Tsukerman P, Hamani Y, Yagel S, Mandelboim O. 2012. MicroRNA-mediated control of HLA-G expression and function. *PLoS One.* 2012;7(3):e33395. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033395>.

Martelli-Palomino G, Pancotto JA, Muniz YC, et al. 2013 Oct. Polymorphic sites at the 3' untranslated region of the HLA-G gene are associated with differential hla-g soluble levels in the Brazilian and French population. *PLoS One* 8(10):e71742. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071742>

Mateu L M P, Calabuig A S, Plaza L C, Esteve A F. 2004 Jun. Acute rejection and late renal transplant failure: risk factors and prognosis. *Nephrol Dial Transplant. Suppl* 3:iii38-42. doi: 10.1093/ndt/gfh1013.

Mauviyedi S, Pelle PD, Saidman S, Collins AB, Pascual MA, Tolkoff-Rubin NE, Williams WW, Cosmini AB, Schneeberger EE, Colvin RB 2001 Mar. Chronic humoral rejection: Identification of antibody-mediated chronic renal allograft rejection by C4d deposits in peritubular capillaries. *J Am Soc Nephrol* 12: 574-582

McMahon GM, Waikar SS. 2013 Jul. Biomarkers in nephrology: Core curriculum 2013. *Am J Kidney Dis* 62: 165-78. doi: 10.1053/j.ajkd.2012.12.022.

McPherson, R.A., Pincus, M.R. and Henry, J.B., 2007. *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods.* (Eds.), 21st Edition. Saunders Elsevier, 750-790.

Mehra, N. K., Siddiqui, J., Baranwal, A., Goswami, S. and Kaur, G. 2013 Feb. Clinical relevance of antibody development in renal transplantation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1283, 30-42. doi: 10.1111/nyas.12034.

Mehra, N. K., Siddiqui, J., Baranwal, A., Goswami, S. and Kaur, G. 2013 Feb. Clinical relevance of antibody development in renal transplantation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1283, 30-42. doi: 10.1111/nyas.12034.

Meier-Kriesche HU, Kaplan B. 2002 Nov. "Waiting time on dialysis as the strongest modifiable risk factor for renal transplant outcomes: a paired donor kidney analysis" *Transplantation.*, 74(10):1377-81.

Menier C, Rouas-Freiss N, Favier B, LeMaoult J, Moreau P, Carosella ED. 2010 Mar "Recent advances on the non-classical major histocompatibility complex class I HLA-G molecule". *Tissue Antigens*. 75(3):201-6. doi: 10.1111/j.1399-0039.2009.01438.x.

Merhi B, Bayliss G, Gohh RY. 2015 Dec. "Role for urinary biomarkers in diagnosis of acute rejection in the transplanted kidney" *World J Transplant*. 24;5(4):251-60. doi: 10.5500/wjt.v5.i4.251.

Minucci, P. B., Grimaldi, V., Casamassimi, A., Cacciatore, F., Sommesse, L., Picascia, A., Resse, M., Sabia, C., Russo, A., and Napoli, C. 2011 Dec. Methodologies for anti-HLA antibody screening in patients awaiting kidney transplant: a comparative study. *Experimental and Clinical Transplantation*, 9(6), 381-6.

Misra M.K., Pandey S.K., Kapoor R., Sharma R.K., Kapoor R., Prakash S., Agrawal S. 2014 Aug. HLA-G Gene Expression Influenced at Allelic Level in Association With End Stage Renal Disease and Acute Allograft Rejection. *Hum Immunol*. 75(8):833-9. doi: 10.1016/j.humimm.2014.06.005.

Misra M.K., Prakash S., Kapoor R., Pandey S.K., Sharma R.K., Agrawal S., 2013 Nov. Association of HLA-G promoter and 14-bp insertion-deletion variants with acute allograft rejection and end-stage renal disease, *Tissue Antigens*, 82(5):317-26. doi: 10.1111/tan.12210.

Montgomery R A., Tatapudi V S., Leffell M S. & Zachary A A. 2018 July. HLA in transplantation. *Nature reviews Nephrology* 14: 558-70.

Morales J M. 2005 Dec Immunosuppressive Treatment and Progression of Histologic Lesions in Kidney Allografts. *Kidney Int Suppl*.(99):S124-30. doi: 10.1111/j.1523-1755.2005.09923.x.

Morath C, Becker LE, Leo A, Beimler J, Klein K, Seckinger J, Kihm LP, Schemmer P, Macher-Goeppinger S, Wahrmann M, Böhmig GA, Opelz G, Süsal C, Zeier M, Schwenger V. 2012 Apr. ABO-incompatible Kidney Transplantation Enabled by Non-Antigen-Specific Immunoabsorption. *Transplantation*. 27;93(8):827-34. doi: 10.1097/TP.0b013e31824836ae.

Morris A., Hewitt C. ve Young S. 1994. The major histocompatibility complex: its genes and their roles in antigen presentation. *Mol Aspects Med*. 15: 377-503.

Mosaad, Y.M. 2015 Oct. Clinical Role of Human Leukocyte in Health and Diseases. *Scandinavian Journal of Immunology*.82(4):283-306. 614-25. doi: 10.1111/sji.12329.

Mota A, Figueiredo A, Cunha M F, Bastos M, Pratas J, Furtado L. 2003 May. Risk factors for acute rejection in 806 cyclosporine-treated renal transplants: a multivariate analysis. *Transplant Proc.* 35(3):1061-3 doi: 10.1016/s0041-1345(03)00306-3.

Murata M, Warren EH, Riddell SR. 2003 May. A human minor histocompatibility antigen resulting from differential expression due to a gene deletion. *J Exp Med.* 197: 1279– 89. doi: 10.1084/jem.20030044.

Murphy S.P., Porrett P.M., Turka L.A., 2011 May. Innate immunity in transplant tolerance and rejection, *Immunol. Rev.* 241 39–48, <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2011.01009.x>.)

Murray JE, Tilney NL, Wilson RE. 1976 Nov Renal transplantation: A twenty-five year experience. *Annals of surgery* 184: 565-73. doi: 10.1097/00000658-197611000-00006.

Naji, A., S. Le Rond, A. Durrbach, I. Krawice-Radanne, C. Creput, M. Daouya, J. Caumartin, J. LeMaout, E. D. Carosella, and N. Rouas-Freiss. 2007 Dec. CD3+ CD4low and CD3+ CD8low are induced by HLA-G: novel human peripheral blood suppressor T cell subsets involved in transplant acceptance. *Blood.* 1;110(12):3936-48. doi: 10.1182/blood-2007-04-083139.

Nankivell B J, Alexander S I. 2010 Oct. Rejection of the Kidney Allograft. *N Engl J Med* 7;363(15):1451-62. doi: 10.1056/NEJMra0902927.

Nankivell BJ and Alexander SI. 2010 Oct. Rejection of the Kidney Allograft. *N Engl J Med.* 363:1451-62. doi: 10.1056/NEJMra0902927.

Nelson P W, Helling T S, Shield C F, Beck M, Bryan C F. 1992 Nov. Current Experience With Renal Transplantation Across the ABO Barrier. *Am J Surg.* 164(5):541-4; discussion 544-5. doi: 10.1016/s0002-9610(05)81197-3.

O'Brien M, McCarthy T, Jenkins D, Paul P, Dausset J, Carosella ED, et al. 2001. Altered HLA-G transcription in pre-eclampsia is associated with allele specific inheritance: Possible role of the HLA-G gene in susceptibility to the disease. *Cell Mol Life Sci*;58:1943–9.

Øien C M, Reisaeter A V, Leivestad T, Dekker W F, Line P D, Os I. 2007 Mar. Living donor kidney transplantation: the effects of donor age and gender on short- and long-term outcomes. *Transplantation.* 15;83(5):600-6. doi: 10.1097/01.tp.0000255583.34329.dd.

Okushi Y., Okino K., Mukai K., Matsui Y., Hayashi N., Fuyimoto K., Adachy H., Yamaya H., Yokoyama H., 2017 Oct Circulating and renal expression of HLA-G

prevented chronic renal allograft dysfunction in Japanese recipients, Clin. Exp. Nephrol. 21 932–940, <https://doi.org/10.1007/s10157-016-1378-1>.

Olerup O, Zetterquist H. 1992 May. HLA-DR typing by PCR amplifications with sequencespecific primers (PCR-SSP) in two hours: an alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-recipient matching in cadaveric transplantation. Tissue Antigens 1992; 39:225-235. doi: 10.1111/j.1399-0039.1992.tb01940.x

Opelz, G. 2005 Apr. Non-HLA transplantation immunity revealed by lymphocytotoxic antibodies. Lancet, 365(9470), 1570-6. doi: 10.1016/S0140-6736(05)66458-6.

Ortmann B, Androlewicz MJ, Cresswell P. 1994 Apr. MHC class I/beta 2m associate with TAP transporters before peptide binding. Nature. 369: 864-867. doi: 10.1038/368864a0

Pabón M A, Navarro C E, Osorio J C, Gómez N , Moreno J P, Donado A F, Pérez H C, Lozano E. 2014 Nov. Impact of Human Leukocyte Antigen Molecules E, F, and G on the Outcome of Transplantation. Transplant Proc. 46(9):2957-65. doi: 10.1016/j.transproceed.2014.07.010.

Pamer E, Cresswell P. 1998. Mechanisms of MHC Class I--restricted Antigen Processing. Annu. Rev. Immunol. 16:323–58. DOI: 10.1146/annurev.immunol.16.1.323

Park B, Ahn K. 2003 Apr. An essential function of tapasin in quality control of HLA-G molecules. J Biol Chem 278(16):14337-45. doi: 10.1074/jbc.M212882200.

Park B, Lee S, Kim E, Chang S, Jin M, Ahn K 2001 Aug. The truncated cytoplasmic tail of HLA-G serves a quality-control function in post-ER compartments. Immunity. 15(2):213-24. doi: 10.1016/s1074-7613(01)00179-0.

Patel R and Terasaki PI. 1969 Apr. Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation New Eng J Med. 280: 14: 735-39. doi: 10.1056/NEJM196904032801401.

Patel, R. and Terasaki, P. I. 1969 Apr. Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation. The New England Journal of Medicine, 280(14), 735-9. doi: 10.1056/NEJM196904032801401.

Paul P, Cabestre FA, Ibrahim EC, Lefebvre S, Khalil-Daher I, Vazeux G, Quiles RM, Bermond F, Dausset J, Carosella ED. 2000. Identification of HLA-G7 as a new splice variant of the HLA-G mRNA and expression of soluble HLA-G5, -G6, and -G7 transcripts in human transfected cells. Hum Immunol, 61:1138-49.

Petrányi G. 1981 Apr [Nobel Prize Winners in Medicine for 1980. Immunogenetic Significance of the Main Histocompatibility System (George Snell, Jean Dausset, Baruj Benacerraf)]. *Orv Hetil.* 122(14):835-7.

Piancatelli D, Maccarone D, Liberatore G, Parzanese I, Clemente K, Azzarone R, Pisani F, Famulari A, Papola F. 2009 May. HLA-G 14-bp insertion/deletion polymorphism in kidney transplant patients with metabolic complications. *Transplant Proc*, 41(4):1187-8. doi: 10.1016/j.transproceed.2009.03.028.

Picascia A, Infante T, Napoli C. 2012 Jun. Luminex and Antibody Detection in Kidney Transplantation. *Clin Exp Nephrol.* 16(3):373-81. doi: 10.1007/s10157-012-0635-1.

Piotti, G., Palmisano, A., Maggiore, U. and Buzio, C. 2014 Oct. Vascular endothelium as a target of immune response in renal transplant rejection. *Frontiers in Immunology*, 5, 505. doi.org/10.3389/fimmu.2014.00505.

Pippas M, Kramer A, Noordzij M. 2017 Apr. The european renal association - european dialysis and transplant association registry annual report 2014: A summary. *Clin Kidney J* 10: 154-69. doi: 10.1093/ckj/sfw135.

Poláková K, Bandžuchová H, Žilinská Z, Chreňová S, Kuba D, Russ G. 2015 Apr. Analysis of HLA-G expression in serum and biopsy samples of kidney transplant recipients. *Immunobiology* ;220(4):533-7. doi: 10.1016/j.imbio.2014.10.017.

Ponticelli C, Tarantino A, Campise M, Montagnino G, Aroldi A, Passerini P. 2004 Mar. From cyclosporine to the future. *Transplant Proc.* 36(2 Suppl):557S-560S. doi: 10.1016/j.transproceed.2003.12.046.

Pratschke, J., Dragun, D., Hauser, I. A., Horn, S., Mueller, T. F., Schemmer, P., and Thaiss, F. 2016 Apr. Immunological risk assessment: The key to individualized immunosuppression after kidney transplantation. *Transplantation Reviews*, 30(2), 77-84. doi.org/10.1016/j.trre.2016.02.002

Qiu J, Terasaki PI, Miller J, Mizutani K, Cai J, Carosella ED. 2006. Soluble HLA-G expression and renal graft acceptance. *Am. J. Transplant.* 6, 2152-56.

Racca A, Veaute C, Bailat A S, Gaite L, Arriola M, Hajos S E, Malan Borel I S. 2009 May. Expression of HLA-G and MICA mRNA in renal allograft. *Transpl Immunol.* 21(1):10-2. doi: 10.1016/j.trim.2009.01.002.

Randers E., Erlandsen E.J. 1997 Apr. Serum cystatin C as an endogen marker of renal functions-a review. *Clin Chem Lab Med.* 37 (4): 389-395. doi: 10.1515/CCLM.1999.064

Rebmann V., Bartsch D., Wunsch A., Möllenbeck P., Golda T., Viebahn R., Grosse-Wilde H., 2009 Dec. Soluble total human leukocyte antigen class I and human leukocyte antigen-G molecules in kidney and kidney/pancreas transplantation, *Hum. Immunol.*, 70(12):995-9. doi: 10.1016/j.humimm.2009.07.016.

Regele H, Bohmig GA, Habicht A, Gollowitzer D, Schillinger M, Rockenschaub S, Watschinger B, Kerjaschki D, Exner M 2002 Sep. Capillary deposition of complement split product C4d in renal allografts is associated with basement membranc injury in peritubular and glomerular capillaries: A contribution of humoral immunity to chronic allograft rejection. *J Am Soc Nephrol* 13: 2371-2380. doi: 10.1097/01.asn.0000025780.03790.0f.

Riteau B, Rouas-Freiss N, Menier C, Paul P, Dausset J, Carosella ED. 2001. HLA-G2, -G3, and -G4 isoforms expressed as nonmature cell surface glycoproteins inhibit NK and antigen-specific CTL cytotoxicity. *J Immunol*, 166: 5018-26.

Rizzo R, Bortolotti D, Olavio R, Baricordi R O, Fainardi E. 2012 Dec. New Insights into HLA-G and Inflammatory Diseases; *Inflammation & Allergy - Drug Targets*. 11(6):448-63. doi: 10.2174/187152812803590037.

Rizzo R., Bortolotti D., Fredj N.B., Rotola A., Cura F., Castellazzi M., Tamborino C., Seraceni S., Baldi E., Melchiorri L., Tola M.R., Granieri E., Baricordi O.R., Fainardi E., 2012. Role of HLA-G 14bp deletion/insertion and +3142C > G polymorphisms in the production of sHLA-G molecules in relapsing-remitting multiple sclerosis, *Hum. Immunol.* 73 1140–1146, <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2012.08.005>.

Roberts SC. 2009. Complexity and context of mhc-correlated mating preferences in wild populations. *Molecular ecology* 18: 3121-3

Romagnani P, Remuzzi G, Glasscock R. 2017 Nov. Chronic kidney disease. *Nat Rev Dis Primers* 23;3:17088. doi: 10.1038/nrdp.2017.88.

Romagnani P, Remuzzi G, Glasscock R. 2017 Nov. Chronic kidney disease. *Nat Rev Dis Primers* 3: 1-24. doi: 10.1038/nrdp.2017.88

Rouas-Freiss N., Naji A., Durrbach A., Carosella ED., 2007. Tolerogenic functions of human leukocyte antigen G: from pregnancy to organ and cell transplantation. *Transplantation*. 84 21–25, <https://doi.org/10.1097/01.tp.0000269117.32179.1c>.

Rousseau P, Le Discorde M, Mouillot G, Marcou C, Carosella ED, Moreau P. 2003. The 14 bp deletion-insertion polymorphism in the 3' UT region of the HLA-G gene influences HLA-G mRNA stability. *Hum Immunol.*;64(11):1005-10.

Sayegh MH, Carpenter CB. 2004 Dec. Transplantation 50 years later-progress, Challenges and promises. *N Engl J Med.* 351(26): 2761-2766 doi: 10.1056/NEJMon043418.

Schmidt C M, Orr H T. 1993. Maternal Fetal Interactions: The Rol of The MHC Class 1 Molcule HLA-G, *Critical Rewievs in Immunology*, 13, 207-224.

Schwartz, B.D. 1987. The Human Major Histocompatibility Complex, p. 50-64. In: D.P. Sites, J.D. Stobo, H.H. Fudenberg and J.V. Wells (eds.), *Basic and Clinical Immunology*, 6 th Edition. Appleton and Lange. USA.

Shankarkumar U. 2004 The Human Leukocyte Antigen (HLA) System. *International Journal of Human Genetics.* 4(2), 91–103. doi:10.1080/09723757.2004.11885875.

Sheldon, S. and Poulton, K. (Eds.). 2006. *Transplantation Immunology: Methods and Protocols*, Humana Press Inc., 157-174.

Sheshgiri R., Rouas-Freiss N., Rao V., Butany J., Ramzy D., Krawice-Radanne I., Ross H J, Carosella ED, Delgado D H. 2008 May. Myocardial HLA-G reliably indicates a low risk of acute cellular rejection in heart transplant recipients, *J. Heart Lung Transplant.* 27(5):522-7. doi: 10.1016/j.healun.2008.02.004.

Shiina T, Inoko H, Kulski J K. 2004 Dec. An Update of the HLA Genomic Region, Locus Information and Disease Associations. *Tissue Antigens.* 64(6):631-49. doi: 10.1111/j.1399-0039.2004.00327.x

Shoskes D A, Halloran P F. 1996 Jun. Delayed Graft Function in Renal Transplantation: Etiology, Management and Long-Term Significance. *J Urol.* 155(6):1831-40. doi: 10.1016/s0022-5347(01)66023-3.

Shrestha A, Shrestha AN, Basarab-Horwath C, McKane W, Shrestha B, Raftery A. 2010 Jun. Quality of life following live donor renal transplantation: A single centre experience. *Annals of transplantation* 15: 5-10.

Shrestha B M. 2014 Marc. Immunology for Renal Transplantation: A Review. *J Transplant Technol Res.* 4: 130. doi: 10.4172/2161-0991.1000130.

Simpson E. 1998 Mar. Minor transplantation antigens: animal models for human host- versus- graft, graft- versus- host, and graft- versus- leukemia reactions. *Transplantation* 65: 611– 6. doi: 10.1097/00007890-199803150-00002.

Sivaganesh S, J H Simon, M C Thomas, J C Chris, S-P Kourosh, C N Margaret, M Reza, M B Eleanor, Bradley J A, Pettigrew G J. 2013 Jun. Copresentation of intact and

processed MHC alloantigen by recipient dendritic cells enables delivery of linked help to alloreactive CD8 T cells by indirect-pathway CD4 T cells. *J Immunol.* 190(11):5829–5838. doi: 10.4049/jimmunol.1300458.

Snell, G. 1937. The genetic and antigenic basis of tumor transplantation. *J. Pathol. Bacteriol.* 44, 691–699.

Somasundaran M, Quiroga I. 2011 July. Principles in Transplantation: immunology. *Surgery.* 29:295-300. doi.org/10.1016/j.mpsur.2011.05.002.

Sommesea L, Paolillo R, Cacciatore F, Grimaldi V, Sabia C, Esposito A, Sorriento A, Iannone C, Rupealta N, Sarno G, Santangel M, Rosae P D, Nicoletti G, Napolitano C. 2018 Sep. HLA-G and anti-HCV in patients on the waiting list for kidney transplantation. *Advances in Medical Sciences.* <https://doi.org/10.1016/j.advms.2018.04.004>.

Souza AS, Muller NL, Marchiori E, Soares-Souza LV. 2004. Pulmonary abnormalities in ankylosing spondylitis: inspiratory and expiratory high-resolution CT findings in 17 patients. *J Thorac Imaging.* 19 (4):259-63.

Srinivas TR, Kaplan B, Meier-Kriesche HU. 2003 Dec. Mycophenolate mofetil in solid-organ transplantation. *Expert Opinion.* 4(12):2325-45. doi: 10.1517/14656566.4.12.2325.

Stegall, M. D., Chedid, M. F. and Cornell, L. D. 2012 Nov. The role of complement in antibody-mediated rejection in kidney transplantation. *Nature Reviews Nephrology,* 8(11), 670-8. doi: 10.1038/nrneph.2012.212.

Suchin E J, Langmuir P B, Palmer E, Sayegh M H, Wells A D, Turka L A. 2001 Jan. Quantifying the frequency of alloreactive T cells in vivo: new answers to an old question. *J Immunol.* 166(2):973–981. doi: 10.4049/jimmunol.166.2.973.

Suleymanlar G, Utaş C, Arinsoy T. , 2011. A population-based survey of chronic renal disease in turkey--the credit study. *Nephrol Dial Transplant* 26: 1862-71. doi: 10.1093/ndt/gfq656

Susal C, Döhler B, Sadeghi M, Ovens J, Opelz G. 2009 May. HLA antibodies and the occurrence of early adverse events in the modern era of transplantation: a collaborative transplant study report. *Transplantation.* 87(9): 2367–71.6. doi: 10.1097/TP.0b013e3181a24073.

Svendsen S.G., Hantash B.M., Zhao L., Faber C., Bzorek M., Nissen M.H., Hviid T.V.F. 2013 Jul. The expression and functional activity of membrane-bound human leukocyte

antigen-G1 are influenced by the 3'-untranslated region, *Hum. Immunol.* 74(7):818-27. doi: 10.1016/j.humimm.2013.03.003

Tait B D, Hudson F, Cantwell L, Brewin G, Holdsworth R, Bennett G, Jose M. 2009 Apr. Review Article: Luminex Technology for HLA Antibody Detection in Organ Transplantation. *Nephrology (Carlton)*. 14(2):247-54. doi: 10.1111/j.1440-1797.2008.01074.x.

Tait BD, Susal C, Gebel HM, Nickerson PW, Zachary AA et al. Consensus guidelines on the testing and clinical management issues associated with hla and non-hla antibodies in transplantation. *Transplantation* 95: 19-47. doi: 10.1097/TP.0b013e31827a19cc.

Takemoto SK, Zeevi A, Feng S, Colvin RB, Jordan S, Kobashigawa J, Kupiec-Weglinski J, Matas A, Montgomery RA, Nickerson P, Platt JL, Rabb H, Thistlethwaite R, Tyan D, Delmonico FL. 2004 Jul. National conference to assess antibody-mediated rejection in solid organ transplantation. *Am J transplant* 4:1033-1041. doi: 10.1111/j.1600-6143.2004.00500.x.

Tan Z, Randall G, Fan J, Camoretti-Mercado B, Brockman-Schneider R, Pan L, et al. 2007. Allele-specific targeting of microRNAs to HLA-G and risk of asthma. *Am J Hum Genet*;81:829-34. <https://doi.org/10.1086/521200>.

Tan Z, Shon AM, Ober C. 2005 "Evidence of balancing selection at the HLA-G promoter region." *Hum Mol Genet*;14:3619–28.

Tang IY, Meier-Kriesche HU, Kaplan B. Immunosuppressive strategies to improve outcomes of kidney transplantation. *Semin Nephrol.* 2007;27(4):377-92.

Taylor AL, Watson CJE, Bradley JA. 2005 Oct. Immunosuppressive Agents in Solid Organ Transplantation: Mechanisms of Action and Therapeutic Efficacy. *Crit Rev Oncol Hematol.* 56(1):23-46. doi: 10.1016/j.critrevonc.2005.03.012.

Terasaki P I. 2003 Jun. Humoral Theory of Transplantation. *Am J Transplant.* 3(6):665-73. doi: 10.1034/j.1600-6143.2003.00135.x.

Testi M. ve Andreani M. 2015. Luminex-Based Methods in High-Resolution HLA Typing. *Methods Mol Biol.* 1310:231-45. doi: 10.1007/978-1-4939-2690-9_19.

The MHC sequencing consortium. 1999 Oct. Complete sequence and gene map of a human major histocompatibility complex. *Nature* 401, 921–923.

Thomas L. 1998. Clinical Laboratory Diagnostics. Use and Assessment of Clinical Laboratory Results. First Edition. Marburg, Germany

Tinckam K. 2009 Apr. Histocompatibility methods. Transplantation reviews (Orlando, Fla) 23: 80-93. doi: 10.1016/j.trre.2009.01.001.

Torres MI, Luque J, Lorite P, Isla-Tejera B, Palomeque T, Aumente MD, et al. 2009. 14-Base pair polymorphism of human leukocyte antigen-G as genetic determinant in heart transplantation and cyclosporine therapy monitoring. Hum Immunol;70:830–5.

Tripathi P, Abbas A, Naik S, Agrawal S. 2004 Nov. Role of 14-bp deletion in the hla-g gene in the maintenance of pregnancy. Tissue Antigens. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2004.00308.x>

Trowsdale J. 2011. The mhc, disease and selection. Immunology letters 137: 1-8

Trowsdale, J. 1995. “Both man & bird & beast”: Comparative organization of mhc genes. Immunogenetics. 41 (1): 1-17. doi: 10.1007/bf00176673.

Tullius SG, Milford E. 2011 Apr Kidney Allocation and the Aging Immune Response. N Engl J Med. 7;364(14):1369-70. doi: 10.1056/NEJMc1103007.

Twito T., Joseph J., Mociornita A., Rao V., Ross H., Delgado D.H., 2011Jul. The 14-bp deletion in the HLA-G gene indicates a low risk for acute cellular rejection in heart transplant recipients, J. Heart Lung Transplant. 30(7):778-82. doi: 10.1016/j.healun.2011.01.726.

Uçar F, Sönmez M, Erkut N, Balcı M, Yücel B, Yılmaz M, Erduran E, Ovalı E. The Relation of HLA-A, B, DRB1 Alleles and Haplotypes in Patients with Acute Leukemia: A case control study. Arch Med Res. 2011; 42(4): 305-310.

Valenzuela, N. M., McNamara, J. T. and Reed, E. F. 2014 Feb. Antibody-mediated graft injury: complement-dependent and complement-independent mechanisms. Current Opinion in Organ Transplantation, 19(1), 33-40. doi: 10.1097/MOT.0000000000000040.

Valenzuela, N.M., Reed, E.F. 2017 Jun. Antibody-mediated rejection across solid organ transplants: manifestations, mechanisms, and therapies: a novel cell-based immunotherapy. Journal of Clinical Investigation, 127(7):2492-2504. doi: 10.1172/JCI90597.

Van den Elsen P. J. 2011 Oct. Expression regulation of major histocompatibility complex class I and class II encoding genes. Front Immunol. 2: 48. doi: 10.3389/fimmu.2011.00048.

van den Hoogen M W F, Kamburova E G, Baas M C, Steenbergen E J, Florquin S, Koenen H J P M, Joosten I, Hilbrands L B. 2015 Feb. Am J Transplant. Rituximab as

Induction Therapy After Renal Transplantation: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study of Efficacy and Safety. 15(2):407-16. doi: 10.1111/ajt.13052.

van Saase J L, van der Woude F J, Thorogood J, Hollander A A, van Es L A, Weening J J, van Bockel J H, Bruijn J A. 1995 May. The Relation Between Acute Vascular and Interstitial Renal Allograft Rejection and Subsequent Chronic Rejection. Transplantation. 15;59(9):1280-5.

Veit TD, Chies JA. 2009. Tolerance versus immune response - microRNAs as important elements in the regulation of the HLA-G gene expression. Transpl Immunol.;20(4):229-31. <https://doi.org/10.1016/j.trim.2008.11.001>

Warrens AN, Lombardi G and Lechler RI. 1994. MHC and alloreactivity Presentation and recognition of major and minor histocompatibility antigens. Department of Immunology, Royal Postgraduate Medical School, Hammersmith Hospital, London. Transplant Immunology. 2:103-107.

Webster A C, Woodroffe R C, Taylor R S, Chapman J R, and Craig J C. 2005 Oct. Tacrolimus versus ciclosporin as primary immunosuppression for kidney transplant recipients: meta-analysis and meta-regression of randomised trial data. 331(7520): 810. doi: 10.1136/bmj.38569.471007.AE

White SL, Polkinghorne KR, Atkins RC. 2010 Apr. Comparison of the prevalence and mortality risk of ckd in australia using the ckd epidemiology collaboration (ckd-epi) and modification of diet in renal disease (mdrd) study gfr estimating equations: The ausdiab (australian diabetes, obesity and lifestyle) study. Am J Kidney Dis 55: 660-70 doi: 10.1053/j.ajkd.2009.12.011..

Wiendl H., Behrens L., Maier S., Johnson M.A., Weiss E.H. ve Hohlfeld R. 2001 Apr. Muscle Fibers In Inflammatory Myopathies and Cultured Myoblasts Express The Nonclassical Major Histocompatibility Antigen HLA-G. Ann. Neurol. 48, 679–684. [https://doi.org/10.1002/1531-8249\(200010\)48:4<679::AID-ANA19>3.0.CO;2-V](https://doi.org/10.1002/1531-8249(200010)48:4<679::AID-ANA19>3.0.CO;2-V).

Woodle E S, Alloway R R, Buell J F, Wesley Alexander J, Munda R, Roy-Chaudhury P, Roy First M, Cardi M, Trofe J. 2005 Nov. Multivariate Analysis of Risk Factors for Acute Rejection in Early Corticosteroid Cessation Regimens Under Modern Immunosuppression. Am J Transplant. 5(11):2740-4. doi: 10.1111/j.1600-6143.2005.01090.x.

Xiao L, Zhou W-q, Shi B-y, Feng K, He X-y, Wei Y-x, Gao Y, Meng X-y, Xiao W. 2013 Jul HLA-G Expression in the Peripheral Blood of Live Kidney Transplant Recipients. Chin Med J (Engl). 126(14):2652-5.

Yalçın AU, Akpolat T. Kronik Böbrek Yetmezliği. Türk Nefroloji Derneği, http://www.tsn.org.tr/folders/file/kronik_bobrek_yetmezligi.pdf (01.03.2015)

Yang J, Bi L, He X, Wang Z, Qian Y, Xiao L, Shi B. 2019 May Follicular Helper T Cell Derived Exosomes Promote B Cell Proliferation and Differentiation in Antibody-Mediated Rejection After Renal Transplantation. *Biomed Res Int.* 15;2019:6387924. doi: 10.1155/2019/6387924.

Yie SM, Li LH, Xiao R, Librach CL 2008. A single base-pair mutation in the 3-untranslated region of HLA-G mRNA is associated with pre-eclampsia. *Mol Hum Reprod*;14:649–53.

Young CJ, Gaston RS. 2000 Nov Renal Transplantation in Black Americans. *N Engl J Med.* 23;343(21):1545-52. doi: 10.1056/NEJM200011233432107.

Zarkhin V, Bezchinsky M, Li L, Sarwal M M. 2011 Jul. Soluble Human Leukocyte antigen-G in Pediatric Renal Transplantation. *Transplantation.* 15;92(1):e1-2. doi: 10.1097/TP.0b013e31821d91a1.

Zarkhin V., Talisetti A., Li L., Wozniak L.J., McDiarmid S.V., Cox K., Esquivel C., Sarwal M.M. 2010 Nov. Expression of soluble HLA-G identifies favorable outcomes in liver transplant recipients, *Transplantation,* 90(9):1000-5. doi: 10.1097/TP.0b013e3181f546af.

Zhu XM, Han T, Wang XH, Li Y-h, Yang H-g, Luo Y-n, Yin G-w, Yao Y-q. 2010 Jun. Overexpression of miR-152 leads to reduced expression of human leukocyte antigen-G and increased natural killer cell mediated cytotoxicity in JEG-3 cells. *Am J Obstet Gynecol.* 202(6):592.e1-7. doi: 10.1016/j.ajog.2010.03.002.

Žilinská Z., Bandžuchová H., Chrastina M., Trebatický B., Breza Sr J., Handzušová M., Kuba D., Tírpáková J., Pavlechová M., Dedinská I., Rychlý B., Poláková K., 2015 Nov. Expression of HLA-G transcripts in graft biopsy samples of renal transplant recipients, *Transpl. Immunol.* 33(3):159-65. doi: 10.1016/j.trim.2015.10.001.

Zuzana Ž., Bandžuchová H, Chrastina M, Trebatický B, Sra J B, Handzušová M, Kubab D, Tírpáková J, Pavlechová M, Dedinská I, Rychlý B, Poláková K. 2015 Nov. Expression of HLA-G transcripts in graft biopsy samples of renal transplant recipients makalesi *Transplant Immunology.* <https://doi.org/10.1016/j.trim.2015.10.001>.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Şule	Uyruğu	T.C
Soyadı	DARBAŞ	Tel no	5417711985
Doğum tarihi	02.01.1985	e-posta	suledarbas@hotmail.com

Eğitim Bilgileri

Mezun olduğu kurum		Mezuniyet yılı
Lise	Antalya Çağlayan Lisesi	2002
Lisans	Akdeniz Üniversitesi Fen-Edb. Fak. Biyoloji	2008
Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi SABE Tıbbi Genetik	2014
Doktora	Akdeniz Üniversitesi SABE Tıbbi Genetik	-

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl-yıl)
Stajer Biyolog	Akdeniz Ün. Tıp Fakültesi İmmunoloji Flow Cytometri Laboratuvarında	2009-2010
Biyolog	Akdeniz Ün. Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik (Hemato-Onkoloji) Laboratuvarında	2013-2014
Biyolog	Akdeniz Ün. Tıp Fakültesi Organ Nakli Doku Tipleme Laboratuvarında Uzman	2014-Halen

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
ÜDS	İngilizce	67
KPDS	İngilizce	65

Proje Deneyimi

Proje Adı	Destekleyen kurum	Süre (Yıl-Yıl)
Kronik Lenfositik Lösemili Olgularda <i>MDM2</i> Onkogeninin Aktivasyonunun Belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi)	Akdeniz Ün. BAP Destekli Proje	2011-2014
Anti TNF Tedavi Alan Ankilozan Spondilit Ve Romatoid Artritli Hastalarda Serum TNF α , INF γ ve PPD Düzeyleri Arasındaki İlişki	Akdeniz Ün. BAP Destekli Uzmanlık Projesi	2013

Ailesel Amyotrofik Lateral Skleroz (ALS)' lu olgularda C9ORF72, SOD1, TARDBP, FUS ve UBQLN2 Gen Mutasyonlarının Araştırılması	TÜBİTAK	2014
---	---------	------

Yayınlar ve Bildiriler:

Şule Darbaş, Ozan Salim, Orhan Kemal Yücel, Levent Ündar, Çigdem Aydın, Sibel Berker Karaüzüm: Kronik Lenfositik Lösemili Olgularda *MDM2* Onkogeninin Aktivasyonunun Belirlenmesi 40. Ulusal Hematoloji Kongresi, Antalya 2014.

Ş.Mehtap Darbaş, **Şule Darbaş**, Münevver Kahraman, Veli Yazısız, A.Berkant Avcı, Funda Erbasan, EnderTerzioğlu: Anti-TNF α tedavisi alan hastalarda tedavi öncesi ve sonrası serum TNF α ve IFN γ değişiklikleri Akdeniz Romatoloji Sempozyumu RAED, Antalya Belek 2013

Sibel Berker Karauzum, **Sule Darbas**, Cigdem Aydin, Orhan Kemal Yucel, Bahar Akkaya, Ozan Salim: Evaluation of *MDM2* gene copy number alterations in chronic lymphocytic leukemia patients with fluorescent in situ hybridization Chromosome Reseach '10th European Cytogenetics Conference' Strasbourg, France 2015.

Sule Darbas, Cigdem Aydin, Ozan Salim, Sibel Berker Karauzum:Investigation of *MDM2* Oncogene Copy Number Alterations in Cases With Chronic Lymphocytic Leukemia. Turk J Haematol. 2018 Oct 16. doi: 10.4274/tjh.2018.0270

Vildan Çiftçi, Türker Bilgen, **Şule Darbaş**, Yunus Arıkan, Hilmi Uysal, Sibel Berker Karaüzüm: Alterations of C9orf72, SOD1, TARDBP, FUS and UBQLN2 genes with amyotrophic lateral sclerosis. ENCALS Meeting European Network to Cure ALS. 2018 June OXFORD

Darbas Sule, Ciftci Vildan, Bilgen Turker , Uysal Hilmi and Karauzum Berker Sibel: Genetic alterations of C9orf72, SOD1, TARDBP, FUS, and UBQLN2 genes in patients

with Amyotrophic Lateral Sclerosis. Cogent Medicine (2019), 6: 1582400. Vildan et al., Cogent Medicine (2019), <https://doi.org/10.1080/2331205X.2019.1582400>

Şule DARBAŞ, Sibel BERKER KARAÜZÜM, Çiğdem Aydın, Ozan SALİM: Kronik Lenfositik Lösemili Olgularda MDM2 Onkogeninin Aktivasyonunun Belirlenmesi. 3rd International Health Science and Life Congress 04-06 June 2020 Burdur/ TURKEY. Sözel Bildiri.

