

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

**( YÜKSEK LİSANS TEZİ )**

**BÖBREK NAKİLLİ HASTALARIN İMMÜN  
YANITLARINDA TH17 VE TH1 PROFİLİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**AYŞE EROL**

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

**TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
TIBBİ BİYOLOJİ PROGRAMI**

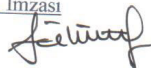




**İSTANBUL-2015**

**TEZ ONAYI****TEZ ONAYI**

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programında Ayşe EROL tarafından hazırlanan Böbrek Nakilli Hastaların İmmün Th17 ve Th1 Profilinin Değerlendirilmesi başlıklı Yüksek Lisans tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

11 / 06 / 2015

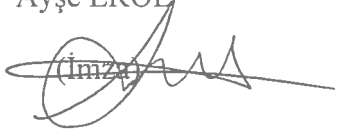
**Tez Sınav Jürisi**

<u>Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)</u>	<u>İmzası</u>
1.Prof. Dr. Fatma SAVRAN OĞUZ İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD	
2.Prof. Dr. Filiz AYDIN İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD	
3.Prof. Dr. Sacide PEHLİVAN İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD	
4.Prof. Dr. Aydın TÜRKMEN İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD Nefroloji Bilim Dalı	
5.Yard. Doç. Dr. Hilmi TOZKIR Trakya Üni. Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD	

**BEYAN**

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

Ayşe EROL

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Ayşe EROL', written over a faint circular stamp that contains the word '(İmza)'.

**ITHAF**

Biricik Aileme ithaf ediyorum.

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmamı yapabilmem için bana tüm olanakları sağlayan Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı saygıdeğer Prof. Dr. Filiz Aydın'a, çalışmam esnasında bana her konuda destek veren ve yardımlarını esirgemeyen değerli Danışmanım Prof. Dr. Fatma Savran Oğuz'a, değerli katkılarından dolayı Prof.Dr. Aydın Türkmen'e; hastaların klinik takipleri konusunda bilgilerine başvurduğum Doç. Dr. Yaşar Çalışkan, Doç.Dr. Berna Yelken, Doç.Dr.Burak Koçak ve Op.Dr.Emre Arpalı'ya; tez çalışmamın her aşamasında bana yardımcı olan sevgili Bio. Sebahat Usta Akgül'e; çalışma süresince maddi manevi desteklerini hissettiğim sevgili yüksek lisans arkadaşlarım Figen Abatay ve Demet Kıvanç'a; bilgisini cömertçe paylaşan sevgili Doç.Dr. Çiğdem Kekik Çınar'a, Tıbbi Biyoloji AD'de tez çalışmam esnasında bana destek veren tüm çalışanlara, İTF ve Şişli Memorial Sağlık Grubu Transplantasyon Ünitesi tüm hemşireleri ve personeline, tüm hayatım boyunca beni karşılıksız ve sınırsız her koşulda destekleyen, attığım her adımda yanımda olduklarını bildiğim, kardeşlerim Merve Zengin, Betül Erol ve Ömer Erol'a, eniştem Emrah Zengin'e , canım annem Saadet Erol ve canım babam Ahmet Erol'a teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 44539

## İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI .....	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER .....	VI
TABLolar LİSTESİ.....	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ .....	Xİ
ÖZET .....	Xİİİ
ABSTRACT.....	XİV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİ.....	3
2.2. SON DÖNEM BÖBREK YETMEZLİĞİ'NDE TEDAVİ SEÇENEKLERİ .....	4
2.3. BÖBREK NAKLİNDE BAŞARI .....	5
2.3.1. Kan Grubu Antijenleri .....	5
2.3.2. Doku Grubu Antijenleri (HLA) .....	5
2.3.3. Panel Reaktif Antikorlar .....	7
2.3.4. Donör Spesifik Antikorlar.....	7
2.3.5. Cross-match Testleri (CDC, FCXM) .....	7
2.4. BÖBREK ALLOGREFT REJEKSİYONU.....	8
2.4.1. Hiperakut Rejeksiyon.....	10
2.4.2. Akut Rejeksiyon.....	11
2.4.2.1. Antikor Aracılı Rejeksiyon .....	12
2.4.2.2. Hücre Aracılı Akut Rejeksiyon .....	13
2.4.3. Kronik Rejeksiyon .....	13
2.5. BÖBREK NAKİLLERİNDE KULLANILAN İMMÜNSUPRESİF TEDAVİLER 14	
2.5.1. İmmünsupresif Tedavinin Tarihçesi .....	14
2.5.2. Böbrek Naklinde İmmünsupresif Tedavinin Önemi.....	14
2.5.3. İmmünsupresif Tedavi Protokolleri .....	15

2.5.4. İmmünespresif Ajanlar .....	15
2.5.4.1. Kalsinörin inhibitörleri.....	15
2.5.4.2. Anti-Metabolitler.....	16
2.5.4.3. Kortikosteroidler .....	16
2.5.4.4. TOR inhibitörleri.....	16
2.5.4.5. Poliklonal Antikorlar.....	16
2.5.4.6. İnsanlaştırılmış (humanized) anti-CD25 monoklonal antikorlar (baziliksımab, daklizumab).....	17
2.5.5. İmmünespresif Ajanların Etki Mekanizması .....	17
2.6. İMMÜN YANIT .....	18
2.7. TRANSPLANTASYON İMMÜNOLOJİSİ .....	22
2.7.1. Transplantasyon Antijenleri.....	22
2.7.2. İmmün Yanıtların Nakledilen Dokuya Karşı Uyarılması .....	23
2.7.3. T Hücre Aktivasyonu .....	24
2.7.4. Allogreft T Hücre Taşınması .....	24
2.7.5. Efektör T Hücreler .....	25
2.7.6. Yardımcı T Hücre Altgrupları (Şekil 2-12) .....	26
2.8. SİTOKİNLER .....	27
2.8.1. Sitokinlerin Özellikleri.....	27
2.8.2. Sitokinlerin Sınıflandırılması.....	28
2.9. YARDIMCI T HÜCRE ALT GRUPLARI VE SALGILADIKLARI SİTOKİNLERİN TRANSPLANTASYONDAKİ ÖNEMİ .....	28
2.9.1. Allogreft Rejeksiyonunda ve Toleransında Th1/Th2 Paradigması.....	29
2.9.2. Allogreft Rejeksiyonunda Th17'nin Rolü .....	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	32
3.1. GEREÇLER.....	32
3.1.1. Örneklerin Toplanması .....	32
3.1.2. Örneklerin Saklanması.....	33
3.2. YÖNTEMLER.....	34
3.2.1. Lenfosit Dondurma ve Plazmanın Elde Edilip Saklanması .....	34
3.2.1.1. Gerekli Malzeme ve Cihazlar.....	34
3.2.1.2. Kullanılan Kimyasallar .....	34
3.2.1.3. Solüsyonların Hazırlanması .....	34

3.2.1.4. Test Protokolleri.....	35
3.2.2. Hücrelerin Çözülmesi ve Uyarılması.....	36
3.2.2.1. Kullanılan Cihaz, Solüsyon ve Malzemeler.....	36
3.2.2.2. Test Protokolü .....	36
3.2.3. Akan Hücre Ölçer Yöntemiyle Hücre İçi Sitokin Tayini .....	37
3.2.3.1. Akan Hücre Ölçerin Çalışma Koşulları .....	37
3.2.3.2. Kullanılan Kit ve Antikorlar .....	38
3.2.3.3. Kullanılan Cihaz, Solüsyon ve Malzemeler.....	38
3.2.3.4. Test Protokolü (Şekil 3-6) .....	39
3.2.4. ELISA Yöntemiyle Plazma IFN- $\gamma$ ve IL-17A Sitokinlerin Ölçümü.....	40
3.2.4.1. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler.....	40
3.2.4.2. Kit ve Kitin İçinden Çıkan Solüsyonlar .....	40
3.2.4.3. Solüsyonların Hazırlanması .....	41
3.2.4.4. Test Protokolü .....	42
3.2.4.5. Sonuçların Değerlendirilmesi.....	43
3.3. İSTATİKSEL ANALİZ .....	43
4. BULGULAR.....	44
4.1. Demografik Bulgular .....	44
4.1.1. Hastaların Nakil Öncesi Sensitizasyon Bulguları .....	45
4.1.2. Hastaların Nakil Öncesi Bakılan İmmünolojik Parametreleri .....	46
4.1.3. Hastaların Nakil Sonrası Takip Bulguları.....	47
4.1.4. Rejeksiyonlu Hasta Grubunun Demografik ve Sensitizasyon Bulguları .....	48
4.2. Stabil Greft Fonksiyonlu ve Rejeksiyonlu Hasta Grubu Bulgularının Karşılaştırılması .....	49
5.TARTIŞMA .....	56
KAYNAKLAR .....	61
FORMLAR .....	69
ETİK KURUL KARARI .....	72
ÖZGEÇMİŞ .....	73



## TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Kronik Böbrek Yetmezliğinin Evreleri.....	3
Tablo 2-2: Rejeksiyon Çeşitleri .....	9
Tablo 2-3: 2005 Banff sınıflamasına göre renal allogreft biyopsi değerlendirilmesi.....	10
Tablo 2-4: Edinsel İmmünite İşlevleri.....	20
Tablo 3-1: Yöntemde Kullanılan Bilimsel Veriler .....	33
Tablo 3-2: Plak Haritası.....	43
Tablo 4-1: Hasta ve Vericilere Ait Demografik Veriler .....	44
Tablo 4-2: Hastaların Nakil Öncesi Sensitizasyon Bilgileri.....	45
Tablo 4-3: Hastaların Nakil Öncesi İmmünolojik Parametreleri.....	46
Tablo 4-4: Hastaların Nakil Sonrası Durumları.....	47
Tablo 4-5: Rejeksiyon Grubunun Demografik Bilgileri.....	48
Tablo 4-6: Stabil Greft Fonksiyonlu ve Rejeksiyonlu Hasta Grubu Demografik Verilerinin Karşılaştırması.....	49
Tablo 4-7: SGF ve RH gruplarında İlaç Düzeyi, Serum Kreatinin, Hücre içi IFN-gama ve IL-17, Plazma IFN-gama ve IL-17 Sitokinlerinin Karşılaştırılması.....	50
Tablo 4-8: Hastaların Nakil Öncesi, Nakil Sonrası (7. gün, 1.ay ve 6.ay) Grupları Arasında İlaç Düzeyi ve Serum Kreatinin Düzeylerinin Değişim Bulguları.....	51
Tablo 4-9: Hücre İçi IFN-gama ve IL-17 Sitokin Seviyelerinin Gruplar Arasındaki Değişimi.....	52
Tablo 4-10: Plazma IFN-gama ve IL-17 Sitokin Seviyelerinin Gruplar Arasındaki Değişimi.....	53
Tablo 4-11: Rejeksiyonlu Hasta Grubunun Hücre İçi Sitokin Oranları .....	54

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: MHC gen bölgesi .....	6
Şekil 2-2: MHC antijen sunumu ( <a href="http://www.pinterest.com/hematologia">www.pinterest.com/hematologia</a> ).....	7
Şekil 2-3: Transplantasyonda alloimmün cevap.....	8
Şekil 2-4: Hiperakut rejeksiyon .....	11
Şekil 2-5: Akut Rejeksiyon.....	12
Şekil 2-6: Kronik Rejeksiyon .....	14
Şekil 2-7 : T Hücre Aktivasyonu ve İmmünesupresif Mekanizmaları.....	18
Şekil 2-8: Doğal ve Edinsel İmmünite Elemanları .....	19
Şekil 2-9: Lenfosit Aktivasyonu .....	22
Şekil 2-10: Direkt ve indirekt allo-tanıma mekanizması .....	24
Şekil 2-11: T Hücrenin Grefte Doğru Taşınması ve Girmesi.....	25
Şekil 2-12: Th Hücre Alt grupları.....	26
Şekil 2-13: Naif CD4+ T hücreleri ve CD4+ T hücre alt gruplarının farkı.....	29
Şekil 3-1: Örnek Toplama.....	32
Şekil 3-2: Örneklerin Saklama Koşulları.....	33
Şekil 3-3: Lenfosit izolasyonu .....	36
Şekil 3-4: Hücrelerin Çözülmesi ve Uyarılması Aşamaları.....	37
Şekil 3-5: Akan Hücre Ölçer Yöntemiyle Hücre Boyanması ve Analizi .....	38
Şekil 3-6: Akan Hücre Ölçer Yöntemi Malzemeleri .....	40
Şekil 3-7: Standartların Hazırlanması.....	42
Şekil 4-1: İlaç Düzeyi ve Serum Kreatinin Düzey Ortalamalarının Zamana Göre Değişimi.....	51
Şekil 4-2: Hücre içi IFN-gama ve IL-17 Sitokin Seviye Değişimlerinin Yüzdeleri .....	52
Şekil 4-3: Plazma IFN-gama ve IL-17 Sitokin Seviye Ortalamalarının Zamana Göre Değişimi.....	53
Şekil 4-4: RHG'da Plazma IFN-gama ve IL-17 Seviye Ortalamaları.....	55

**SEMBOLLER / KISALTMALAR LISTESİ**

SDBY	:Son Dönem Böbrek Yetmezliği
SGF	:Stabil Greft Fonksiyonlu
RHG	:Rejeksiyonlu Hasta Grubu
Th	:T yardımcı hücreler
IFN- $\gamma$	:Interferon-gama
IL	:Interlökin
TNF- $\alpha$	:Tümör Nekrozis Faktör-alfa
KBY	:Kronik Böbrek Yetmezliği
GFR	:Glomerüler Filtrasyon Hızı
TND	:Türk Nefroloji Derneği
HD	:Hemodiyaliz
PD	:Peritoneal Diyaliz
HLA	:İnsan Lökosit Antijeni
PRA	:Panel Reaktif Antikor
DSA	:Donör Spesifik Antikor
CDC	:Kompleman Bağımlı Sitotoksiste
FCXM	:Flow Sitometrik (Akan Hücre Ölçer) Cross Match
MHC	:Büyük Doku Uygunluk Kompleksi
Tc	:Sitotoksik T Hücreleri
CCL2	:C-C motif ligand 2
APC	:Antijen Sunan Hücreler
ATG	:Antitimosit Globulin
ALG	:Anti-lenfosit Globulin
CSA	:Siklosporin-A
TAC, FK	:Takrolimus
AZA	:Azatiyoprin
MMF	:Mikofenolat Mofetil
mTOR	:Rapamisin'in Memelilerdeki Hedefi
PRD	:Prednizolon
FKBP	:FK'nın takrolimus bağlayıcı protein

NF-AT	:Aktive T Hücrelerinin Nükleer Faktörü (Nuclear Factor of Aktivated T Cell)
RNA	:Ribonükleik asit
DNA	:Deoksiribonükleik asit
MPA	:Mikofenolik asit
RAPA	:Rapamisin
IVIG	:Intra venöz immünoglobulin
Ig	:Immünoglobulin
TCR	:T hücre reseptörü
NK	:Doğal Öldürücü Hücreler
Treg	:Düzenleyici T hücreleri
PTK	:Protein Tirozin Kinaz
TLR	:Toll Like Reseptör
DAMP	:Hasar İlişkili Moleküler Patern
MICA	:MHC Sınıf I ilişkili A
TIM	:T hücre immünoglobulin ve musin
LFA-1	:Lenfosit fonksiyon ilişkili antijen 1
Tfh	:Foliküler T yardımcı hücre
EDTA	:Etilendiamin Tetraasetikasit
ml	:mililitre
FBS	:Fötal Bovin Serum
HBSS	:Dengeli Tuz Çözeltisi (Hanks' Balanced Salt Solution)
PBMC	:Periferel Mononükleer Hücre
PMA	:Forbol Miristat Asetat
$\mu$ g	:mikrogram
$\mu$ l	:mikrolitre
PBS	:Fosfat tamponlu tuz (Phosphate Buffered Saline)
SPSS	:Statistical package for the social sciences
Preemptive	:Diyaliz Tedavisi Almadan

## ÖZET

EROL A. Böbrek Nakilli Hastaların İmmün Yanıtlarında Th17 ve Th1 Profilinin Değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji AD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 2015.

Böbrek nakli, son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) hastaları için hem yaşam kalitesini, hem de sağ kalımını artıran en iyi tedavi seçeneğidir. Rejeksiyon, allogreft kaybının en önemli sebebidir. Nakil öncesi ve sonrası yapılan immün yanıt değerlendirmeleri greftin takibi açısından önemlidir.

Çalışmaya, böbrek nakli olan 50 hasta dahil edildi ve hastalar 6 ay takip edildi. Bu hastalardan 6 tanesi rejeksiyonlu hasta grubu (RHG), 44 tanesi stabil greft fonksiyonluydu (SGF). Böbrek nakli olan hastaların takiplerinde nakil öncesi, nakil sonrası 7. gün, 1.ay, 6.ay ve rejeksiyon geçirdiği gün (anti-rejeksiyon tedavisi almadan) olmak üzere periferal kandan lenfosit ve plazma elde edildi. Tüm hastalardan elde edilen lenfositlerden Th17'den salınan IL-17 ve Th1'den salınan IFN- $\gamma$  seviyeleri için hücre içi sitokin tayini kiti kullanılarak akan hücre ölçer cihazıyla değerlendirildi. Ayrıca IL-17, IFN- $\gamma$  sitokinlerinin plazmada seviyeleri ELİSA yöntemiyle belirlendi.

Tüm hasta grubunda, IFN- $\gamma$  hücre içi sitokin seviyelerine göre 1. ay ve 6. ay takiplerinde SGF ve RHG karşılaştırıldığında anlamlı farklılıklar tespit edilmedi. Hücre içi IL-17 seviyeleri ise 6. aylarında, RHG'da SGF'ye göre daha yüksek bulundu.. Plazma sitokin seviyelerinde ise IFN- $\gamma$  anlamlı değişim göstermezken, RHG'da nakil öncesi IL-17 sitokin seviyesi SGF'den daha yüksek bulundu. RHG'da nakil öncesinde yüksek çıkan IL-17 seviyesi, rejeksiyon biyobelirteci olarak kullanılabilirliği desteklemektedir.

Çalışmada elde edilen veriler, ülkemiz SDBY hastalarının nakil öncesi ve sonrası dönem hakkında bilgi verici düzeydedir. Hasta sayısı artırılarak transplantasyon sonrası sitokin profilinin değerlendirilmesinin bu immün cevabı anlamaya ve rejeksiyonu engellemek adına yeni tedaviler bulmaya ışık tutabileceğini düşünmekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Böbrek Transplantasyonu, Rejeksiyon, Sitokinler, Th1 ve Th17 hücreleri, Son Dönem Böbrek Yetmezliği

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 44539

## ABSTRACT

EROL A. Evaluation of Th17 and Th1 Immune Response Profile in Renal Transplant Patients. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Medical Biology, MSc Thesis. İstanbul. 2015.

Renal transplantation (tx) is the best treatment option which is grown quality of living and survival for patient with end stage renal disease (ESRD). However, rejection of the allografts remains to be the most important barrier for a successful transplantation. It is important that is known about immunologic mechanism for designing the appropriate treatment strategies.

The study population consisted of 50 renal transplant recipients and divided into two groups, 44 patients with stable graft function (SGF) and 6 patients with rejection (RHG). In this prospective study we followed renal transplant recipients along 6 month. Peripheral blood samples from patients were drawn on pre-tx day, in addition to the post-tx days 7, 28, 180 and rejection days for the analysis of the percentages IL-17 and IFN- $\gamma$  cytokines by flow cytometry and ELISA.

In the present study, we determined that the percentages of intracellular IFN- $\gamma$  were not significant in the group with RHG versus with SGF. Levels of intracellular IL-17 which are obtained at the 6<sup>th</sup> month post-tx were significantly higher in RHG than SGF. Therefore plasma levels of pre-tx IL-17 were also higher in RHG, so it may be predictive biomarker of acute rejection for renal transplantation.

Finally, the present study has an informative value about pre-tx and post-tx cytokines profile of ESRD patients. We suggest that cytokine analysis, might be a valuable to use of biomarker panel for preventing from rejection and find new treatment strategies for renal transplant patients.

**Key Words:** Kidney Transplantation, Rejection, Cytokines, Th1 and Th17 cells, End stage renal failure

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 44539

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Böbrek nakli, son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) olan hastalar için hem yaşam kalitesini hem de sağ kalımını artıran en iyi tedavi seçeneğidir (1). İmmünespresif tedaviler günümüzde böbrek allogreft sağ kalımını arttırsa da allogreft rejeksiyon nakil sonrası immün cevapların sonucu oluşan greft kaybının başlıca sebebidir (1). Greft rejeksiyonu, etkin olan hücre karakterleri ve ağırlıklı immün mekanizmalara göre; hücrenel ve hümorol olarak, reddin gerçekleşme süreleri ve klinik seyirlerine göre ise; akut, kronik ve hiperakut olarak sınıflandırılırlar. Allogreft rejeksiyon sürecindeki hücrenel ve immünolojik mekanizmaların bilinmesi ve transplant antijenlerine karşı oluşacak spesifik immün cevabın azaltılması, toleransın artırılması yönünde çalışmaların yapılması önemlidir (1,2).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, T hücrelerin allogreft rejeksiyonunda merkezi rol oynadığı gösterilmiştir. Özellikle CD4 T yardımcı hücreler (Th) alloimmün cevapta kritik rol oynamaktadır (2). Naif CD4 Th hücreler stimulyasyon ile Th1 ve Th2 hücrelerine farklılaşırlar. Son yıllarda yapılan çalışmalar ile bu hücrelerin yeni bir hücre soyu olan Th17 hücreleri yönünde de farklılaştığı keşfedilmiş ve inflamasyonda önemli olduğu gösterilmiştir (3). Bu farklı CD4 yardımcı hücrelerin klonları farklı biyolojik özelliklere sahiptir ve farklı sitokin salınımında rol oynarlar (4).

Sitokinler, çeşitli immün sistem hücreleri tarafından salgılanan eriyebilir proteinlerdir (5). Hücreler arası ilişkilerde hem doğal hem de edinsel immünitede immün cevabın regülyasyonunda önemlidir (6). Aynı sitokinlerin farklı etkilere ve/veya farklı sitokinlerin aynı etkilere yol açabilme özelliklerinden dolayı; sitokinlerin baskılanmalarının etkileri red cevabında farklı olabilmektedir. CD4+ Th hücrelerinden farklılaşan Th1, Th2 ve Th17 hücrelerinden salgılanan,

Th1 için Interferon-gama (IFN- $\gamma$ ), Interlökin (IL)-2, Tümör Nekrozis Faktör-alfa (TNF- $\alpha$ ),

Th2 için IL-4, IL-5, IL-6, IL-10,

Th17 için IL-17 sitokinlerin nakil öncesi ve nakil sonrası ilişkilerinin araştırılması ile elde edilen bilgiler allogreft rejeksiyon tedavisinde kullanılmaktadır (6). Th1/Th2 arasındaki denge T hücrelerinin immün cevabın yönünü belirlemede etkilidir. Birçok çalışma Th1 ve Th17 ağırlıklı immün cevabın greft reddi ile ilişkisi olduğunu, Th2 ağırlıklı cevabın ise greft toleransı ile ilişkisi olduğunu göstermiştir.

Bu çalışmalar ışığında, çalışmamızda böbrek nakli olan 50 hastanın nakil öncesi, nakil sonrası 7. gün, 1.ay ve 6.ay olmak üzere ilk 6 aylık takibinde IL-17 ve IFN- $\gamma$ 'nın hücre içi sitokin oranları ve plazma seviyeleri tespit edilmiştir. Hastaların nakil öncesi sitokin seviyesi bazal olarak kabul edilip, nakil sonrası belirlenen günlerde elde edilen sonuçlar ile hastaların nakil sonrası klinik durumları karşılaştırılmıştır. Bu sitokinlerin monitorizasyonunun akut ve kronik rejeksiyon gelişimi, allogreft ve hasta sağ kalımında biyobelirteç olarak kullanılabilirliği ve günümüzde nakil olması mümkün gözükmeyen yüksek rejeksiyon riski altındaki bireylerin de transplantasyon ile tedavi olma başarısının araştırılması amaçlandı.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİ

Kronik böbrek yetmezliği (KBY) glomerüler filtrasyon değerinde azalmanın sonucu böbreğin sıvı-solüt dengesini ayarlama ve metabolik-endokrin fonksiyonlarında kronik ve ilerleyici bozulma hali olarak tanımlanır. Kronik böbrek hastalığı, hesaplanan glomerüler filtrasyon hızı (GFR) değerine göre sınıflandırılmıştır (5,7). KBY hastalarında sıklık ve şiddetin en doğru şekilde değerlendirilmesi ve sonrasında daha etkili tedavi seçeneğinin sunulabilmesi için GFR değerleri baz alınarak sınıflandırma yapılmıştır (8). Bu sınıflandırmaya göre KBY’de SDBY diye adlandırılan en şiddetli evrede GFR dakikada 15 ml’den azdır (Tablo 2.1). Kronik böbrek hastalığının ilerlemesi ile SDBY gelişmektedir. Bu nedenle, SDBY popülasyonu her 10 yılda 1,5 katına çıkmaktadır. Ülkemizde Türk Nefroloji Derneği (TND) verilerine göre son 10 yılda SDBY insidansında iki kat, prevalansında beş kat artış gözlenmiştir. SDBY olan hastalar hayatlarını renal replasman tedavileri (diyaliz veya transplantasyon) ile sürdürürler. SDBY’nin nedenleri arasında yetişkinlerde ilk sırada diabetes mellitus ve hipertansiyon, çocuklarda ise veziköüreteral reflü hastalığı ve primer glomerüler hastalıklar yer almaktadır. TND’nin yakın zamanda yaptığı CREDIT çalışması sonuçlarına göre ülkemizde KBY sıklığı 18 yaş üstü popülasyonda %15.7 olup, SDBY’nin toplumdaki sıklığı 1/666’dır (9,10).

**Tablo 2-1: Kronik Böbrek Yetmezliğinin Evreleri**

Evre	Tanım	GFR (ml/dk/1.73 m <sup>2</sup> )
1	Böbrek Hasarı	≥90
2	Hafif GFR azalması	60-89
3	Orta düzeyde GFR azalması	30-59
4	Şiddetli GFR azalması	15-29
5	SDBY	<15

## 2.2. SON DÖNEM BÖBREK YETMEZLİĞİ'NDE TEDAVİ SEÇENEKLERİ

Son dönem böbrek yetmezliği aşamasına gelmiş hastalarda böbrek işlevini yerine getirmek için hemodiyaliz (HD), peritoneal diyaliz (PD) veya böbrek nakli gibi tedavi seçenekleri kullanılmaktadır. Aynı hasta, üç tedavi seçeneğinden de zaman içerisinde yararlanmak durumunda kalabilir (11). Ülkemizde 2011 yıl sonu itibariyle böbrek nakline ihtiyaç duyan SDBY'li hastaların prevalansı milyon nüfus başına 800'ü aştığı saptanmış ve önceki yıllara göre artış olduğu gözlenmiştir (9,12).

**Hemodiyaliz:** Yarı geçirgen bir membran aracılığı ile hastanın kanı ve uygun diyaliz solüsyonu arasında sıvı-solüt değişimini temel alan bir tedavi şeklidir (13). Bu teknik, hastadan alınan kanın yarı geçirgen bir zardan elektrokimyasal güç yardımıyla moleküllerin difüzyonunun sağlanması esasına dayanır. Tedavi için en yaygın teknik olarak geçmektedir (14). 2012 yıl sonu itibariyle ülkemizde hemodiyaliz tedavisi alan çocuk hastalar da dahil olmak üzere toplamda 48.900 kişi mevcuttur (12).

**Periton Diyaliz:** Hemodiyaliz tedavisine ek olarak cihaza gerek duyulmadan ayaktan diyaliz yapılması amaçlanarak geliştirilen yöntemdir. Periton boşluğundaki çözücü ve su emilimi, periton zarındaki kapiller dolaşım ve lenfatikler yardımıyla olur. Periton diyaliz, kan ve diyalizat arasındaki kimyasal ve osmotik gradiyent farkından yararlanılarak hem solüt, hem de ultrafiltrasyonla sıvı uzaklaştırılması amaçlanır (15,16). 2012 yıl sonu itibariyle ülkemizde peritoneal diyaliz tedavisi alan çocuk hastalar da dahil olmak üzere toplamda 4777 kişi mevcuttur (12).

**Böbrek Nakli:** SDBY olan hastalar için hem hayat kalitesini hem de sağ kalımını artıran en iyi tedavi seçeneğidir. Böbrek fonksiyonlarının bir kısmı değil tamamını yerine getirmesi amaçlandığından diğer renal replasman tedavilerine oranla daha çok kabul edilir olmuştur (1). Hastaların sosyal hayatlarının eskiye dönmesi, diyaliz makinesi ve onun çevresinde gerçekleşen bir hayata tahammül etme zorunluluğundan kurtulma gibi avantajlar böbrek nakli tedavisinin öne çıkan avantajlarından birkaçıdır (16). İlk defa insan üzerindeki ksenograf böbrek nakli 1906'da Jaboulay tarafından, allogreft böbrek nakli ise ilk defa 1936 yılında Voronay tarafından gerçekleştirilmiştir (5). Ülkemizde ise 1975'te canlı vericiden ilk başarılı böbrek nakli, 1978'de de ilk kez kadavradan böbrek naklini Mehmet Haberal gerçekleştirmiştir (17). Böbrek nakli canlı bir vericiden veya beyin ölümü gerçekleşmiş kadaverik organ bağışlayıcısından yapılabilir. Altı yıllık verilere göre 2012 yıl sonu

itibariyle SDBY tanısı almış 13,761 hasta nakil olmuştur. 2012 yılında toplam 2905 nakil yapılmıştır ve bu nakillerden %18,7 kadavra kaynaklı vericidir (12). Böbrek nakli en iyi tedavi seçeneği olmasının yanında nakil öncesi ve sonrası yapılan immünolojik test ve araştırmalar naklin başarısında oldukça etkilidir. Nakil öncesi alıcı-verici arasındaki immünolojik uyumun olması, nakil sonrası immüsupresif tedavilerdeki ilerlemeler, greftin rejeksiyon açısından takibi greft sağ kalım başarısını artıran parametrelerdir (1,17).

### **2.3. BÖBREK NAKLİNDE BAŞARI**

Transplantasyonda alıcı-verici arasındaki genetik ve immünolojik farklılık transplantasyonda en önemli engellerdir. Nakil başarısını sağlayabilmek için nakil öncesi bir dizi testlerin yapılması önemlidir. Bunlar;

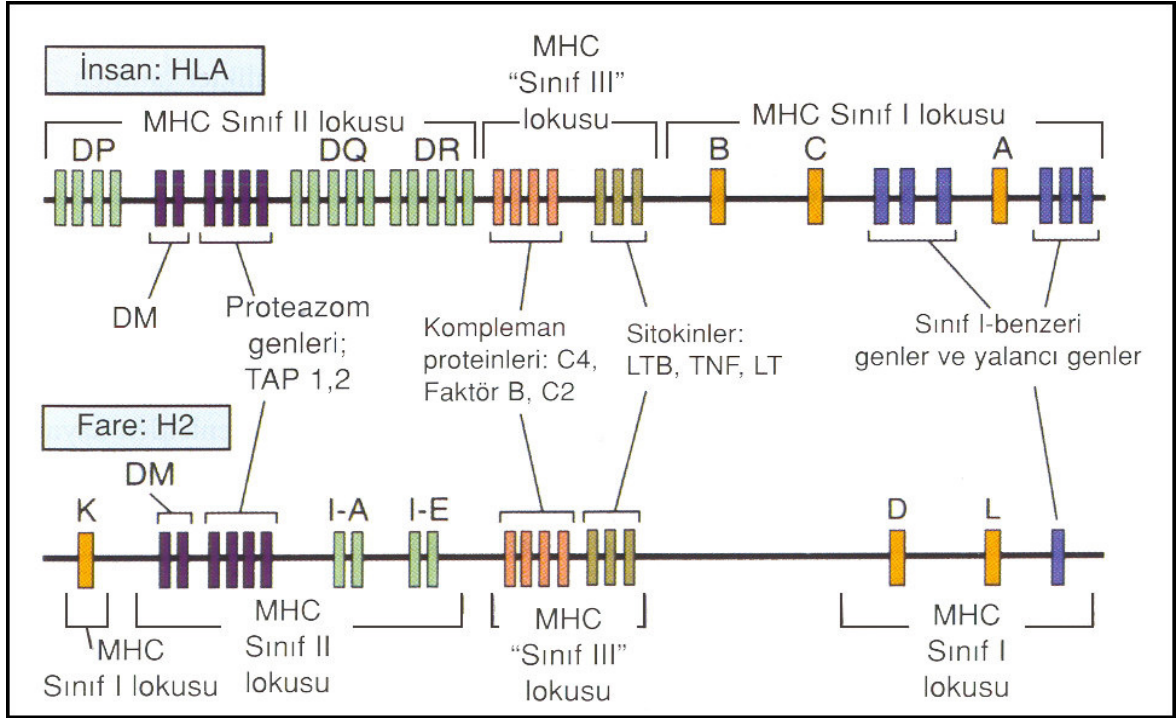
- 1) Kan Grubu Antijenleri
- 2) Doku Grubu Antijenleri (İnsan Lökosit Antijeni (HLA))
- 3) Panel Reaktif Antikor (PRA)
- 4) Donör Spesifik Antikor (DSA)
- 5) Cross-match testleri (Kompleman bağımlı sitotoksosite (CDC) ve Flow Sitometrik Cross Match (FCXM) ) (17).

#### **2.3.1. Kan Grubu Antijenleri**

ABO kan grubu antijenleri sadece eritrositler üzerinde eksprese olmaz ayrıca damar endotel hücrelerin üzerinde de eksprese olur. ABO uyumsuz nakillerde, A ve/veya B antikorlarının varlığı hemagglütinasyona neden olarak hiperakut rejeksiyon gerçekleşmesine sebep olur. Organ nakillerinde alıcı-verici arasındaki ABO uyumu kan transfüzyonlarındaki kadar önemlidir. Rh faktörü ve diğer eritrosit antijenleri ise endotelyumda eksprese olmadığından ABO uyumu kadar önemli değildir (18,19,20).

#### **2.3.2. Doku Grubu Antijenleri (HLA)**

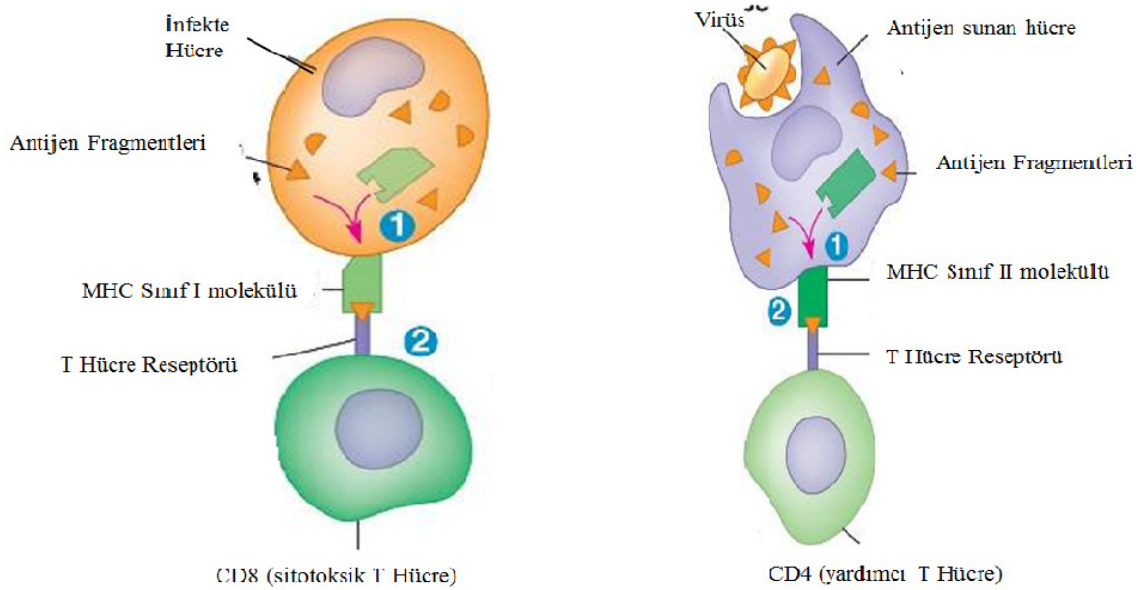
Büyük doku uygunluk kompleksi (MHC) genleri, transplant antijenlerini kodlar. İnsanda, bu MHC molekülü HLA adını alır ve 6. Kromozomun kısa kolunda lokalizedir (Şekil 2-1) (18).



**Şekil 2-1: MHC gen bölgesi**

MHC molekülleri Sınıf I ve Sınıf II moleküllerinden oluşur. Sınıf I molekülleri (HLA-A, B, C) tüm çekirdekli hücrelerde ifade olur ve genelde endojen kaynaklı küçük antijenlere karşı CD8+ sitotoksik T hücrelerine (Tc) sunulur. Sınıf II molekülleri, CD4+ T hücrelerine, ekstraselüler kaynaklı proteinleri (12-18 amino asitlik) sunar (Şekil 2-2) (18,19,21).

Nakillerde alıcı-verici arasındaki HLA uyumsuzluğu kronik rejeksiyon ve greft kaybının başlıca sebebidir. Özellikle böbrek naklinde HLA-A, B, DR (3 grup, 6 antijen) lokuslarının tiplendirmesi yapılır (19,21). Son zamanlarda birçok Doku Tiplendirme Laboratuvarlarında HLA-Cw, DP ve DQ lokusları da nakil öncesi tiplendirilmektedir. Böbrek nakillerinde, uzun dönem greft sağ kalımı için HLA uyumu çok önemlidir. Böbrek nakli için HLA uyumunu sıralamaya koymak gerekirse en önemli dokunun HLA-DR daha sonra HLA-B ve son olarak HLA-A şeklinde olduğu gösterilmiştir (18,22).



**Şekil 2-2: MHC antijen sunumu** ([www.pinterest.com/hematologia](http://www.pinterest.com/hematologia))

### 2.3.3. Panel Reaktif Antikorlar

Panel Reaktif Antikorlar; gebelik, kan transfüzyonu ve geçirilmiş nakillerle oluşan vericinin antijenlerine karşı alıcıda olmuş antikorlara verilen genel addır. Sensitizasyon gelişmesi olarak tanımlanan PRA'nın oranının belirlenmesi böbrek transplantasyonunda nakil öncesi bakılması gereken önemli bir parametredir. Nakil olacak hastanın yüksek oranda PRA'ya sahip olması, böbrek nakli şansını düşüren ve hastanın uzun süre böbrek bekleme listesinde kalmasına sebep olan bir durumdur (19,23).

### 2.3.4. Donör Spesifik Antikorlar

Donör Spesifik Antikorlar; alıcının serumunda vericinin antijenlerine karşı daha önceden oluşmuş anti-HLA antikorların varlığını gösterir. Nakil öncesinde daha önceden oluşmuş DSA'nın saptanması, antikor aracılı hiperakut rejeksiyonu öngörmek için gereklidir (18,19).

### 2.3.5. Cross-match Testleri (CDC, FCXM)

Cross-match, DSA belirlemek için kullanılan en temel immünolojik testtir. Vericinin lenfositleriyle alıcının serumu arasında bir reaksiyon olup oluşmadığının gözlemlendiği ve naklin başarısını artıran en önemli parametredir. Cross-match testi, CDC ve FCXM olarak iki farklı yöntemle yapılmaktadır (24). FCXM, CDC'ye göre daha

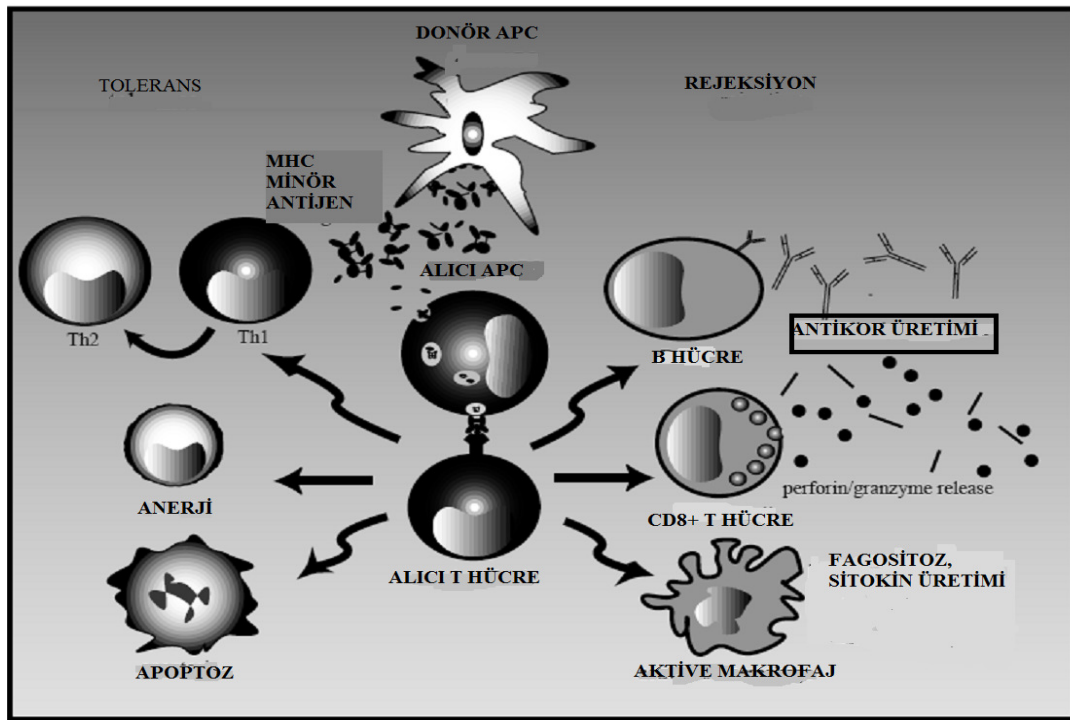
hassas bulgular elde edilen bir testtir (16). T ve B lenfositlerin ayrılarak sınıf I ve sınıf II anti-HLA antikorlarının belirlenmesinde kullanılan FCXM testinin değerlendirilmesi, nakil sonrası rejeksiyon riskini azaltmaktadır (16,18).

Bu parametrelerdeki gelişmeler günümüzde böbrek allogreft sağ kalımını arttırsa da, allogreft rejeksiyonu nakil sonrası immün yanıtların bir sonucu olarak oluşur. Greft rejeksiyonu, etkili olan hücre tipleri ve ağırlıklı immün mekanizmalara göre; hücresel ve humoral rejeksiyon, reddin gerçekleşme süresi ve klinik seyirine göre ise; akut, kronik ve hiperakut rejeksiyon olarak sınıflandırılırlar (1,2,16).

Günümüzde nakil öncesi yapılan ve naklin başarısını öngörebilen immünojenik testler sayesinde nakilden sonraki dakikalar veya saatler içerisinde ortaya çıkan hiperakut rejeksiyonun görülme oranı azalmış olsa da, akut ve kronik rejeksiyon allogreft nakillerin önünde aşılması gereken önemli bir engel olarak durmaktadır.

#### 2.4. BÖBREK ALLOGREFT REJEKSİYONU

Alıcı-verici hücre ve dokularındaki genetik farklılıklar, alıcının alloantijenlerine karşı immün cevabın oluşmasına ve eğer bu cevap engellenemezse greftin kaybedilmesine neden olur (Şekil 2-3). Bu nedenle rejeksiyon, transplantasyon sonrası greft sağ kalımı için aşılması gereken en büyük engeldir (25).



Şekil 2-3: Transplantasyonda alloimmün cevap

Rejeksiyon hiperakut, akut ve kronik olmak üzere 3 temel şekilde gözlenir (26). Rejeksiyon çeşitleri ve dahil edilen immünolojik mekanizmaları Tablo 2.2’de gösterilmiştir.

**Tablo 2-2: Rejeksiyon Çeşitleri**

Rejeksiyon Tipi	Meydana Geliş Süresi	Nedeni	Antikor Aracılı	Hücre Aracılı
Hiperakut	Dakikalar-Saatler	Daha önce oluşmuş antikor ve kompleman	+++	-
Akselere	Günler	Sensitize T hücrelerin yeniden aktivasyonu	++	+
Akut Hücresel	Günler-Haftalar	T hücrelerinin primer aktivasyonu	+	+++
Akut Vasküler			+++	+
Kronik	Aylar-Yıllar	İmmünolojik olan ve olmayan faktörler	++	+?

Nakil olmuş böbrekteki birçok yapısal durumun sınıflandırılması ve evrelendirilmesinde organize ve düzenli bir yaklaşım sergilemek amacıyla, Kanada’nın Banff şehrinde düzenlenen konferanslara göre geliştirilen Banff sınıflandırması genel hatlarıyla Tablo 2.3’de gösterilmiştir (27).

**Tablo 2-3: 2005 Banff sınıflamasına göre renal allogreft biyopsi değerlendirilmesi.**

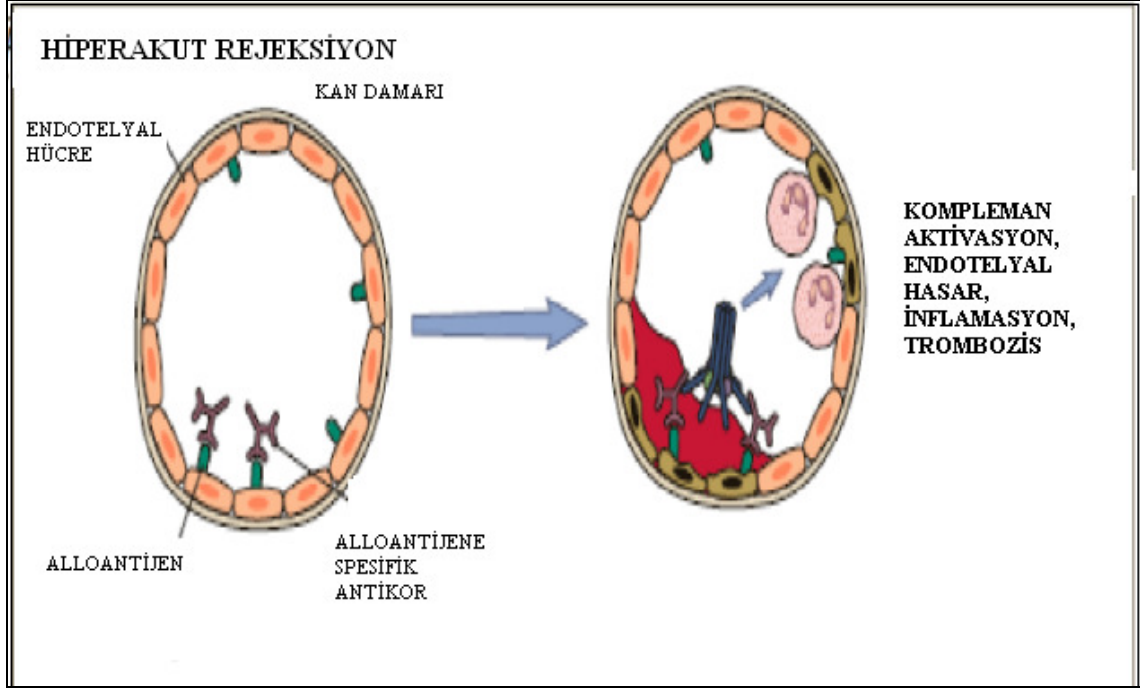
<b>1- Normal</b>
<b>2- Antikor-aracılı rejeksiyon</b> - Akut antikor-aracılı rejeksiyon Grade I: ATN benzeri C4d+, minimal inflamasyon Grade II: Kapiller zedelenme ve/veya tromboz, C4d+ Grade III: Transmural arteritis ve/veya arteriyel fibrinoid değişiklik ve damarlarda lenfositik infiltrasyonla medial düz kas nekrozu, C4d+ - Kronik aktif antikor-aracılı rejeksiyon Glomerüller double kontur ve/veya peritübüler kapiller bazal membranında tabakalanma ve/veya interstisyel fibrozis/tübüler atrofi ve/veya arterlerde fibröz intimal kalınlaşma, C4d+
<b>3- Border-line değişiklikler: Şüpheli akut T-hücreli aracılı rejeksiyon: İntimal arterit bulguları olmadan hafif tübülit</b>
<b>4- T-hücre aracılı rejeksiyon</b> - Akut T-hücre aracılı rejeksiyon Grade IA: Anlamlı interstisyel infiltrasyon (>%25 parankimal etkilenme) ve orta derecede tübülit Grade IB: Anlamlı interstisyel infiltrasyon (>%25 parankimal etkilenme) ve belirgin derecede tübülit Grade IIA: Hafif-orta intimal arterit Grade IIB: Lümen alanın >%25' ını tutan belirgin intimal arterit Grade III: Transmural arterit ve/ veya fibrinoid değişiklik ve düz kas hücrelerinde nekroz (eşlik eden lenfositik inflamasyon) - Kronik aktif T-hücre aracılı rejeksiyon Kronik allogreft arteriopati (arteriyel fibrozis, fibroziste mononükleer hücre infiltrasyonu, yeni intima formasyonu)
<b>5- Tübüler atrofi ve interstisyel fibrozis, spesifik etyoloji olmadan</b>  Grade I (hafif): Hafif derecede interstisyel fibrozis ve tübüler atrofi (kortikal alanın < %25) Grade II (orta): Orta derecede interstisyel fibrozis ve tübüler atrofi (kortikal alanın % 26-50) Grade III (şiddetli): Şiddetli derecede interstisyel fibrozis ve tübüler atrofi (kortikal alanın > %50)
<b>6- Diğerleri: Akut ve kronik rejeksiyonu düşündürmeyen bulgular.</b>

#### 2.4.1. Hiperakut Rejeksiyon

Greftin alıcıya takılması ve damarlar arasındaki klemplerin açılmasından hemen sonra veya nakil sonrası 3 gün içerisinde gerçekleşen rejeksiyon çeşididir. Glomeruler endoteli ve mikrovasküler yapı üzerinde eksprese olmuş HLA antijenlerine karşı, alıcıda oluşmuş anti-HLA antikorlarının varlığı hiperakut rejeksiyon sebebidir (Şekil 2-4). Greft içinde klasik kompleman kaskadlarının aktivasyonu ile endotelial nekrozis, platelet birikimi ve lokal koagülasyon görülür (25,28). Bu gibi durumlar için, organ



transplantasyon prosedürleri, greftin geri alınması gerektiği söylemektedir. Nakil öncesi uygulanan immünolojik testlerin geliştirilerek DSA tespiti daha iyi yapılabilirse, hiperakut rejeksiyonun engellenmesi sağlanabilir (25,29).



**Şekil 2-4: Hiperakut rejeksiyon**

#### 2.4.2. Akut Rejeksiyon

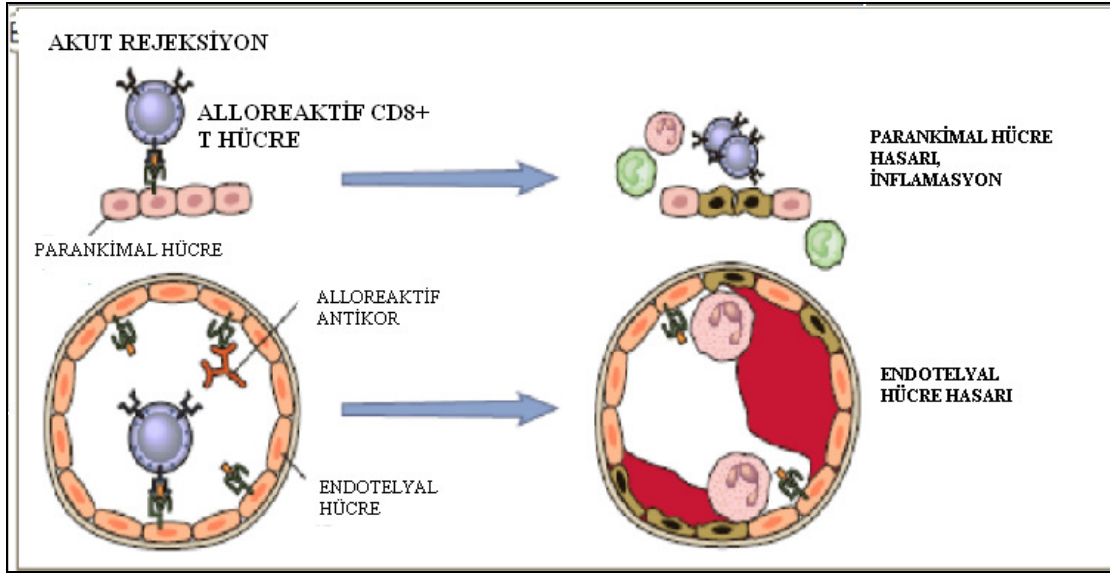
Nakil olmuş organın kan damarları ve parankiminde etkilenme ile karakterizedir.

İki ana immün yanıt akut rejeksiyona katkıda bulunur:

- Hücresel yanıt
- Hümorale yanıt

Bu iki rejeksiyonun ayırımının belirlenmesi, greft sağ kalım takibi açısından önemlidir (30).

Akut rejeksiyonların birçoğu hücre aracılı, küçük bir kısmı ise antikor aracılı rejeksiyondur. Yapılan çalışmalara göre, akut rejeksiyonun başlamasında CD4+ T hücreleri büyük önem taşıdığı, CD8+ T hücrelerin ise rejeksiyonun daha sonraki evrelerinde görev aldığı öne sürülmüştür (Şekil 2-5) (31).



**Şekil 2-5: Akut Rejeksiyon**

#### 2.4.2.1. Antikor Aracılı Rejeksiyon

Antikor aracılı rejeksiyon, transplantasyon sonrası günler içinde hatta haftalar içinde ortaya çıkar. Temel olarak inflamasyona bağlı greft zedelenmesiyle sonuçlanır (25,29). Alıcıdaki antikorların ana hedefi, vericideki peritübüler ve glomerüler kapillerin endotelyumlarının üzerinde beliren HLA antijenleridir. Aynı zamanda anjiyotensin II tip I (AT1) reseptör antikorları, kortikosteroid dirençli hipertansiyonlu alıcılarda vasküler rejeksiyondan sorumlu olsa da patolojik rolü açıklanmamıştır (25,32). Endotelyal hücre yıkımı çeşitli moleküllerin ortaya çıkmasına sebep olur. Bu moleküller, platelet agregasyonunu, sitokin ve kemokinlerin aktivitelerini ve salınmalarını başlatan von Willebrand faktör ve P-selektin molekülleridir. Sitokinlerden IL-1 $\alpha$ , IL-8 ve kemokinlerden CCL2 (C-C motif ligand 2), glomerülerde lökosit birikimiyle glomerüler hasara, peritubuler kapillerin genişlemesine ve kemoatraklardan C3a ve C5a salınımına neden olur (25,28). C4d, klasik kompleman yoluyla belirteçdir, sıklıkla peritübüler kapillerde bulunur ve antikor aracılı rejeksiyonla ilişkili kompleman aktivasyonu için belirteçtir (28). C5b, membran atak kompleksini (C5b-C9) tetikleyerek lokalize olduğu bölgede endotelyal nekrozis ve apoptoza neden olur (28).

Erken tanı, tedaviye potansiyel zarar vereceği bilinen antikorların transplantasyon öncesi tespiti, antikor aracılı rejeksiyona doğru giden greftin sağ kalımı açısından önemlidir (25,33).

#### **2.4.2.2. Hücre Aracılı Akut Rejeksiyon**

Antijen sunan hücreler tarafından alıcıdaki T lenfositlerin tanınması ve verici alloantijenlerine sunulmasıyla gerçekleşen hücre aracılı rejeksiyon, rejeksiyonun en genel formudur. Greftin içindeki olgunlaşmamış dendritik hücreler, transplant organından alıcının dokularına verici antijenlerini taşır. Alıcının antijen sunan hücreleri (APC) de grefte doğru giden bu sirkülasyona katılır. APC'ler alıcıdaki T hücrelerini aktive ederler. Aktive T hücreleri altgruplarına farklılaşarak immün atak sonucu grefte zarar verirler (25,34,35).

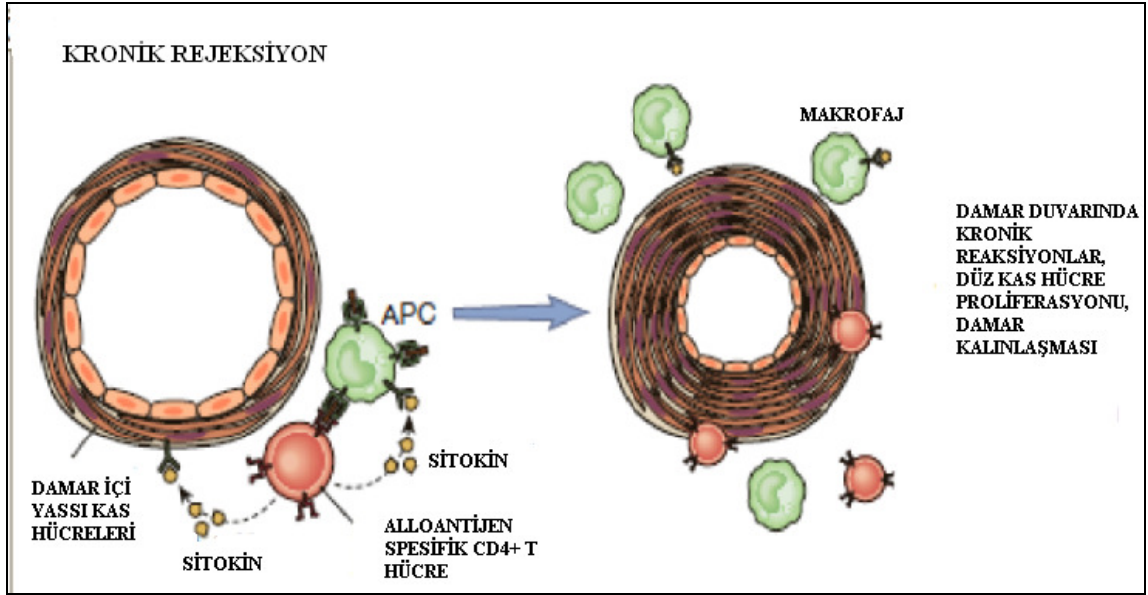
Makrofaj, dendritik ve B hücreler, yüzeyindeki HLA molekülleri ve immüoglobulinleri kullanarak antijen sunma fonksiyonu göstererek T hücre aktivasyonuna neden olurlar. Bunun dışında epitelyal ve endotelyal hücreler de antijen sunarak T hücre aktivasyonunu sağlarlar (35,36).

Hücre aracılı akut rejeksiyon tedavi edildiğinde inflamasyon mediatörlerinin infiltrasyonu hızlıca azalırken, ödem, tübüler inflamasyon ve hücre defekti bir süre daha kalabilir (30).

Subklinik rejeksiyon ise hiçbir klinik belirti göstermeksizin başarılı tedaviden sonra hücre aracılı akut rejeksiyonun morfolojik halidir (30).

#### **2.4.3. Kronik Rejeksiyon**

Kronik allogreft rejeksiyon –greftte immün hasar- rezidüel antigreft lenfosit veya antikorların kontrolü için verilen immünespresiflerin başarısızlığıyla ilgilidir. Nakil sonrası 3 aydan sonra gelişir. Greft fonksiyonunun giderek azalmasıyla tespit edilir. Arterler, tübüller, interstisyum ve glomerüllerde kronik değişiklikler ile karakterizedir (Şekil 2-6). Patogenezi karmaşıktır; tekrarlayan belirgin ya da gizli akut rejeksiyon epizodları (allojenik faktörler) ile böbrek verici ve alıcısına bağlı immünolojik olmayan etmenler bu sürece dahil olur (25,28,37).



**Şekil 2-6: Kronik Rejeksiyon**

## 2.5. BÖREK NAKİLLERİNDE KULLANILAN İMMÜNSUPRESİF TEDAVİLER

### 2.5.1. İmmünsupresif Tedavinin Tarihçesi

**1950** – İmmünsupresyon tedavi, ilk böbrek naklinin yapıldığı dönemlerde vücudun ışınlanması şeklinde uygulanıyordu.

**1960** - Azatiyoprin + prednizolon ikili tedavisi kullanıldı.

**1970** - Azatiyoprin + prednizolon tedavisine poliklonal antikor preparatları (Antitimosit globulin (ATG) ve anti-lenfosit globulin (ALG)) eklendi.

**1980** - Azatiyoprin + prednizolon + siklosporin A (CSA) üçlü tedavisi kullanılmaya başlandı.

**1985** - Akut rejeksiyonda monoklonal antikor (Muromonab-OKT3) kullanıma girdi.

**1990-1999**- CSA yerine Takrolimus (TAC, FK) ve Azatiyoprin (AZA) yerine mikofenolat mofetil (MMF) tedavi protokollerine alındı.

**1999** - Sirolimus kullanıma girdi.

**2005** - Everolimus kullanılmaya başlandı.

İmmünsupresif tedavilerdeki bu gelişmelerin başarı oranı %50'lerden %90'lara yükselmiştir.

### 2.5.2. Böbrek Naklinde İmmünsupresif Tedavinin Önemi

Doku ve organ nakillerinin başarısını, nakil yapılmış olan hastanın ve greftin sağlığını, kullanılan immünsupresif ilaçlar doğrudan etkilemektedirler (38,39).

### 2.5.3. İmmüsupresif Tedavi Protokolleri

En uygun immüsupresif tedavinin seçilmesi nakil başarısını devam ettirebilmek için önemlidir. Kullanılan ilaçlar, kalsinörin inhibitörleri, antimetabolitler, kortikosteroidler ve mTOR (rapamisin'in memelilerdeki hedefi) inhibitörleridir ve kombinasyonlu şekillerde kullanılırlar (40).

İmmüsupresif tedavi protokolleri aşağıdaki gibi özetlenebilir (41):

#### 1) İndüksiyon protokolleri

Standart indüksiyon: Kortikosteroid  
Azatiyoprin veya MMF  
CSA veya takrolimus

Antikor indüksiyonu: OKT3 ya da ATG

#### 2) İdame protokolleri: Nakil sonrası erken ve geç dönemde kullanılır.

CSA veya takrolimus  
MMF  
Prednizolon (PRD)

#### 3) Anti-rejeksiyon tedavisi

İntravenöz metilprednizolon  
OKT3  
ATG  
İnsancıllaştırılmış anti-CD25

### 2.5.4. İmmüsupresif Ajanlar

#### 2.5.4.1. Kalsinörin inhibitörleri

Takrolimus ve CsA kimyasal yapıları farklı olsa da etki mekanizmaları benzerdir. CsA'nın siklofilin, FK'nın takrolimus bağlayıcı protein (FKBP) gibi kendilerine özgü sitoplazmik reseptör proteinleri ile bileşik oluşturmasına bağlı olarak immüsupresif olarak etkileri oluşur. Oluşturdukları bileşikler, NF-AT (nuclear factor of activated T cell)'yi defosforile ederek FK'ya bağlanırlar. Kalsinörin inhibitörleri, T hücre aktivasyonunu arttıran sitokinlerin IL-2, IL-4, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  gen ekspresyonlarını inhibe eder. Sonuç olarak kalsinörin inhibisyonunun, sitokin ekspresyonu ve lenfosit farklılaşması üzerine etkileri vardır (40,43).

#### 2.5.4.2. Anti-Metabolitler

Azathioprin ve MMF, anti-metabolit immünsupresif gruba dahildir. RNA (Ribonükleik asit) sentez ve metabolizmasını tahrib eden bir pürin analogudur. AZA, hücrel DNA (Deoksiribonükleik asit) ile birleşerek pürin nükleotid sentezini engeller. AZA, gen aktivasyonunu engellemez fakat gen kopyalanmasını ve buna bağlı olarak T hücre aktivasyonunu, kemik iliğinde promiyelositlerin farklılaşmasını inhibe eder. MMF ise aktif maddesi mikofenolik asit (MPA) olan, T ve B hücre farklılaşmasını inhibe eden, antikor oluşumunu, Tc oluşumunu ve lenfositlerin vasküler endotelial hücrelere bağlanmasını engelleyen bir immünsupresiftir (40,42).

#### 2.5.4.3. Kortikosteroidler

Kortikosteroidler, T ve APC'lerden salgılanan sitokin (IL-1, IL-2, IL-3, IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) ve sitokin reseptörleri ile dendritik hücrelerin işlevlerini inhibe ederler (31,41).

#### 2.5.4.4. TOR inhibitörleri

Sirolimus-RAPA (Rapamisin), yapısal olarak FK'ya benzeyen bir makrolid antibiyotiktir. FK gibi FKBP'ye bağlanır. Sirolimus-FKBP bileşiği kalsinörin yerine TOR proteinine bağlanır. TOR'un inhibisyonu, sitokin bağımlı hücrel proliferasyonu, hücre bölünme siklusunun G1-S fazında yavaşlatmaktadır (40,41).

#### 2.5.4.5. Poliklonal Antikorlar

**Anti timosit globulin, Anti lenfosit globulin:** Poliklonal antikorların etki mekanizması tam olarak anlaşılmamakla birlikte immünsupresif ürün, bir dizi T hücre belirteciye karşı yönelmiş sitotoksik antikorlar içerir. Uygulandıktan sonra periferik kan lenfositlerinde deplesyon meydana gelir. Özellikle T lenfositler olmak üzere lenfositler lize olur ya da retikuloendotelial sistem tarafından temizlenir. Antikor lenfositlerin yüzey antijenlerini de maskeleyebilir. Timoglobulin kullanımı ile uzamış lenfopeniyle karşılaşılabilir ve CD4 alt kümesi uzun yıllar boyunca baskılanmış olarak kalabilir (40,42). Bu rejimler klinikte;

- 1) Steroide dirençli rejeksiyon tedavisinde,
- 2) Yüksek oranda sensitize veya 3 aydan daha kısa bir süre içerisinde immünolojik olarak rejekte olmuş ikinci transplantların tedavisinde,

3) Kadaverik böbrek nakillerinde siklosporinin tam doz kullanımından önce başlangıçtaki ATN esnasında dördü tedavinin bir parçası olarak kullanılırlar. Rejeksiyon ve indüksiyon tedavisi olarak tedavi 7-10 gün verilir. Erken ve geç ciddi yan etkiler oluşabilir (40,44).

**Intra venöz immünoglobulin (IVIG):** İlk olarak hümmoral immün yetmezlik hastalıklarının tedavisi için geliştirilmiş olan insan gama globulin preparatları günümüzde birçok otoimmün ve inflamatuvar hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Yüksek oranda sensitizasyona sahip hastalarda IVIG, anti-HLA'yı inhibe ederek reaktif T ve B hücrelerinin uzun süreli baskılanmasına veya elimine edilmesine sebep olur. Immünoglobulin (Ig) G sentezi için gerekli olan sitokin sinyalizasyonu inhibe edilir. Ayrıca alloimmünizasyon, T hücre reseptörünün blokajı yoluyla inhibe edilir. IVIG immüsupresan aktivitesinden ziyade immün düzenleyici etkisiyle tanınır ve kullanımında immüsupresyonun bilindik komplikasyonları yoktur (42,44).

#### **2.5.4.6. İnsanlaştırılmış (humanized) anti-CD25 monoklonal antikorlar (baziliksımab, daklizumab)**

Anti-CD25 monoklonal antikorlar, IL-2 reseptörünün  $\alpha$ -zincirine karşı hedeflenmişlerdir. Reseptörü, sadece aktive T hücrelerinin üzerinde bulunur. Antikoron reseptöre bağlanması ile IL-2 aracılı yanıtlar bloke edilir. Böylece IL-2'nin üretimini azaltan kalsinörin inhibitörlerinin etkisini artırır. Akut rejeksiyon epizodlarını tedavi etmek için değil önlemek için tasarlanmışlardır (38,43).

Baziliksımab ve daklizumab benzeyen iki bileşen olup CsA ve kortikosteroidlerle beraber kullanıldıklarında akut rejeksiyon epizodlarının insidansını azaltma kapasiteleri mevcuttur. Her iki bileşende mürin monoklonal antikorları olarak köken alırlar sonrasında ise genetik mühendisliğiyle molekülün büyük kısmı insan IgG'si ile yer değiştirir. Sonuçta ortaya çıkan bileşiklerin immünojenitesi düşüktür çünkü yüksek miktarlarda insanlarda antimürin antikor üretimini tetiklemez. Baziliksımab'ın IL-2 reseptörü için olan afinitesi daklizumabın reseptör için olan afinitesinden daha büyüktür (44).

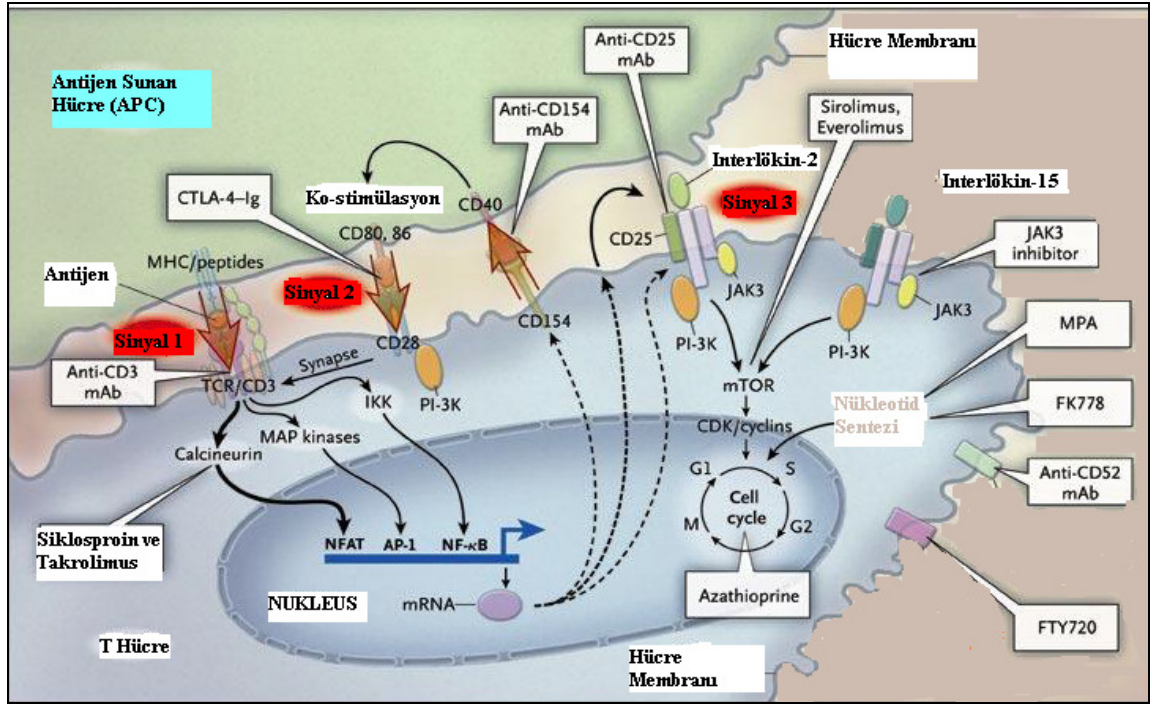
#### **2.5.5. İmmüsupresif Ajanların Etki Mekanizması**

T hücre aktivasyonu ve sonrasında hücre sel proliferasyon için gerekli 3 sinyal modelinin anlaşılması, immüsupresif ajanların etki mekanizmalarına göre ayrılmasına yardımcı olur (Şekil 2.7) (45).

**Sinyal 1:** Antijene özgüdür. Antijen sunan hücreler tarafından T hücre reseptörlerinin uyarılmasıyla oluşur ve CD3 kompleksi aracılığıyla iletilir. ATG, OKT3 ve siklosporin ile takrolimus gibi kalsinörin inhibitörleri sinyal 1'i hedefleyen ajanlardır.

**Sinyal 2:** Antijene özgü olmayan, kostimüle sinyaldir. APC üzerindeki B7 molekülü ile T hücresi üzerindeki CD28'in birleşmesi ile oluşur. CTLA-4 Ig ve CD154 bu sinyal üzerine etkili olabilecek umut verici iki ajan olup, klinik kullanımları ile ilgili çalışmalar devam etmektedir.

**Sinyal 3:** Tüm T hücre aktivasyon kaskadının hücre bölünmesine doğru ilerlemesine olanak sağlar. Eğer T hücre reseptörü (TCR) ikinci uyarı olmaksızın tetiklenirse, hücre anerjik duruma geçmektedir ki bu koşulda hücre sadece inaktif değil fakat aynı zamanda daha sonraki tüm aktive edici sinyallere de yanıtız kalır. Sinyal 3'ü hedefleyen ajanlar baziliksımab, daklizumab, sirolimus, MMF ve azatiyopridir.



Şekil 2-7 : T Hücre Aktivasyonu ve İmmünesupresif Mekanizmaları

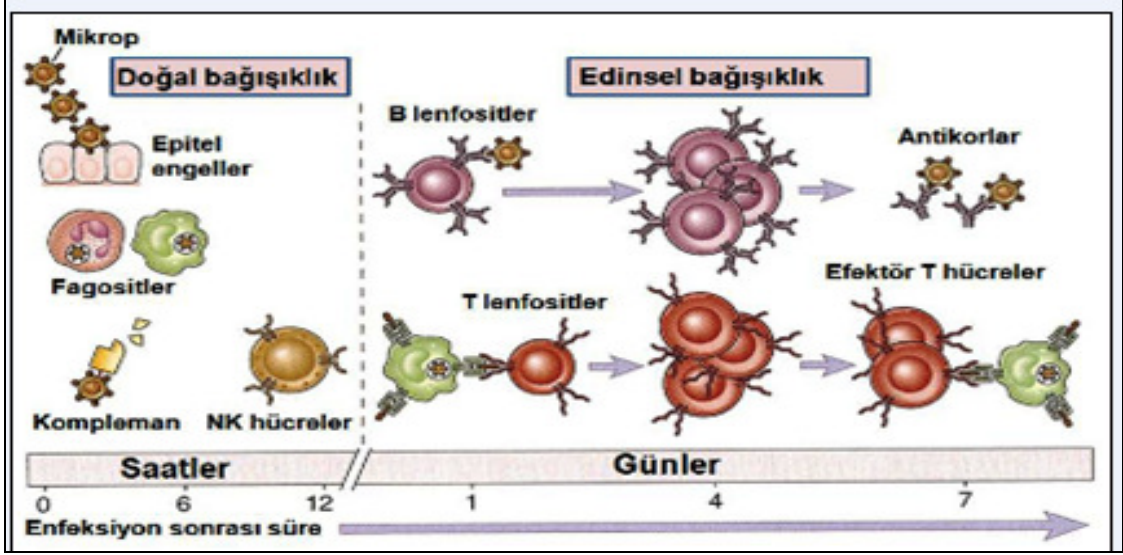
## 2.6. İMMÜN YANIT

Mikroorganizma ve yabancı antijenlere karşı savunmayı sağlayan hücreler, dokular ve moleküllerin hepsine immün sistem, bu hücre ve moleküllerin enfeksiyona



yol açan mikroorganizmalar ve yabancı antijenlere karşı düzenli olarak verdikleri tepkiye de immün yanıt adı verilir (46).

Enfeksiyonlara karşı ilk savunma mekanizması olarak doğal immün sistem hücreleri rol oynarken, daha sonra devreye edinsel immünite hücreleri girmektedir (Şekil 2-8) (46).



**Şekil 2-8: Doğal ve Edinsel İmmünite Elemanları**

Doğal immünitenin en önemli elemanları epitelyum, epitelde bulunan özelleşmiş hücreler, fagositler, doğal öldürücü hücreler (NK) ve kompleman sisteminin proteinleridir. Doğal immünitenin bütün mekanizmaları, mikroorganizmaları özgül olarak tanır ve tepki verirlerken, enfeksiyona yol açmayan yabancı maddelere tepki vermezler. Bu yanıtlar enfeksiyonlara karşı erken savunma sağlamasının yanında, edinsel immünitenin yanıtını da güçlendirirler (46).

Edinsel immün sistem, lenfositler, APC ve efektör hücrelerden oluşur. Farklı hücre ve moleküllerin oluşturduğu, hücre dışı ile hücre içi mikroplara karşı savunma yapan iki tür edinsel immünite vardır; hümorale ve hücresele immünite.

**1)Hümorale İmmünite:** Kan ve mukozal salgılarda B lenfositler tarafından üretilen antikorların aracılık ettiği immün yanıttır. Antikorlar mikrobiyal antijenleri tanırlar, mikropların enfeksiyon oluşturma özelliğini nötralize ederler ve ortadan kaldırılmak üzere çeşitli efektör mekanizmalara yönlendirirler. Hümorale immünite, hücre dışı mikroorganizma ve bunların toksinlerine karşı geliştirilen ilk savunma mekanizmasıdır. Antikorlar bu mikroorganizmalara bağlanarak, pek çok farklı efektör mekanizmayı harekete geçirebilecek özelliktedirler.

**2) Hücre aracılı immünite:** T lenfositlerin aracılık ettiği immün yanıtıdır. Virüsler ve bazı bakteriler gibi hücre içi mikroorganizmalar, fagositler ve diğer konak hücrelerin içerisinde yaşarlar. Bu sebeple dolaşımdaki antikorların bu mikroorganizmalara ulaşması imkansızdır. Bu tip enfeksiyonlara karşı savunmada T lenfositler ya fagosite edilmiş mikroorganizmaları öldürmek üzere makrofajları aktive ederler ya da Tc'ler enfekte hücreyi doğrudan öldürürler (47).

Hümmoral ve hücresele immün yanıtların ve bu yanıtta aracılık eden ürünlerin özellikleri **Tablo 2.4** 'de gösterilmiştir.

**Tablo 2-4: Edinsel İmmünite İşlevleri**

<b>ÖZELLİK</b>	<b>İŞLEVİ</b>
<b>Özgünlük</b>	Antijenlerin lenfositler tarafından spesifik olarak tanınması
<b>Çeşitlilik</b>	Farklı antijenlere yanıt verebilmesi
<b>Hafıza (Bellek)</b>	Aynı antijenle tekrar karşılaştığında daha güçlü yanıt verebilmesi
<b>Otoregülasyon</b>	Antijenik uyarıyı takiben normal immün yanıt kendi kendini sınırlaması
<b>Kendini (self'i) yabancı olandan ayırt etme</b>	Kendine ait olan antijenleri yabancılardan ayırt edebilmesi

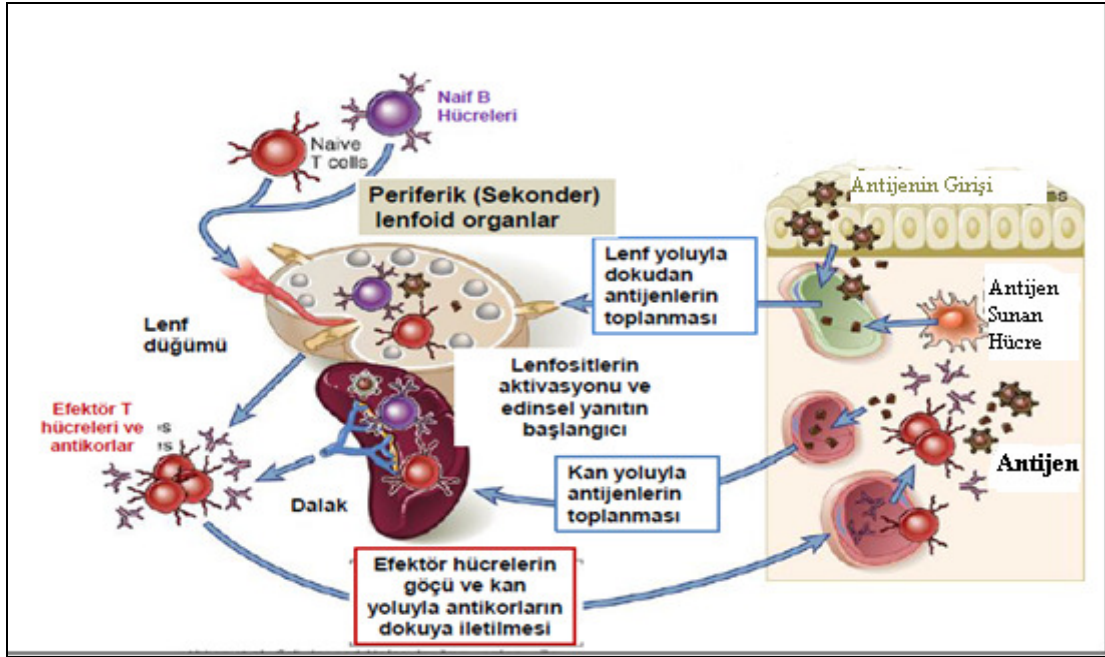
İmmün yanıt birbirini takip eden basamaklardan oluşur: antijen tanınması, lenfositlerin aktivasyonu, antijenin yok edilmesi, immün yanıtın sonlandırılması ve bellek. Her basamak lenfosit ve diğer immün sistem elemanlarının belirli reaksiyonlarını içerir (46).

Lenfositler, yüzey belirteçleri ve fonksiyonel olarak farklarından dolayı T, B ve NK'lar olarak alt gruplara ayrılmışlardır. T lenfositlerinden en iyi tanımlanmış olanlar Th ve Tc'dir. Antijenik uyarıyı takiben Th hücreleri sitokin salgırlar. Bu sitokinler, T lenfositlere ek olarak B hücreleri, makrofajlar ve diğer lökositlerin de çoğalması ve farklılaşmasını tetiklerler. Tc'ler virüslerle enfekte edilmiş olan hücreler ya da diğer hücre içi mikroorganizmalar gibi yabancı antijenleri üreten hücreleri öldürürler. Düzenleyici T hücreleri (Treg) olarak adlandırılan bazı T hücrelerinin işlevi temelde

immün yanıtları baskılamaktır. Üçüncü bir lenfosit grubu olan NK hücreleri ise, virüsler ve diğer hücre içi mikroorganizmalara karşı immün yanıtta katılırlar (46,47).

T hücreler yalnızca protein yapısındaki antijenleri (Timus veya T lenfosit bağımlı antijen) tanıyabilir.

T lenfositlerin aktivasyonu, inflamasyona yakın lenf düğümlerinde oluşur (Şekil 2-9). T hücre aktivasyonu için **ilk sinyal** MHC molekülü antijen bağlanma bölgesi ile TCR'nün (bir anahtar kilit modeli oluşturarak "MHC sınıf I veya II molekülü+antijen") etkileşmesidir. MHC molekülü ile antijenin bağlanması, T hücre reseptörü ile antijen bağlanmasına göre daha az özellikli olabilir. MHC sınıf II molekülleri ile birlikte sunulan antijenleri, CD4+ T hücreler tanırken, MHC sınıf I molekülü ile birlikte sunulan antijenler ise CD8+ T lenfositlerince tanınır. **İkinci sinyal** T hücre yüzeylerinde bulunan kostimulatör (yardımcı uyarıcı) moleküllerin (CD28), APC görevi yapan makrofaj, dendritik hücre ve B lenfosit yüzeyindeki ligandları ile (B7-1 veya B7-2) birleşmeleridir. Bu sinyal olmaz ise sadece TCR aracılı sinyal (ilk sinyal) ile T hücre aktive olamaz ve immün yanıt gerçekleşmez. Diğer bir yardımcı uyarıcı molekül ile etkileşim CD40 ligandının CD40 reseptörü ile bağlanmasıdır. Diğer taraftan T hücre yüzeyinde daima bulunan CD28 molekülü B7 ile etkileştiğinde T hücre aktivasyonu arttığında CTLA-4 ekspresyonu artar, CD28 ile yarışarak aktivasyonu sınırlı tutar ve IL-2 yapımı azalır. Böylece CTLA-4, immün yanıtta inhibitör rol oynar. **Üçüncü sinyal** antijenin TCR ile etkileşimi sonucunda hücre içine giden sinyallerle çeşitli genlerin transkripsiyonu ve sitokin sentezinin gerçekleşmesidir. Bu etkileşimi takiben PTK (protein tirozin kinaz) aktivitesi artar. Aktive olan PTK'lar hücre içi bazı molekülleri fosforile eder ve hücre içi sinyal iletimi sağlayan moleküllerin aktive olmasını sağlar. Bu işlem T yardımcı hücrenin sitokin üretimi için gereklidir. T yardımcı hücre kaynaklı sitokinlerin T hücre reseptörlerine (IL-2/IL-2R) bağlanması ile T lenfositlerde mitotik aktivite başlar ve hücre proliferer olur. APC tarafından üretilen IL-1 ve TNF- $\alpha$ , T yardımcı hücre aktivasyonunu artırır (48).



Şekil 2-9: Lenfosit Aktivasyonu

## 2.7. TRANSPLANTASYON İMMÜNOLOJİSİ

Doku naklinin gelişmesiyle birlikte, genetik olarak farklı bireylerden oluşan bir toplumda bireylerin, diğer bireylerden nakledilen dokuları reddettiği ortaya çıkmıştır. Red, nakledilen dokuda hasara neden olan enflamatuvar tepkilerin sonucudur.

Transplantasyon immünolojisindeki gelişmeler, eş-soylu fare gibi hayvan deneylerinin sonuçlarından yola çıkarak oluşmuştur. Aynı ve farklı eş soylar arasında yapılan transplantasyonlar, eş soylar arasında kabul olduğu, farklı soylar arasındakilerin ise reddedildiği görülmüştür. Daha sonra, red mekanizmasının ürünleri tüm dokularda eksprese olan genler tarafından belirlendiği gözlenmiştir (49).

### 2.7.1. Transplantasyon Antijenleri

Doku reddinde hedef olan antijenlere alloantijenler denir. Transplante doku reddinin temel hedefleri olarak iş gören allogreft antijenleri HLA tarafından kodlanan genlerdir. HLA moleküllerinin fizyolojik işlevi, T hücrelerine peptid antijenlerini tanıması için sunmaktır.

Her bireyde CD4+ T ve CD8+ T hücreleri, sadece bireyin HLA molekülleri tarafından sunulan peptidleri tanımak üzere farklılaşmıştır. Farklı peptidlere özgül öz HLA ile sınırlanmış birçok T hücresi, herhangi bir allojenik HLA molekülünü tanıyabilir. Bu allojenik HLA moleküllerinin tanınması güçlü bir T hücre reaksiyonunun ortaya çıkmasına sebep olur (49).

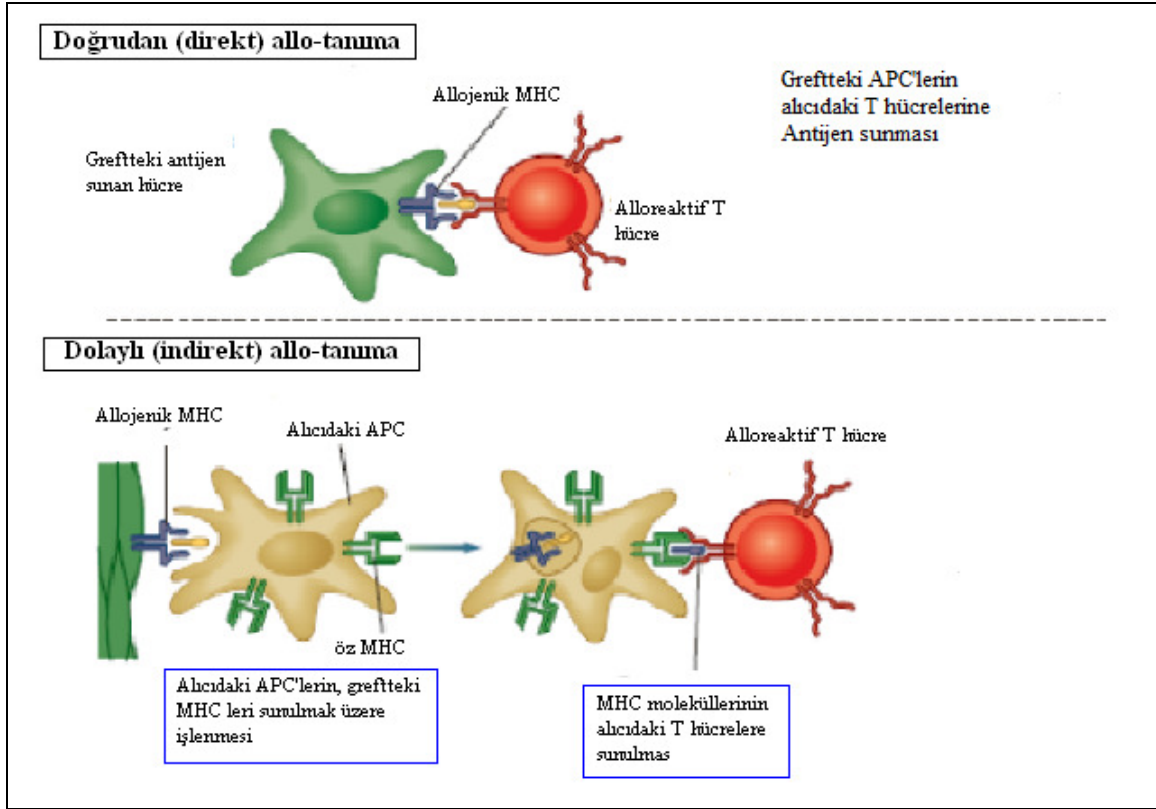
### 2.7.2. İmmün Yanıtların Nakledilen Dokuya Karşı Uyarılması

Nakledilen dokuya karşı oluşan immün yanıt yolları doğal immün yanıt aktivasyonu ile başlar. Yıllardır, transplasyon immünolojisi, edinsel immün sistemle ilişkilendirilmiştir. Buna karşın, doğal immün sistem moleküllerinin de anlaşılması, yabancı antijenlerin sebep olduğu immün cevapta edinsel immün sisteminde daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır (50,51).

İnflamasyon yolları, T lenfositlerin direkt veya indirekt aktivasyonu ve rejeksiyonu tetikleyen doğal moleküllerle aktive olur. Hasarlı dokularda, TLR (Toll Like Reseptör) ligandları; DAMP (Hasar İlişkili Moleküler Patern) ve diğer doğal immünite molekülleri ekspres olur (25,52). TLR'ler normalde patojenleri tanır fakat ayrıca yabancı doku moleküllerini de algılayabilir ve bazı faktörler üretmek dendritik hücrelerin olgunlaşması ve aktivasyonuna sebep olur. Bu hücrelerin akut rejeksiyon başlamasında önemli rolü vardır (25,53). Diğer doğal immünite elemanları ise, C3a ve C5a üreten kompleman sistemidir. Bu moleküller direkt olarak greftin içindeki T hücreleri ve APC'leri aktive eder (25,54,55).

MHC Sınıf I ilişkili A (MICA) bölgesi antijenleri endotel hücre yüzeyinde ifade olur ve bu antijenin artması, NK ve CD8 T hücrelerini aktive eder. Bu aktivasyon, HLA uyumlu transplantedelerde, MICA antijen sensitizasyonu ve kötü greft prognozuyla ilişkilidir (56).

T hücreleri, transplante olmuş dokulardaki profesyonel APC'ler tarafından sunulan, allojenik HLA moleküllerini tanır (direkt tanıma). Greftteki alloantijenler, alıcıdaki profesyonel APC'ler tarafından işlenip T hücrelerine sunulur (indirekt tanıma) (Şekil 2-10) (49,57). Alıcıdaki APC'ler aynı zamanda greftteki diğer hücrelerin membran fragmentlerini de işleyip sunabilirler. Bu fragmentler, MHC glikoprotein ilişkili peptidlerdir. Bu sunum şekli de yarı doğrudan yolak olarak geçer (58).



**Şekil 2-10: Direkt ve indirekt allo-tanıma mekanizması**

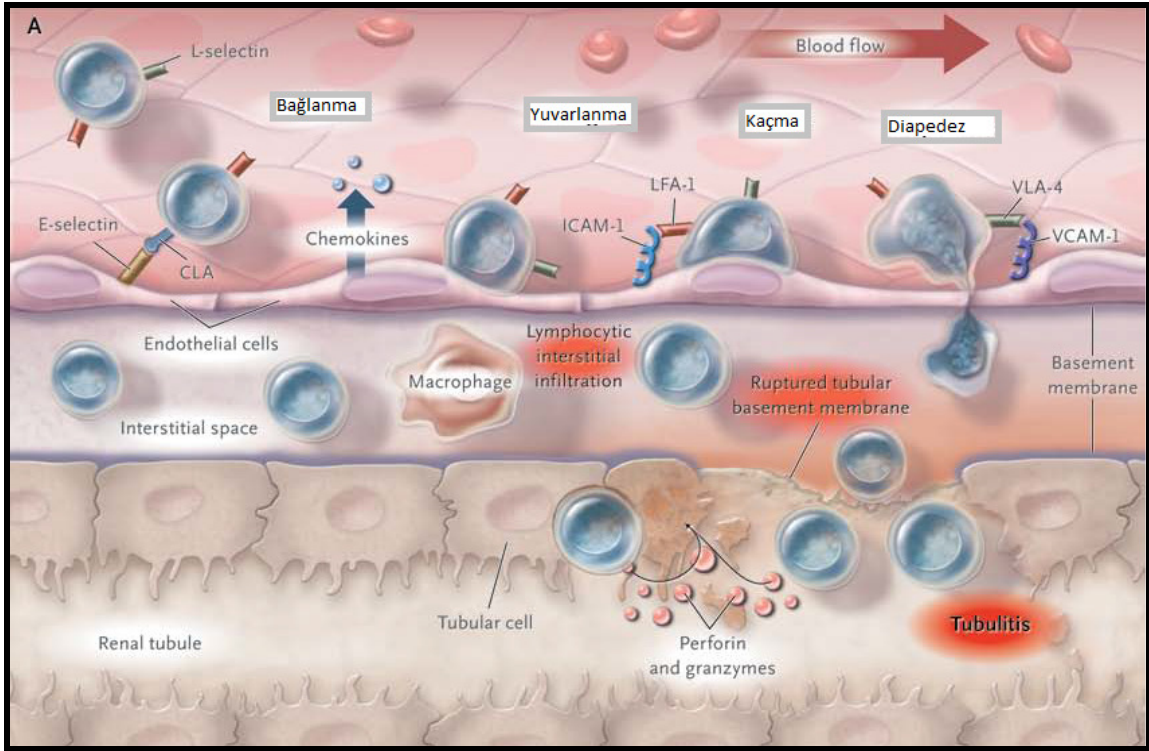
### 2.7.3. T Hücre Aktivasyonu

T hücre aktivasyonu, HLA peptid kompleksinin neden olduğu sinyaller dışındaki sinyalleri gerektirir. Bu sinyallere kostimulasyon sinyalleri denir. Bu sinyallerin yokluğunda bir antijen sunulduğunda T hücreleri etkisiz hale gelir ve sinyal bloke eden ajanlar geliştirir. Bu sinyallerin baş kaynakları APC'ler ve etrafındaki dokulardır. APC'ler tarafından sunulan kostimülatör moleküller, CD80 (B7-1) ve CD86 (B7-2); bu iki B7 molekülü T hücre membran reseptörleri olan CD28 ve CTLA-4 için ligandır. CD80 veya CD86 reseptörlerinin CD28 ile bağlanması stimülasyonu, B7 ligandlarının CTLA-4 ile bağlanması inhibisyonu başlatır. Diğer kostimülatör moleküller ise CD40, CD154 (CD40 ligandı) ve T hücre immüoglobulin ve musin (TIM) alt grupları; APC'lerdeki TIM3 ve TH1'lerdeki TIM1 ligandır (60).

### 2.7.4. Allogreft T Hücre Taşınması

T hücreleri, endotele bağlanmak, endotel boyunca yuvarlanmak ve peritübüler kılcallarında göç edip greftte girmek için adezyon molüküllerini (LFA-1 (lenfosit fonksiyon ilişkili antijen 1)) kullanırlar (Şekil 2-11) (61). Fingolimod, lenf nodlarında küçük bir moleküldür ve T hücrelerin lenf nodlarından çıkışını ve anti-LFA-1 ajanlarını

bloklayarak T hücre taşınmasını engeller. Fakat bu durum transplantasyonda çok güçlü bir etki yaratmaz (25).



**Şekil 2-11: T Hücrenin Grefte Doğru Taşınması ve Girmesi**

Dokular arasındaki mononükleer hücreler (CD4 ve CD8 T hücreler), inflamatuvar sitokinler ve kemokinler, akut hücresel rejeksiyon bölgesinde birikirler (25,62).

Akut rejeksiyonda diğer hücreler ve yolaklar da rol oynar. B hücre genleri ve CD20 ekspresyonlarının artması, hücresel rejeksiyonda ve eozinofil hücrelerinin infiltrasyonu ile seyreden glikokortikoid dirençli rejeksiyonda rol oynar. Makrofajların aktivasyonu, proinflamatuvar sitokinlerin sekresyonuna ve böylece greft fonksiyonunun azalmasına ve T hücre aracılı rejeksiyona sebep olur (62,63).

### 2.7.5. Efektör T Hücreler

T hücreler, direkt olarak tübül epitelial hücrelerle bağlantı kurarak hücre aracılı sitotoksositeye neden olurlar. Ayrıca inflamasyonu aktive ederek veya vasküler endotelial hücreler aracılığıyla da grefte indirekt olarak hasar verirler. CD8 T hücreler, hücre membranını hedef alan perforini salgılar ve kaspaz ilişkili apoptoza yol açarlar. Sitotoksik T hücrelerini aktive eden Fas reseptörünün ligandı, Fas-L (Fas ligand)'dır.

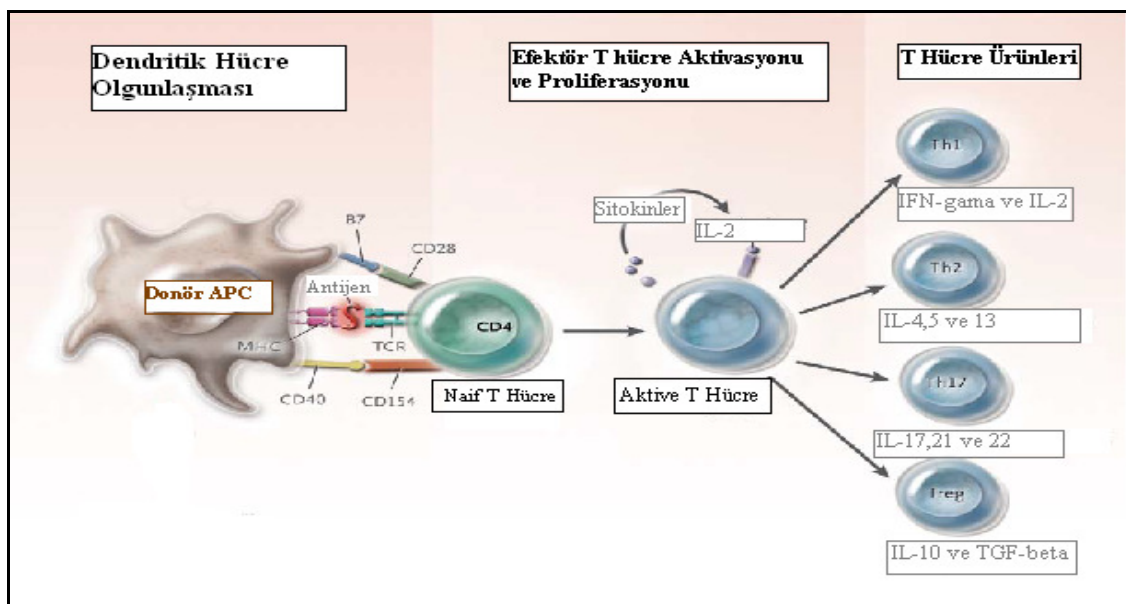
Greftin rejeksiyona doğru gitmesi, T lenfositlerinin renal tübüllere infiltre olması ve burada proliferasyona uğramasıyla gerçekleşir. Tübüler hücrelerin ve bazal membranın nekrozu, idrar sızıntısına, greft fonksiyon bozukluğuna ve ilerleyici tübüler atrofiye neden olur (62).

### 2.7.6. Yardımcı T Hücre Altgrupları (Şekil 2-12)

Yardımcı T hücre alt grupları, Th1 ve Th2 olmak üzere 2 gruba ayrılır ve her iki grup da farklı sitokin profilleri üretir. Th1 hücreleri, hücresel cevaptan sorumlu IFN- $\gamma$  ve IL-2 gibi sitokinleri üretirken Th2 hücreleri, humoral cevaptan sorumlu IL-4, IL-5 ve IL-13 gibi sitokinleri üretir. Bunlardan Th1 hücre ve sitokinleri, rejeksiyona aracılık ederken, Th2 hücre ve sitokinleri ise immün toleransta rol oynar. Buna ek olarak, Th2 hücreleri yalnız başına eozinofil hücrelerini kullanarak greft rejeksiyonuna sebep olabilir (59).

Bir diğer alt grup olan Treg hücreleri ise FoxP3 transkripsiyon genleri tarafından ifade edilir ve immün toleransta görevlidir. Treg hücreleri, hem farelerde hem de insanlarda Th ve B lenfositlerini baskılamaktadır (59,64).

Son yıllarda IL-17 üreten ve fonksiyonu Th1 ve Th2 hücresinden farklı ve üçüncü bir Th alt grubu olan Th17 keşfedilmiştir. Başlıca fonksiyonu Th1 ve Th2 tarafından tam olarak kontrol altına alınamamış patojenlerin yok edilmesine yardımcı olmaktadır. Deneysel çalışmalarda inflamatuvar ve otoimmün hastalıkların patogenezinde rolü olduğu saptanmıştır (64).



Şekil 2-12: Th Hücre Alt grupları



## 2.8. SİTOKİNLER

Sitokinler, hücreler arasındaki iletişimi sağlayan, protein yapıda olan aracı moleküllerdir. Sitokin terimi, hücre ve hormon anlamına gelen kelimelerden oluşur. İmmün sistemin hormonları gibi düşünülse de, birçok özellikleri ile endokrin hormonlardan ayrılırlar. Sitokinler, çeşitli hücrelerden salgılanırlar. Sitokinler, salgılandığı mikroçevrede etkisini gösterirken (otokrin veya parakrin etki), hormonlar gibi uzak dokularda da etki gösterirler (endokrin etki). Sitokinler immün sistem hücrelerinin gelişmesi, farklılaşması ve aktivasyonunda, antijen sunumu, adezyon moleküllerinin ekspresyonu, akut faz yanıtları gibi immün yanıtın ve inflamasyonun her safhasında, hücre ölümünde, hematopoez ve yara iyileşmesi gibi birçok biyolojik olaylarda hücreler arasındaki ilişkileri düzenleyen yüksek düzeyde spesifik çözümler proteinlerdir. Esas olarak Th hücreleri ve makrofajlar olmak üzere hem spesifik hem de doğal immün sistem hücrelerince salgılanırlar. Sitokinler antijen spesifik olmadıkları halde yapımları ve salgılanmaları antijen uyarısına bağlıdır. Genel olarak önceden yapılmış moleküller olarak depolanmazlar. Etkilerini spesifik reseptörlerine bağlanarak gösterirler. Sitokinlerin hedef hücresi, sitokini salgılayan hücrenin kendisi olabilir veya daha sıklıkla yakınındaki bir hücre olabilir. IL-1 ve TNF gibi sitokinler ayrıca salgılanmadan, üretildikleri hücrenin membranına bağlı durumda iken hedef hücredeki reseptöre bağlanarak etkilerini gösterebilirler (64,65).

### 2.8.1. Sitokinlerin Özellikleri

- Hücre büyüme, farklılaşma, aktivasyon, kemotaksi, apoptoz, fibrozis gibi etkileri vardır.
- Sitokinler, kendi kendini sınırlayarak, uyarılma ile geçici bir süre salgılanır ve etkisi kısa sürelidir. Özellikle antijen, immün kompleksler, kompleman, enzim veya diğer sitokinlerin uyarılarına cevap sırasında salınırlar.
- Sistemik dolaşımda aktif değildir ve etkilerini yüksek miktarda spesifik yüksek afiniteli reseptörlerine bağlandıkları zaman gösterirler.
- Aynı hücre farklı sitokinler salgılayabildikleri gibi, farklı sitokinlerin hücre düzeyinde etkileri aynı ya da benzer olabilir.
- Bir sitokin farklı hücreleri etkileyebilir. Farklı hedef hücrelerde çok yönlü etki oluşturmaya 'Pleiotropy' denmektedir.

- Sitokinler sinerjik etki (iki sitokinin bir hücreye toplam etkisinin, her bir sitokinin tek başına etkilerinin toplamından fazla olması) gösterebildiği gibi, antogonistik etki de (bir sitokin tarafından oluşturulan etkinin diğer bir sitokince engellenmesi veya baskılanması) gösterebilirler.
- Sadece immün sistem hücrelerine değil, tüm hücrelerde etki yapabilirler (66).

### 2.8.2. Sitokinlerin Sınıflandırılması

Birleşik bir sınıflandırmanın yokluğunda, çeşitli sitokinler sayısal sıraya göre (IL-1'den IL-37'e kadar); fonksiyonel aktivitelere göre (TNF- $\alpha$ , granülosit koloni stimüle edici faktör gibi); inflamatuvar cevaplardaki kinetik ve fonksiyonlarına göre (erken veya geç, doğal veya edinsel, proinflamatuvar veya anti-inflamatuvar), orijin aldıkları primer hücrelere göre (monosit, lenfosit gibi) sınıflandırılmışlardır.

Sitokin süper aileleri, homolojilerinde benzerlik gösterebilen karşılıklı reseptör sistemlerinde farklılıklar vardır. Bu yüzden fonksiyonel benzerlik sergilemezler. Ayrıca önemli düzenleyici hücre membran reseptör ve ligandları içerir. Evrimsel süreçte memelilerde çeşitli immün fonksiyonların ortak yapısal motifleri görülmektedir.

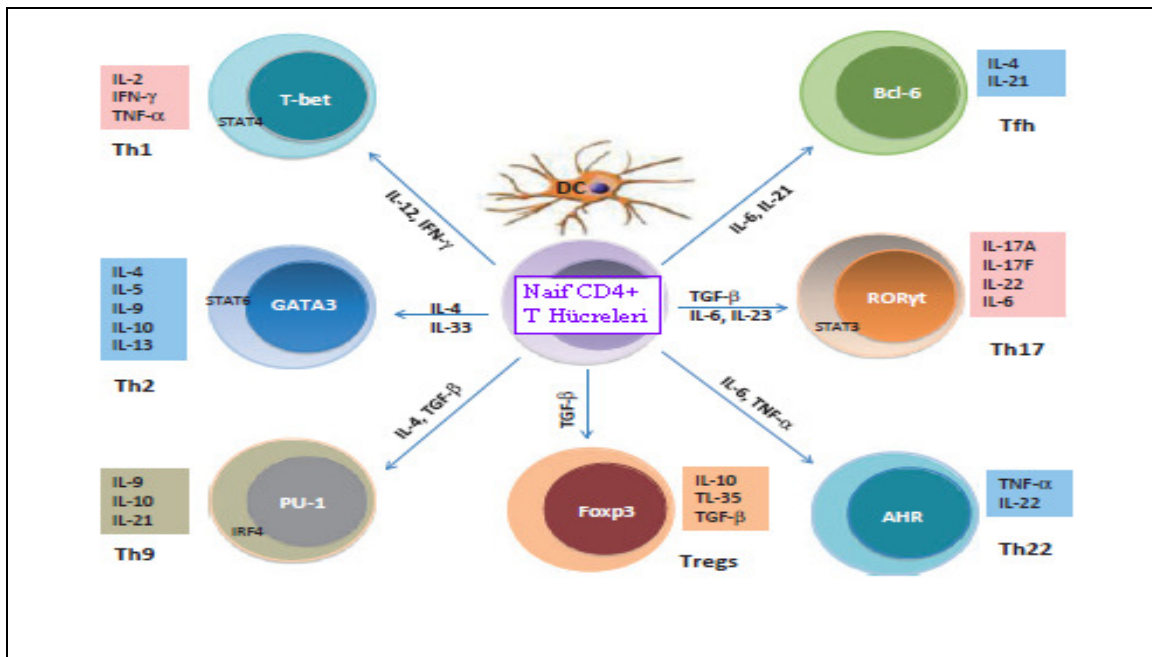
TNF/TNF reseptör süper ailesi, apoptozu başlatan FasL (CD95), B hücre ve T hücre aktivasyon aracı olan CD40L gibi hücrelerel ligandları, TNF ve lenfotoksinleri içerir. Benzer olarak IL-1/IL-1 reseptör süper ailesi, konak savunma fonksiyonu gösteren IL-37 ( $\alpha, \beta$ ), IL-36 reseptör antagonisti olan IL-18, IL-33, IL-36 ( $\alpha, \beta, \gamma$ ), sitokinlerini ve reseptörlerini içerir. Bu aile aynı zamanda doğal immün sistem cevabında rol oynayan memeli patern tanıma molekülü olan TLR'ü de içerir (67).

### 2.9. YARDIMCI T HÜCRE ALT GRUPLARI VE SALGILADIKLARI SİTOKİNLERİN TRANSPLANTASYONDAKİ ÖNEMİ

Transplantasyon sonrası, T hücre aracılı alloimmün cevap, alıcı ve vericideki antijen sunan hücrelerin, alıcıdaki CD4+ ve CD8+ T hücrelerine alloantijenleri sunmasıyla başlar. Alloantijenlerin sunulup tanınması, en büyük transplantasyon engeli olan allograft rejeksiyonun başlamasına neden olur. CD4+ T hücrelerin aktivasyonu immünsupresif ajanların kullanılmasıyla engellenebilir. İmmünsupresif ilaçlar rejeksiyonda bir engel gibi dursada, nakil olan hastada enfeksiyon hatta kansere kadar gidebilen komplikasyonlara yol açmaktadır (4,68). CD4+ T hücre alt gruplarını iyi

anlamak, allogreft rejeksiyonun öngörülmesi ve engellenmesinde etkili stratejilerin geliştirilmesini sağlayacaktır.

CD4+ T hücre alt grupları, farklı biyolojik fonksiyonları olan sitokinleri üretir (59). 1986'da Mosmann ve Coffman (69), Th1 ve Th2 adını alan, farklı fonksiyon ve sekresyona sahip iki CD4+ T hücre alt grubu tanımlamışlardır. Bu Th1/Th2 paradigması, transplantasyon ve inflamasyondaki immün cevapların ve CD4+ T hücre biyolojisinin anlaşılmasını sağlamıştır (70). Diğer bir CD4+ T hücre alt grubu, IL-17 üreten Th-17 hücreleri 2005'te Dong ve Waver tarafından tanımlanmıştır (71). Daha sonra birçok CD4+ T hücre alt grubu tanımlanmıştır ve bu hücreler, IL-9 üreten Th9 (72), IL-22 üreten Th22 (73) ve folüküler T yardımcı hücre (Tfh)'dir (Şekil 2-13) (74). Th9, Th17, Th22 ve Tfh hücreleri esas olarak otoimmün hastalıkları ve inflamasyonda rol oynamalarından dolayı Th1 ve Th2 hücrelerinden ayrılmışlardır. Aynı zamanda Th9, Th17, Th22 ve Tfh hücrelerinin allogreft rejeksiyonda önemli görevleri olduğu saptanmıştır (69-74).



Şekil 2-13: Naif CD4+ T hücreleri ve CD4+ T hücre alt gruplarının farkı

### 2.9.1. Allogreft Rejeksiyonunda ve Toleransında Th1/Th2 Paradigması

Alloreaktif CD4+ T hücreler, transplant organına karşı allojenik HLA antijenleri ile bağlantı kurar (4). Th1 hücreleri, transplant rejeksiyonunun oluşumunda birkaç mekanizmaya sahiptir. Birincisi, allojenik stimülasyon sonrası, Th1 hücreleri IL-2 üretir ve bu alloreaktif sitotoksik CD8+ T hücrelerin proliferasyonuna yol açar. Bununla

birlikte CD8+ T hücreler, Th1 cevabını güçlendiren IFN- $\gamma$  sitokinini üretir. İkincisi, alloreaktif Th1 hücreleri, alloreaktif antikor üreten B hücrelerinin aktivasyonuna ve böylece transplantasyon sonrası antikor aracılı hümmoral rejeksiyona neden olur. Üçüncüsü, alloreaktif Th1 hücreleri Fas/FasL aracılı sitotoksositeyle direkt olarak allogreft hasarına yol açar (4,68).

Klinik transplantasyonda, akut rejeksiyon boyunca CD4+ T hücre klonları izole edildiğinde IFN- $\gamma$ 'nın yüksek seviyede üretildiği gözlenmiştir. Ayrıca Th1 hücre transkripsiyon faktörleri olan T-bet ve FasL, rejeksiyonsuz hasta grubuna göre rejeksiyonlu grupta anlamlı şekilde yüksek olduğu saptanmıştır (75).

Th2 sitokinlerinden IL-4 ve IL-10, Th1 cevabını inhibe etme özelliğine sahiptir. Bunun sonucunda, Th2 hücrelerinin allogreft rejeksiyonunun gecikmesine ve hatta engellenmesine sebep olabileceği düşünülmüştür. Buna rağmen bazı çalışmalarda, IL-4 ve Th2 hücrelerinden salınan sitokinlerin greft rejeksiyonuna yol açabileceği tartışılmıştır (4,6,76).

### **2.9.2. Allogreft Rejeksiyonunda Th17'nin Rolü**

Th17'nin transplant rejeksiyonunda rol oynaması Van Kooten ve ark tarafından rapor edilmiştir (77). Birçok çalışma Th17 hücrelerinin ürettiği IL-17 ve IL-21 sitokinlerinin akut ve kronik rejeksiyon süresince salgılandığını göstermektedir. Greft dokuları arasında eksprese olan IL-17 ve IL-21'in kısa dönem greft sağ kalımıyla ilişkili olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte, alloantijene spesifik CD4+ T hücrelerin kronik böbrek hasarı olan hastalarda, yüksek seviyede IL-2, IL-17 ve IFN- $\gamma$  ürettiği gözlenmiştir (78).

Th-17 hücrelerinin yol açtığı allogreft rejeksiyonu, nötrofillerin grefte girmesiyle ilişkilendirilmiştir. Nötrofiller, allogreft rejeksiyonunda efektör hücre görevi görmektedir.

Th17 hücreleri iki farklı izoformda IL-17 üretir. Bunlardan biri allogreft rejeksiyonda daha çok rol olan IL-17A diğeri ise IL-17F'dir.

Th17 hücrelerinin naif CD4+ T hücrelerinden gelişmesi, inflamasyon boyunca APC'ler ve TGF- $\beta$  ve IL-6 gibi lokal sitokinler tarafından gerçekleşir. IL-23 ise Th17'nin olgunlaşmasını aktive eder. Birçok çalışma IL-6 ve Th17 hücre farklılaşmasının, erken dönem akut rejeksiyonda ortaya çıktığını söylemektedir (79).

Th1, Th17 ağırlıklı immün cevabın belirlenmesi, allogreft rejeksiyonla ilişkilendirilmiştir. Transplantasyon sonrası sitokin profilinin değerlendirilmesi bu immün cevabı anlamaya ve rejeksiyonu engellemek adına yeni tedaviler bulmaya ışık tutabilir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. GEREÇLER

##### Hasta Grubu

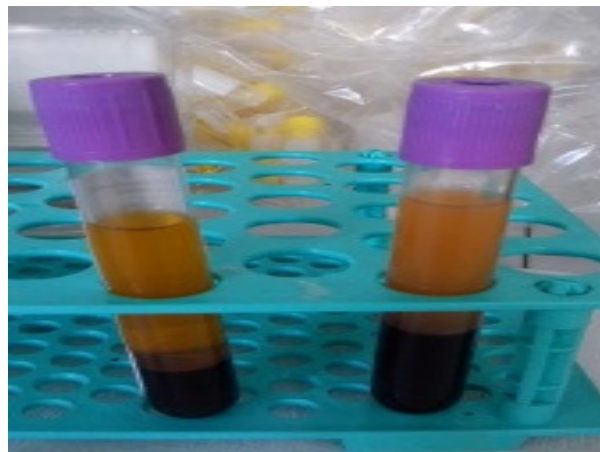
Çalışmaya Mart 2014 ve Haziran 2014 tarihleri arasında, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi ve Şişli Memorial Sağlık Grubu'nda canlı/kadavradan böbrek nakli olmuş 18-65 yaş arası 50 hasta dahil edildi. Hastalar 1 yıl süreyle takip edildi. Hasta grubu kendi içinde stabil greft fonksiyonlu (SGF, n:44), ve rejeksiyonlu hasta grubu (RHG, n:6) olarak ikiye ayrıldı.

Çalışmaya dahil olan hastalara ait demografik bilgiler; İstanbul Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı Transplantasyon Polikliniğindeki ve Şişli Memorial Sağlık Kurumu Organ Nakli Merkezindeki takip dosyalarından sağlandı.

##### 3.1.1. Örneklerin Toplanması

Hastalar; nakil öncesi, nakil sonrası (7. Gün, 1. ve 6.ay) olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Nakil öncesi hastalardan alınan kanlar immünyüpresif tedaviye başlanmadan hemen önce alındı. Her grup için hastalardan, 16cc Lityum-Heparin'li, 8cc Etilendiamin tetraasetikasit (EDTA)'lı tüpe kan alındı (Şekil 3-1).

Nakil sonrası rejeksiyon geçirmiş hastalardan ise kan örnekleri anti-rejeksiyon tedavisi başlanmadan önce 16 cc Heparinli, 8 cc EDTA'lı tüpe kan alındı.



Şekil 3-1: Örnek Toplama

Toplamda 50 nakil hastasından, 12 tanesi İstanbul Tıp Fakültesi, 38 tanesi ise Memorial Sağlık Grubu'nda nakil olmuş hastalardı. Hastaların hepsi nakil öncesi ve 7.

günlerinde eksiksiz kan verirken, 1.aylarında 1 hasta, 6.aylarında 7 hasta poliklinik takipten çıktıkları için çalışmadan çıkarıldılar (Tablo 3-1).

### 3.1.2. Örneklerin Saklanması

Akan hücre ölçer yöntemiyle hücre içi sitokin tayini için, heparinli tüpe alınan kanlardan, lenfosit izolasyonu yapılarak, ELISA yöntemiyle sitokin seviyesi ölçümü için ise EDTA'lı tüpe alınan kanlardan plazma ayrılarak -80 derecede saklandı (Şekil 3-2).



Şekil 3-2: Örneklerin Saklama Koşulları

Tablo 3-1: Yöntemde Kullanılan Bilimsel Veriler

Örnek Alınan Gün	Toplanan Hasta Sayısı	Akan Hücre Ölçer Yöntemiyle Testlenen Hasta Sayısı	Elisa Yöntemiyle Testlenen Hasta Sayısı
Nakil Öncesi	50	14	21
Nakil Sonrası 7. Gün	50	15	21
Nakil Sonrası 1. Ay	49	31	20
Nakil Sonrası 6. Ay	43	40	19
Rejeksiyon Geçirdiği Gün	6	3	6

## **3.2. YÖNTEMLER**

### **3.2.1. Lenfosit Dondurma ve Plazmanın Elde Edilip Saklanması**

#### **3.2.1.1. Gerekli Malzeme ve Cihazlar**

15 mililitre (ml) ve 50 ml falkon tüp

2 ml dondurma tüpü

1,5 ml mikrosantrifüj tüpü

Otomatik pipet (1000 µl'lik)

Otomatik pipet ucu (1000 µl'lik)

3 ml'lik plastik pastör pipeti

10 ml'lik cam pastör pipeti

Santrifüj

-80 derece derin dondurucu

Mikroskop

#### **3.2.1.2. Kullanılan Kimyasallar**

RPMI-1640

Fötal Bovin Serum (FBS)

Penisilin-Streptomisin

DMSO

Fikol

HBSS (Hanks' Balanced Salt Solution)

#### **3.2.1.3. Solüsyonların Hazırlanması**

Dondurma Çözeltisi; 20 ml RPMI-1640 (%40)

25 ml FBS (%50)

5 ml DMSO (%10)

Yıkama Solüsyonu; 500 ml RPMI-1640



25 ml FBS (%5)

6 ml Penisilin-Streptomisin 1000X

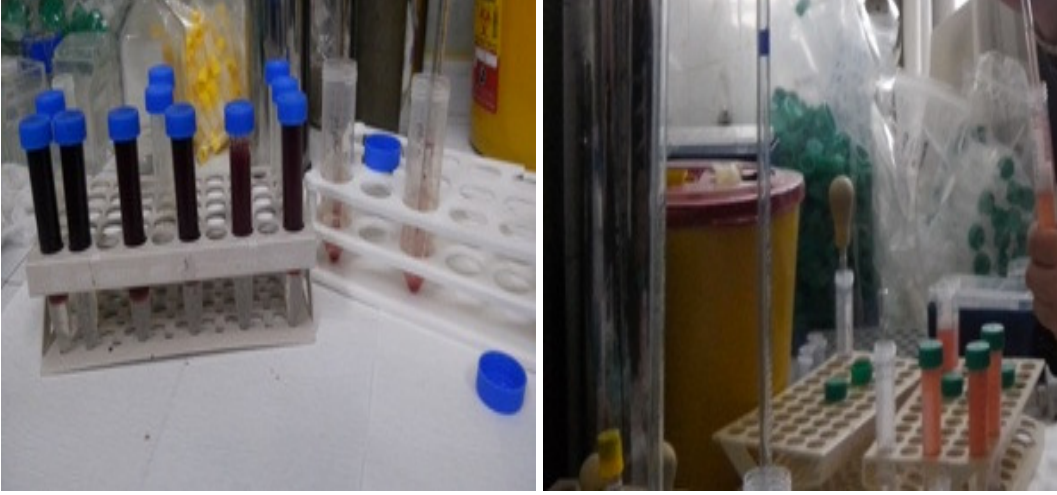
#### 3.2.1.4. Test Protokolleri

##### **Lenfosit Dondurma (Şekil 3-3);**

- 1) 50 ml falkon tüpe 2 heparinli tüpe alınmış kan ve 17 ml HBSS konuldu.
- 2) 14 ml falkon tüpe 5-6 ml fikol konuldu.
- 3) HBSS+Kan karışımı fikolün üstüne yüklendi.
- 4) 2000 rpm'de 30 dk santrifüj edildi. (Santrifüj fren ayarı kapalıyken)
- 5) Santrifüj sonrası fikolün üstüne toplanan Periferik Mononükleer Hücre (PBMC) toplanır ve 15 ml falkon tüpe aktarıldı.
- 6) 1400 rpm'de 15 dk santrifüj edilir. Santrifüj sonrası süpernatant kısmı döküldü.
- 7) Peletin üzerine 12 ml hazırlanmış olan yıkama solüsyonu konuldu.
- 8) Hücreler mikroskopta sayıldı ve ortalama 12 milyon hücre elde edildi.
- 9) Yıkama solüsyonu konulmuş tüp 1400 rpm'de 15 dk santrifüj edildi. Süpernatant döküldü, pelet tüpün dibinde kaldı.
- 10) Dondurma çözeltisinden peletin üzerine 3 ml eklendi ve karıştırıldı.
- 11) Önceden hazırlanmış 3ml'lik lenfosit dondurma çözeltisi, 3 adet dondurma tüpüne 1'er ml olacak şekilde bölündü ve -80 derecelik derin dondurucuya hızlıca kaldırıldı.

##### **Plazma Elde Edilmesi ve Saklanması;**

- 1) 8 cc'lik EDTA'lı tüpe alınmış kan 3000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi.
- 2) Üstte kalan plazma kısmı pipet yardımıyla alınıp 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine bölündü.
- 3) -80 derecelik derin dondurucuya kaldırıldı.



**Şekil 3-3: Lenfosit izolasyonu**

### **3.2.2. Hücrelerin Çözülmesi ve Uyarılması**

#### **3.2.2.1. Kullanılan Cihaz, Solüsyon ve Malzemeler**

37 derece CO<sub>2</sub> 'li ETÜV

Kültür solüsyonu; 500 ml RPMI-1640

25 ml FBS (%5)

6 ml Penisilin-Streptomisin 1000X

Forbol Miristat Asetat (PMA) 1mg (Sigma)

İonomisin (Sigma)

Golgi Plug (Beckton Dickinson, ABD)

24'lü kültür plağı

15 ml ve 50 ml falkon tüp

2 ml dondurma tüpü

Otomatik pipet (1000 µl'lik)

Otomatik pipet ucu (1000 µl'lik)

Santrifüj, Mikroskop

#### **3.2.2.2. Test Protokolü**

- 1) -80 derecede saklanan lenfositler, 37 derecelik sıcak su banyosunda çözüldü (Şekil 3-4).

- 2) Çözülen hücreler hazırlanan kültür solüsyonu eklenerek santrifüj edildi.
- 3) Hücreler mikroskofta sayıldı.
- 4) Sayılan hücrelere 1 ml kültür sıvısı eklenerek her bir kuyu için 1 milyon hücre olacak şekilde 24 kuyucuklu kültür plağına konuldu.
- 5) Sitokin stimülasyonu için PMA (5ng/ml) ve ionomisin (1 mikrogram ( $\mu\text{g}$ )/ml) her kuyuya eklendi.
- 6) Hücrelerin ışık görmesinin engellenmesi için plak alüminyum folyoyla sarılarak  $\text{CO}_2$ 'li 37 derecelik etüvde 5-6 saat inkübe edildi.
- 7) 6 saat sonunda sitokin salınımını durdurmak için 1 mikrolitre ( $\mu\text{l}$ ) GolgiPlug eklendi.



**Şekil 3-4: Hücrelerin Çözülmesi ve Uyarılması Aşamaları**

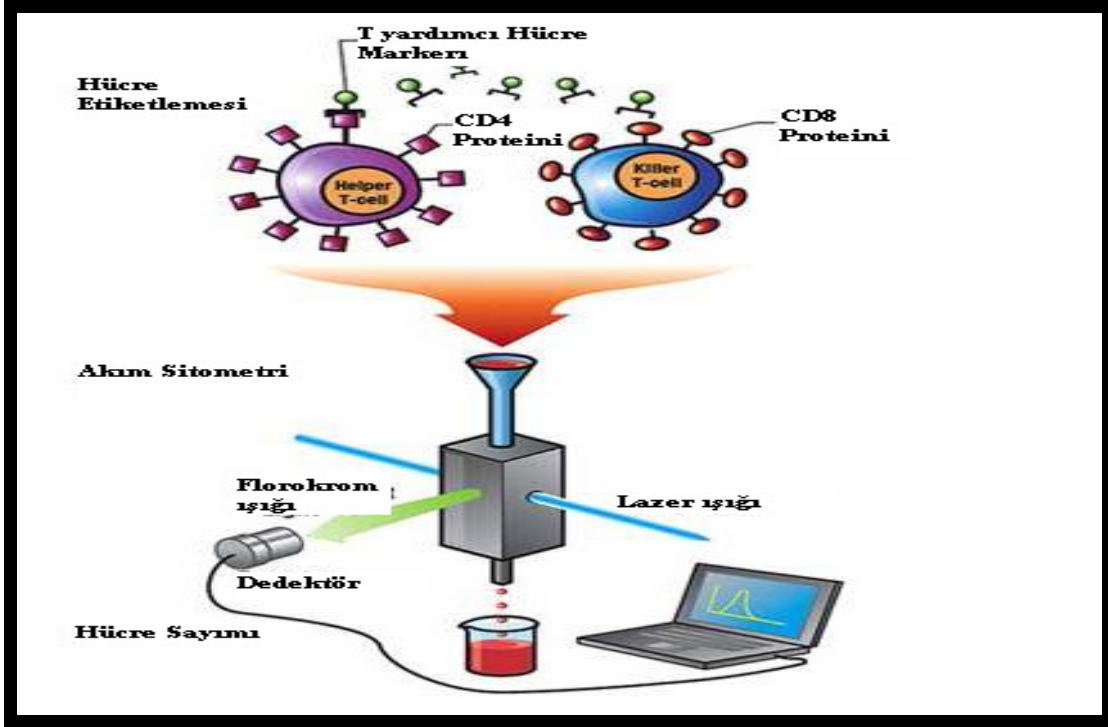
### **3.2.3. Akan Hücre Ölçer Yöntemiyle Hücre İçi Sitokin Tayini**

#### **3.2.3.1. Akan Hücre Ölçerin Çalışma Koşulları**

Akan hücre ölçer, hücre veya partiküllerin akmakta olan bir akışkanın içindeyken karakteristiklerinin ölçülmesidir. Akan hücre ölçer ile bir süspansiyon halindeki hücre ya da partiküller, lazer ışığı ile aydınlatılmakta olan bir bölmeden geçirilir; hücrelerin lazer ışığının önünden geçerken verdikleri sinyaller toplanarak analiz edilir. Oluşan sinyallerin kaynağı, hücrenin büyüklük ve granülarite gibi fiziksel özellikleri olabildiği gibi hücreye bağlanan çeşitli florokromlar da olabilir. Böylece hücre ya da partikülün immünofenotipi, DNA içeriği, enzim aktiviteleri, hücre membran

potansiyeli, canlılığı ve hücre içi sitokin miktarı gibi çeşitli özellikleri hakkında bilgi edinilebilir (Şekil 3-5).

Analizin doğru yapılabilmesi için doğru antikorlar ve doğru sayıda hücre gereklidir. Hücre sayısının çok yüksek olması, veri toplanması işleminde cihazın tıkanmasına da sebep olabilir. Hücre sayısının az olması da daha yanlış sonuçların çıkmasına neden olabilir. Hücreler kullanılmadan önce yoğunlukları  $1-5 \times 10^6/\text{mL}$  olacak şekilde ayarlanır, antikorlar üreticinin önerdiği konsantrasyonlarda kullanılır.



Şekil 3-5: Akan Hücre Ölçer Yöntemiyle Hücre Boyanması ve Analizi

### 3.2.3.2. Kullanılan Kit ve Antikorlar

Akan Hücre Ölçer Hücre İçi Sitokin Tayin Kiti (Cytofix/Cytoperm Plus Flx./permeabil Solut.Kit with GolgiPlug (Beckton Dickinson, ABD))

CD3 FITC (Beckton Dickinson, ABD)

CD4 PerCP-Cys.5 (Beckton Dickinson, ABD)

IL-17A ALEXA 647 (Beckton Dickinson, ABD)

IFN- gamma PE (Beckton Dickinson, ABD)

### 3.2.3.3. Kullanılan Cihaz, Solüsyon ve Malzemeler

Akan hücre ölçer cihazı (Beckton Dickinson, Facs Calibur)

Santrifüj (Heraus, Nüve)

Buzdolobı (+4C) (Arçelik)

Vorteks (Heidolp, Kermanlar)

Akan hücre ölçer yıkama solüsyonu (Flow sheath) (Beckton Dickinson)

Distile su

3 ml'lik plastik pastör pipeti

Otomatik pipet (10, 100 ve 1000 µl'lik) (Eppendorf)

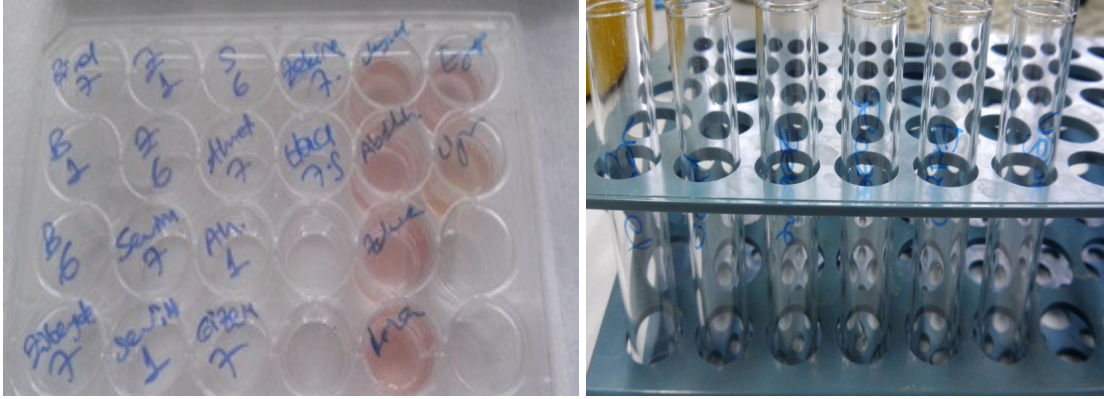
Otomatik pipet ucu (10, 100 ve 1000 µl'lik)

12.75 ml'lik yuvarlak dipli polipropilen akan hücre ölçer tüpü

### 3.2.3.4. Test Protokolü (Şekil 3-6)

- 1) Hücre kültürü sıvısı akan hücre ölçer falkon tüplerine aktarıldı.
- 2) PMA ve ionomisin ile uyarılmayan kültür sıvısı da falkon tüpe aktarıldı.
- 3) Tüpler 1900 rpm'da 5 dk santrifüj edildi ve süpernatant döküldü.
- 4) Tüplerde kalan peletin üzerine 200 µl Phosphate Buffered Saline-Fosfat tamponlu tuz (PBS) konuldu.
- 5) Uyarılan ve edilmeyen hücreler 100'er µl ayrı tüplere konuldu.
- 6) Her bir tüpe CD3 FITC ve CD4 PerCP antikorları 3 µl konuldu. Kısa vorteks yapıldı.
- 7) 20 dk oda ısısında inkübe edildi.
- 8) 1900 rpm'da 5 dk santrifüj edildi ve süpernatant uzaklaştırıldı.
- 9) Her bir tüpe 1ml PBS konuldu, vortekslendi.
- 10) 1900 rpm'da 5 dk santrifüj edildi ve süpernatant uzaklaştırıldı.
- 11) Her bir tüpe 100 µl Fix/Perm solüsyonu konularak 10-20 dk +4 C de inkübe edildi.
- 12) Her bir tüpe 1 ml Perm/wash solüsyonu konularak vortekslendi.
- 13) 1900 rpm'da 5 dk santrifüj edildi ve süpernatant uzaklaştırıldı.
- 14) Her bir tüpe 50 µl Perm/wash solüsyonu eklendi.
- 15) PE IFN-gama ve IL-17a ALEXA antikorlarından 3 µl eklendi ve 30 dk inkübe edildi.
- 16) Her bir tüpe 1 ml Perm/wash solüsyonu eklenerek vorteks yapıldı.
- 17) 1900 rpm'da 5 dk santrifüj edildi ve süpernatant uzaklaştırıldı.

- 18) Her bir tüpe 1 ml PBS veya akan hücre ölçer solüsyonu eklenerek FACSCalibur (Beckton Dickinson) akan hücre ölçerde, CellQuest yazılımı kullanılarak analiz edildi.
- 19) Her bir örnek tüpü için FSC ve SSC histogramında lenfosit kapısı alınarak ve bu kapı içerisinde yaklaşık 15000 hücre sayıldı.
- 20) Örneklerin analizleri lenfosit FSC ve SSC histogramında alınan lenfosit kapısı ve CD3+CD4+ kapıları tanıtılarak % değerler şeklinde hesaplandı.



**Şekil 3-6: Akan Hücre Ölçer Yöntemi Malzemeleri**

### 3.2.4. ELISA Yöntemiyle Plazma IFN- $\gamma$ ve IL-17A Sitokinlerin Ölçümü

#### 3.2.4.1. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

- ELISA plak okuyucu
- Otomatik pipet (10, 100 ve 1000  $\mu$ l'lik) (Eppendorf)
- Otomatik pipet ucu (10, 100 ve 1000  $\mu$ l'lik)
- Distile su
- Buzdolabı (+4°C) (Arçelik)
- Derin dondurucu (-80°C)
- Vorteks (Heidolp, Kermanlar)
- Hızı ayarlanabilen rotator

#### 3.2.4.2. Kit ve Kitin İçinden Çıkan Solüsyonlar

- IFN- $\gamma$  Human Platinum ELISA 96 tests KİTİ
- IL-17A Human Platinum ELISA 96 tests KİTİ
- 1 adet Monoklonal IFN- $\gamma$  antikoru kaplı Mikro Kuyucuklu Plate

1 adet Monoklonal IL-17A antikorlu kaplı Mikro Kuyucuklu Plate  
100 µl Biotin-Konjugat X2  
150 µl Streptavidin-HRP X2  
IFN- $\gamma$  ve IL-17A Standartları  
12 ml Örnek Dilüe Edici X2  
5 ml Assay Buffer 20X (PBS , %1 'lik Tween ve %10'luk BSA) X2  
50 ml Yıkama Solüsyonu 20X (PBS ve %1 'lik Tween) X2  
15 ml Substrat Solüsyonu (Tetrametil-Benzidin) X2  
15 ml Durdurucu Solüsyon (1 M Fosforik asit) X2  
4 adet Plate Örtücü X2

#### **3.2.4.3. Solüsyonların Hazırlanması**

Solüsyonlar kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi.

**Yıkama Solüsyonu;** 50 ml için 950 ml distile su eklendi.

**Assay Tamponu;** 5 ml için 95 ml distile su eklendi.

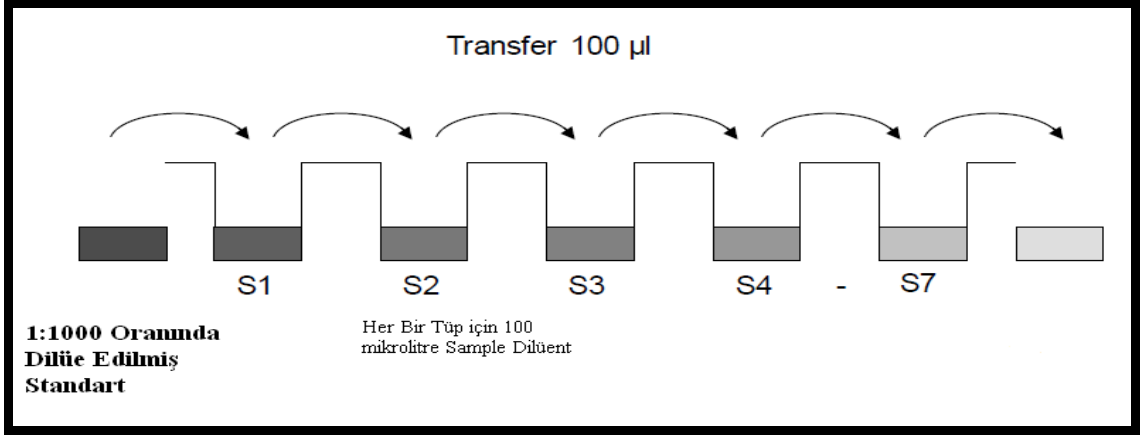
**Biotin Konjugat;** Dilüe edildikten sonra 30 dk içerisinde kullanıldı.

1:100 oranında dilüe edilir. 0,06 ml için 5,94 Assay Buffer eklendi.

**Streptavidin-HRP;** Dilüe edildikten sonra 30 dk içerisinde kullanıldı.

1:200 oranında dilüe edildi. 0,06 ml için 11,94 ml Assay Tamponu eklendi.

**Standartlar;** Distile su ile dilüe edildi. Hazırlanınca hemen plate'e eklendi (Şekil 3-7).



**Şekil 3-7: Standartların Hazırlanması**

#### 3.2.4.4. Test Protokolü

- 1) Mikro kuyucuklu plak hazırlanmış olan yıkama solüsyonu ile iki kere yıkandı (400 µl yıkama solüsyonu her bir kuyuya eklendi ve çalkalanarak plak ters çevrilip döküldü)
- 2) Boş kuyulara 100 µl örnek dilüe edici eklendi.
- 3) Örnek kuyularına 50 µl örnek dilüe edici eklendi.
- 4) Örnek dilüe edici olan kuyulara her bir örnek 50 µl eklendi.
- 5) Standartlar örnekler konulduktan sonra kuyularına uygun şekilde eklendi. (Tablo 3-2)
- 6) Biotin konjugat hazırlanarak tüm kuyulara 50 µl eklendi.
- 7) Plağın üstü kapatılarak 2 saat 18-25 oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.
- 8) Bu arada Streptavidin-HRP hazırlandı.
- 9) İnkübasyonu biten plate 3 kere yıkama solüsyonuyla yıkandı.
- 10) Hazırlanan Streptavidin-HRP 100 µl her bir kuyuya eklendi.
- 11) Plağın üstü kapatılarak 1 saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.
- 12) İnkübasyon sonrası 3 kere yıkama solüsyonuyla yıkandı.
- 13) TMB substrat solüsyonu 100 µl her bir kuyuya konuldu ve 10 dakika inkübasyona bırakıldı.



14) İnkübasyon sonrası 100 µl Durdurucu solüsyon ile hızlı bir şekilde her bir kuyuya eklendi ve 2-8 derece karanlıkta bir süre beklendi.

15) ELISA plak okuyucu öncesinde 450 nm dalga boyuna ayarlandı. Test sonrası plate ELISA plak okuyucuda okundu.

**Tablo 3-2: Plak Haritası**

	<b>1</b>	<b>2</b>
<b>A</b>	Standart 1 (100,0 pg/ml)	Örnek 1
<b>B</b>	Standart 2 (50,0 pg/ml)	Örnek 2
<b>C</b>	Standart 3 (25,0 pg/ml)	Örnek 3
<b>D</b>	Standart 4 (12,5 pg/ml)	Örnek 4
<b>E</b>	Standart 5 (6,3 pg/ml)	Örnek 5
<b>F</b>	Standart 6 (3,1 pg/ml)	Örnek 6
<b>G</b>	Standart 7 (1,6 pg/ml)	Örnek 7
<b>H</b>	Boş	Örnek 8

#### **3.2.4.5. Sonuçların Değerlendirilmesi**

Plaklar ELISA okuyucuda primer dalga boyu 450 nm, referans dalga boyu 620 nm olacak şekilde okutuldu. Test standartlar baz alınarak lineer regresyon analizi yapılarak değerlendirildi.

### **3.3. İSTATİKSEL ANALİZ**

Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama, standart sapma, medyan en düşük, en yüksek, frekans ve oran değerleri kullanıldı. Değişkenlerin dağılımı kolmogorov simirnov test ile ölçüldü. Nicel verilerin analizinde mann-whitney u test kullanıldı. Tekrarlayan ölçümlerin analizinde wilcoxon test kullanıldı. Nitel verilerin analizinde ki-kare test, ki-kare koşulları sağlanmadığından fischer test kullanıldı. Analizlerde (Statistical package for the social sciences) SPSS 22.0 kullanıldı.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Demografik Bulgular

Tez çalışmamıza, SDBY tanısı konmuş ve canlı/kadavradan böbrek nakli olmuş 50 hasta dahil edildi. Hastaların yaş ortalaması  $40,5 \pm 12,1$  yıl (yaş aralığı: 18-65; K/E : 17/33) iken vericilerin yaş ortalaması  $46,5 \pm 12,7$  yıl (yaş aralığı: 21-76; K/E:30/20), olarak bulundu. 50 nakilden 22'i (9'u kadın verici 13'si erkek verici) cinsiyet uyumlu, 28'u (K→E:20, E→K:8) ise cinsiyet uyumsuzdu. Çalışmaya eklenen hastalarda, SDBY hastalığı primer tanısı olarak en sık görülenleri, Diyabetik Nefropati (n:13) ve Hipertansif Nefropati (n:10)'du (Tablo 4-1).

**Tablo 4-1: Hasta ve Vericilere Ait Demografik Veriler**

	<u>Min-Max</u>	<u>Medyan</u>	<u>Ort.±s.s.</u>	<u>n</u>	<u>%</u>
<u>Hasta Yaşı</u>	22-65	39	$40,5 \pm 12,1$		
<u>Hasta Boyu</u>	141-182	166	$165,6 \pm 8,6$		
<u>Hasta Kilo</u>	41-99	64	$65,5 \pm 12,2$		
<u>Donör Yaşı</u>	21-76	49	$46,5 \pm 12,7$		
<u>Hasta Cinsiyet</u>	<u>Erkek</u>			33	66.0%
	<u>Kadın</u>			17	34.0%
<u>Donör Cinsiyet</u>	<u>Erkek</u>			20	40.0%
	<u>Kadın</u>			30	60.0%
<u>Cinsiyet Uyum</u>	<u>Yok</u>			29	58.0%
	<u>Var</u>			21	42.0%
<u>Primer Tanı</u>	<u>Vur</u>			3	6.0%
	<u>HT</u>			10	20.0%
	<u>DM</u>			13	26.0%
	<u>FME</u>			2	4.0%
	<u>GN</u>			2	4.0%
	<u>Bilinmeyen</u>			20	40.0%

#### 4.1.1. Hastaların Nakil Öncesi Sensitizasyon Bulguları

Tez çalışmasına dahil edilen hastaların 48'i canlı vericiden (2'si çapraz nakil) 2'si kadavra kaynaklı vericiden nakil oldu. Hastalar SDBY tanısı aldıktan sonra ortalama  $42,15 \pm 52,1$  nakil oldu. Hastaların diyaliz süreleri ortalama  $21,2 \pm 41,6$  aydı. Hastaların 29'u HD, 1'i PD tedavi olurken, 20'si diyaliz tedavisi almadan (preemptive) nakil oldu. Hastaların 21 tanesi kan transfüzyonu, gebelik ya da nakil gibi hastayı sensitize edici etkenlere maruz kalmadığı tespit edildi. İkinci naklini olan 2 hastanın başka bir sensitizasyon öyküleri yoktu. Ayrıca 8 hastanın kan transfüzyonu ve gebelik öyküsü varken 14 hasta sadece kan transfüzyonuyla, 5 hasta sadece gebelikle sensitizeydi. Çalışmaya dahil edilen tüm hastalar ABO kan grubu uyumlu vericilerden nakil olmuşlardı. (Tablo 4-2).

**Tablo 4-2: Hastaların Nakil Öncesi Sensitizasyon Bilgileri**

		Min-Max	Ort.±s.s.	n	%
Tanı Süresi (Ay)		2-264	42,15 ±52,1		
Diyaliz Süresi (Ay)		0-192	21,2 ±41,6		
Kan Transfüzyonu		0-10	1,2 ±2,0		
Kan Transfüzyonu Zamanı (Ay)		0-240	21,58 ±49,4		
Gebelik Sayısı		0-12	1,26 ±2,8		
Nakil Sayısı		0-2	1,02 ±0,2		
Graft Kaynağı	Canlı			48	96.0%
	Kadavra			2	4.0%
Verici Yakınlığı	Anne			10	20.0%
	Eş			11	22.0%
	Kardeş			12	24.0%
	Çocuk			6	12.0%
	Baba			7	14.0%
	Çapraz			2	4.0%
	Kadavra			2	4.0%
Hasta Kan Grubu	A Grubu			18	36.0%
	B Grubu			9	18.0%
	AB Grubu			1	2.0%
	0 Grubu			22	44.0%
Hasta Rh Faktörü	Negatif			8	16.0%
	Pozitif			42	84.0%
Verici Kan Grubu	A Grubu			17	34.0%
	B Grubu			6	12.0%
	AB Grubu			2	4.0%
	0 Grubu			25	50.0%
Verici Rh Faktörü	Negatif			8	16.0%
	Pozitif			42	84.0%
Diyaliz Türü	Preemptive			20	40.0%
	HD			29	58.0%
	PD			1	2.0%

#### 4.1.2. Hastaların Nakil Öncesi Bakılan İmmünolojik Parametreleri

Tez çalışmasına dahil edilen hastaların tümünün nakil öncesi yapılan immünolojik testlerinin (PRA, HLA, FCXM) sonuçları hastaların dosyasından elde edildi. Hastaların anti-HLA antikor (PRA) profili incelendiğinde 43 hasta (%86) negatifken 7 (%14) hastanın pozitif olduğu görüldü. PRA tarama sonucu pozitif çıkan 7 hastadan 5'i (%72) sınıf I anti-HLA antikoruna sahipken 2'si (%28) sınıf II anti-HLA antikoruna sahipti. Hastaların 3 tanesinde sınıf I donör spesifik antikorları tespit edildi. Sınıf II antikoruna sahip 2 hastada ise donör spesifik antikor mevcuttu. Hastaların tamamında bakılan FCXM sonuçlarına bakıldığında, sadece 2 hastada FCXM B pozitifliği görüldü. Hastaların 1'i 5/6, 6'sı 4/6, 24'ü 3/6, 6'sı 2/6, 5'i 1/6 uyumlu ve 7'si uyumsuz (0/6) vericiden nakil oldu (Tablo 4-3).

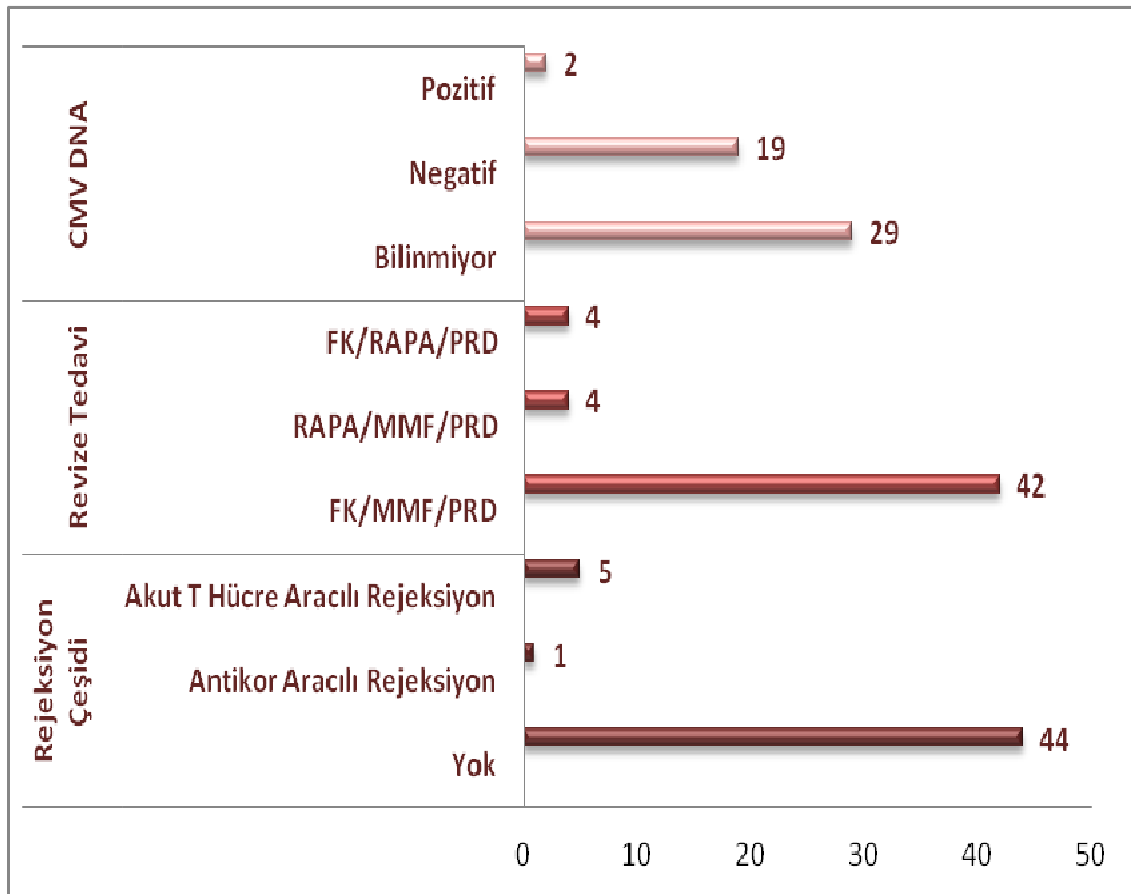
**Tablo 4-3: Hastaların Nakil Öncesi İmmünolojik Parametreleri**

<b>İncelenen Parametreler</b>	<b>Sonuç</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>PRA</b>	Negatif	43	86.00%
	Pozitif	7	14.00%
<b>DSA</b>	Yok	45	90.00%
	Sınıf I	3	6.00%
	Sınıf II	2	4.00%
<b>Doku Uyumu</b>	Uyumsuz 0/6	7	14.00%
	1 antijen uyumlu	5	10.00%
	2 antijen uyumlu	6	12.00%
	3 antijen uyumlu	24	48.00%
	4 antijen uyumlu	6	12.00%
	5 antijen uyumlu	1	2.00%
<b>FCXM</b>	N/N	48	96.00%
	N/P	2	4.00%

#### 4.1.3. Hastaların Nakil Sonrası Takip Bulguları

Hastalar, nakil sonrasında ilk 6 ay takip edildi. Bu süre içerisinde gerçekleşen rejeksiyon bulguları ve immünespresif tedavileri değerlendirildi. Hastalardan 42'sine FK/MMF/PRD, 4'üne RAPA/MMF/PRD ve 4'üne FK/RAPA/PRD immünespresif tedavilerinden uygun dozlarda verilmiştir. Nakil sonrası ilk altı ay içerisinde hastaların 6 tanesi rejeksiyon geçirdi. Bu hastalardan 5'i (%10) Akut T Hücre Aracılı Rejeksiyon, 1'i (%2) Antikor Aracılı Rejeksiyon geçirdi. Hastalar ortalama  $12,1 \pm 9,1$  (Min-Max:4-27) günde rejeksiyon geçirdi. Rejeksiyon geçiren hastalara, standart tedaviye ek olarak ATG immünespresif tedavisi (3-10 gün) verildi (Tablo 4-4).

**Tablo 4-4: Hastaların Nakil Sonrası Durumları**



#### 4.1.4. Rejeksiyonlu Hasta Grubunun Demografik ve Sensitizasyon Bulguları

Rejeksiyon geçiren hastalardan 4'ünde kan transfüzyonu, 1'inde kan transfüzyonu ve gebelik öyküsü mevcuttu. Rejeksiyonlu hastaların hepsi (n:6) canlı vericiden nakil oldu (3'ü 3/6 antijen uyumlu, diğer 3'ü uyumsuz (0/6) vericiden). Nakil öncesi dönemde yapılan immünolojik testlerin (FCXM, PRA) hepsi negatifti. (Tablo 4-5).

**Tablo 4-5: Rejeksiyon Grubunun Demografik Bilgileri**

		n
<b>Greft Kaynağı</b>	Canlı	6
	Kadavra	0
<b>Hasta Kan Grubu</b>	A Grubu	1
	B Grubu	2
	AB Grubu	0
	O Grubu	3
<b>Diyaliz Türü</b>	Preemptive	2
	HD	4
	PD	0
<b>PRA</b>	Negatif	5
	Pozitif	1
<b>DSA</b>	Yok	6
	Sınıf I	0
	Sınıf II	0
<b>HLA Uyumu (A,B,DR)</b>	Uyumsuz 0/6	3
	1/6 Antijen uyumlu	0
	2/6 Antijen uyumlu	0
	3/6 Antijen uyumlu	3
	4/6 Antijen uyumlu	0
	5/6 Antijen uyumlu	0
<b>FCXM (T/B)</b>	N/N	6
	N/P	0

#### 4.2. Stabil Greft Fonksiyonlu ve Rejeksiyonlu Hasta Grubu Bulgularının Karşılaştırılması

Stabil Greft Fonksiyonlu Grubun ve Rejeksiyonlu Hasta Grubunun yaşı, verici yaşı, hasta cinsiyet dağılımı, verici cinsiyet dağılımı, cinsiyet uyum oranı, hasta boyu, hasta kilosu, tanı süresi, diyaliz süresi, kan transfüzyon sayısı, kan transfüzyon miktarı, gebelik sayısı, nakil sayısı ve verici tipi istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı ( $p>0,05$ ) farklılık görülmedi (Tablo 4-6).

**Tablo 4-6: Stabil Greft Fonksiyonlu ve Rejeksiyonlu Hasta Grubu Demografik Verilerinin Karşılaştırması**

		SGF		RHG			p	
		Ort.±s.s./n-%	Med(Min-Mak)	Ort.±s.s./n-%	Med(Min-Mak)			
Hasta Yaşı		40.9 ± 11.6	40	23 - 65	37.3 ± 15.8	33	22 - 60	0.403
Verici Yaşı		45.0 ± 14.7	47	0 - 76	50.0 ± 10.7	53	31 - 63	0.540
Hasta	Erkek	28	64%		5	83%		0.339
Cinsiyet	Kadın	16	36%		1	17%		
Verici	Erkek	19	43%		1	17%		0.214
Cinsiyet	Kadın	25	57%		5	83%		
Cinsiyet	Yok	25	57%		4	67%		0.647
Uyum	Var	19	43%		2	33%		
Hasta Boyu		165.1 ± 8.6	165	141 - 182	169.0 ± 8.7	169	155 - 178	0.288
Hasta Kilo		65.2 ± 12.6	63	41 - 99	67.8 ± 9.7	66	58 - 82	0.420
Tanı Süresi		45.0 ± 54.4	27	2 - 264	20.9 ± 21.3	14	2 - 58	0.199
Diyaliz Süresi		23.2 ± 43.9	3.0	0.0 - 192	6.4 ± 9.8	1.3	0.0 - 24.0	0.601
Kan Transfüzyonu		1.0 ± 1.7	0.0	0.0 - 7.0	2.2 ± 3.9	1.0	0.0 - 10.0	0.440
Kan Transfüzyonu Zamanı		23.6 ± 52.3	0.0	0.0 - 240	7.0 ± 9.5	3.0	0.0 - 24.0	0.599
Gebelik Sayısı		1.2 ± 2.5	0.0	0.0 - 10.0	2.0 ± 4.9	0.0	0.0 - 12.0	0.757
Nakil Sayısı		1.0 ± 0.3	1.0	0.0 - 2.0	1.0 ± 0.0	1.0	1.0 - 1.0	0.828

SGF\*: Stabil Greft Fonksiyonlu RHG\*: Rejeksiyonlu Hasta Grubu

Stabil greft fonksiyonlu ve Rejeksiyonlu grupları, 7.gün, 1.ay ve 6.ay ilaç düzeyi takiplerine göre değerlendirildiğinde aralarında anlamlı farklılık yoktu ( $p>0,05$ ).

SGF ve RHG'da nakil öncesi ve 6.ay serum kreatinin değerleri arasında istatistiksel anlamlılık saptanmadı ( $p>0,05$ ). RHG'da 7.gün ve 1.ay serum kreatinin değerleri SGF'den anlamlı olarak daha yüksekti ( $p<0,05$ ).

SGF ve RHG arasında 1.ay ve 6.ay hücre içi IFN- $\gamma$  değerleri arasında anlamlı farklılık tespit edilmedi ( $p>0,05$ ). SGF ve RHG arasında 1.ay hücre içi IL-17 değeri için anlamlı farklılık görülmemişken ( $p>0,05$ ), 6.ay hücre içi IL-17 değeri RHG'da SGF'dan anlamlı olarak daha yüksek görüldü ( $p<0,05$ ).

SGF ve RHG'da nakil öncesi, 7.gün ve 6.ay plazma IFN- $\gamma$  seviyeleri anlamlı farklılık göstermedi ( $p>0,05$ ). RHG'da nakil öncesi plazma IL-17 seviyeleri SGF'den anlamlı olarak daha yüksek bulundu ( $p<0,05$ ). SGF ve RHG'de 7.gün, 1.ay ve 6. ay plazma IL-17 seviyelerinde ise anlamlılık tespit edilmedi ( $p>0,05$ ). Bu veriler Tablo 4-7'de gösterilmiştir.

**Tablo 4-7: SGF ve RH gruplarında İlaç Düzeyi, Serum Kreatinin, Hücre içi IFN-gama ve IL-17, Plazma IFN-gama ve IL-17 Sitokinlerinin Karşılaştırılması**

		SGF		RHG		p		
		Ort. $\pm$ s.s.	Med(Min-Mak)	Ort. $\pm$ s.s.	Med(Min-Mak)			
İlaç Düzeyi	7.Gün	13.3 $\pm$ 4.3	13.0	5.2 - 22.0	12.1 $\pm$ 5.6	13.9	2.9 - 17.2	0.944
	1.Ay	12.5 $\pm$ 4.0	12.6	5.5 - 19.9	9.2 $\pm$ 4.0	7.3	5.5 - 13.5	0.097
	6.Ay	7.5 $\pm$ 2.7	6.8	2.6 - 15.0	8.0 $\pm$ 3.7	7.1	4.6 - 14.0	0.874
Serum Kreatinin	Nakil Öncesi	5.7 $\pm$ 2.5	5.4	1.3 - 12.4	6.0 $\pm$ 2.5	4.8	4.2 - 10.3	0.988
	7.Gün	1.4 $\pm$ 0.4	1.3	0.7 - 2.2	4.6 $\pm$ 2.1	4.5	2.0 - 7.5	<b>0.000</b>
	1.Ay	1.2 $\pm$ 0.3	1.2	0.7 - 1.9	1.8 $\pm$ 0.4	1.9	1.3 - 2.1	<b>0.002</b>
Hücre İçi IFN $\gamma$	6.Ay	1.2 $\pm$ 0.4	1.2	0.5 - 3.0	1.8 $\pm$ 0.9	1.8	1.2 - 2.4	0.264
	1.Ay	1.7 $\pm$ 1.6	1.1	0.1 - 8.0	2.8 $\pm$ 0.7	2.8	2.3 - 3.3	0.108
Hücre İçi IL17	6.Ay	2.6 $\pm$ 2.8	1.4	0.3 - 9.9	3.5 $\pm$ 1.4	3.7	1.9 - 4.8	0.115
	1.Ay	1.4 $\pm$ 1.5	0.8	0.0 - 6.1	1.6 $\pm$ 0.5	1.6	1.2 - 1.9	0.318
Plazma IFN $\gamma$	6.Ay	1.2 $\pm$ 0.5	1.3	0.5 - 2.5	2.5 $\pm$ 0.5	2.3	2.2 - 3.3	<b>0.002</b>
	Nakil Öncesi	7.0 $\pm$ 1.1	6.9	6.0 - 10.2	6.1 $\pm$ 0.7	6.2	5.1 - 7.1	0.067
	7.Gün	6.8 $\pm$ 0.7	6.8	5.2 - 8.1	7.0 $\pm$ 0.7	7.3	5.7 - 7.5	0.310
	1.Ay	8.8 $\pm$ 2.3	8.2	6.1 - 13.3	6.7 $\pm$ 1.0	6.5	5.4 - 8.6	<b>0.017</b>
Plazma IL17	6.Ay	5.2 $\pm$ 1.7	4.2	3.1 - 9.0	6.2 $\pm$ 0.8	6.2	5.2 - 7.2	0.194
	Nakil Öncesi	5.1 $\pm$ 2.8	6.3	2.1 - 9.4	8.0 $\pm$ 1.2	7.9	6.7 - 9.4	<b>0.029</b>
	7.Gün	4.8 $\pm$ 2.9	2.8	2.2 - 9.6	3.4 $\pm$ 2.1	2.8	1.7 - 7.5	0.391
	1.Ay	8.0 $\pm$ 2.7	8.8	2.5 - 11.0	8.5 $\pm$ 1.1	8.3	7.5 - 10.4	0.934
	6.Ay	9.2 $\pm$ 3.6	9.3	2.6 - 14.7	7.1 $\pm$ 3.0	8.0	2.8 - 9.6	0.271

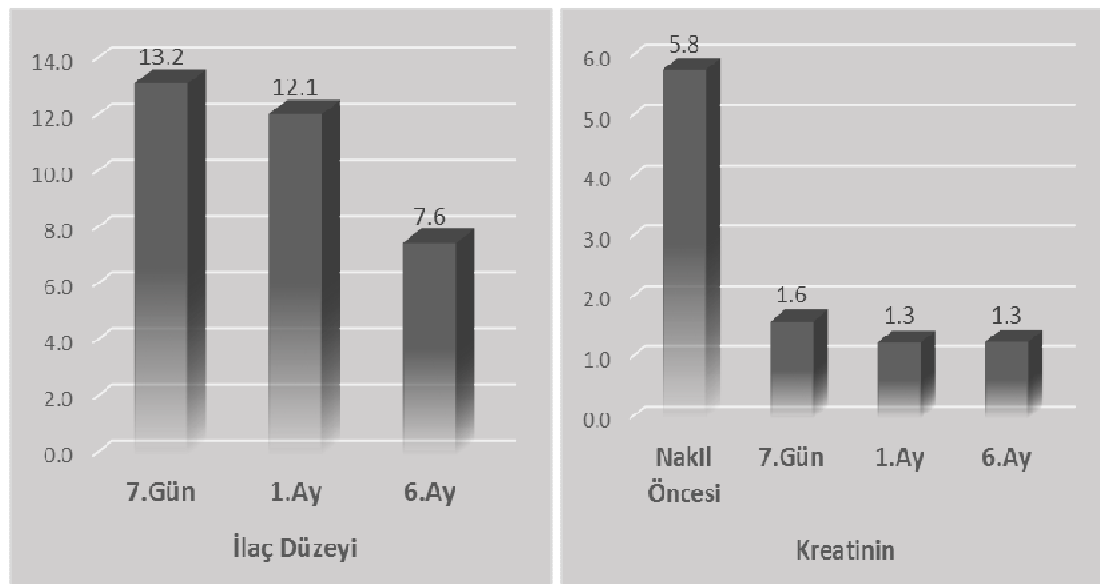
SGF\*: Stabil Greft Fonksiyonlu RHG\*: Rejeksiyonlu Hasta Grubu



Serum kreatinin düzeyleri karşılaştırıldığında, 7.gün, 1.ay ve 6.ay değerleri nakil öncesine göre anlamlı olarak düşük saptandı ( $p<0,05$ ). İlaç düzeyi ve serum kreatinin düzeylerinin gruplara göre değişim bulguları Tablo 4-8’de gösterilmiştir. İlaç ve serum kreatinin düzey ortalamalarının zamana göre değişimi Şekil 4-1’de grafik halinde gösterilmiştir.

**Tablo 4-8: Hastaların Nakil Öncesi, Nakil Sonrası (7. gün, 1.ay ve 6.ay) Grupları Arasında İlaç Düzeyi ve Serum Kreatinin Düzeylerinin Değişim Bulguları**

		Min-Mak	Medyan	Ort.±s.s.	Başlangıca Göre Değişim p	Bir Önceki Ölçüme Göre Değişim p
İlaç Düzeyi	7.Gün	2.9 - 22.0	13.1	13.2 ± 4.4	0.139	
	1.Ay	5.5 - 19.9	12.6	12.1 ± 4.1	0.537	0.282
	6.Ay	2.6 - 15.0	6.9	7.6 ± 2.7	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>
Serum Kreatinin	Başlangıç	0.8 - 12.4	5.5	5.8 ± 2.6		
	7.Gün	0.7 - 7.5	1.4	1.6 ± 1.1	<b>0.000</b>	
	1.Ay	0.7 - 2.1	1.2	1.3 ± 0.3	<b>0.000</b>	<b>0.002</b>
	6.Ay	0.5 - 3.0	1.2	1.3 ± 0.4	<b>0.000</b>	0.774



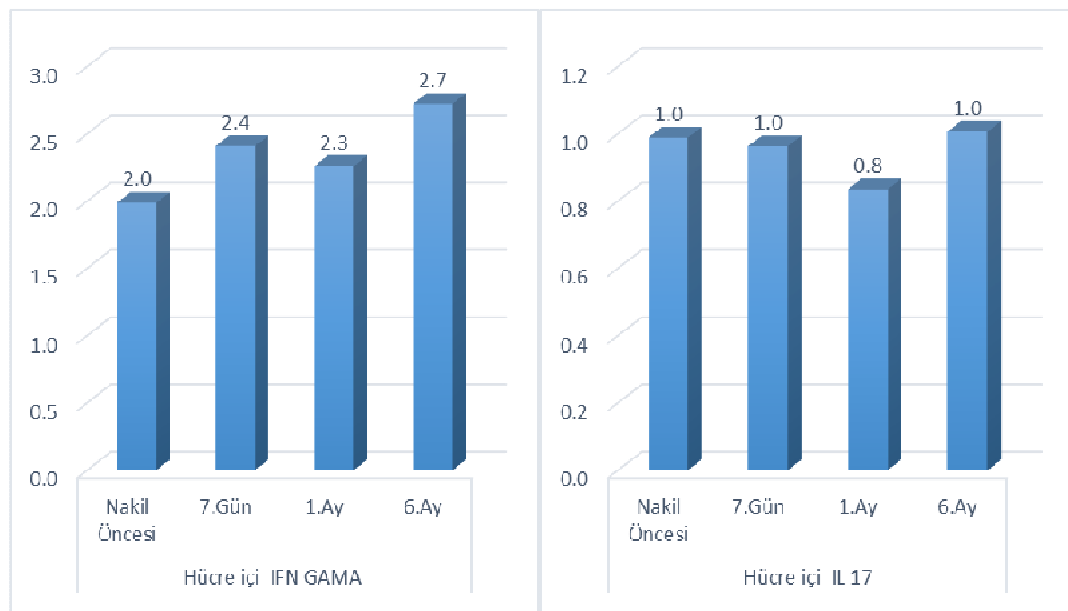
**Şekil 4-1: İlaç Düzeyi ve Serum Kreatinin Düzey Ortalamalarının Zamana Göre Değişimi**

Hastaların 7.gün, 1.ay ve 6.ay hücre içi IFN- $\gamma$  değerleri, nakil öncesine göre anlamlı değişim göstermedi ( $p>0,05$ ).

7.gün, 1.ay ve 6.ay hücre içi IL-17 değeri ile nakil öncesi değer arasında fark yoktu ( $p>0,05$ ) (Tablo 4-9). Hücre içi IFN- $\gamma$  ve IL-17 seviye değişimlerinin ortalama yüzdeleri Şekil 4-2’de gösterilmiştir.

**Tablo 4-9: Hücre İçi IFN-gama ve IL-17 Sitokin Seviyelerinin Gruplar Arasındaki Değişimi**

		Min-Mak	Medyan	Ort.±s.s.	Başlangıca Göre Değişim p	Bir Önceki Ölçüme Göre Değişim p
Hücre İçi IFN $\gamma$	Nakil Öncesi	1.0 - 4.6	1.5	2.0 ± 1.1		
	7.Gün	0.5 - 6.0	2.4	2.4 ± 1.6	0.110	
	1.Ay	0.7 - 8.0	1.4	2.3 ± 2.2	0.722	0.168
	6.Ay	0.3 - 9.9	1.1	2.7 ± 3.6	0.722	0.724
Hücre İçi IL 17	Nakil Öncesi	0.4 - 1.9	0.8	1.0 ± 0.4		
	7.Gün	0.3 - 1.8	0.8	1.0 ± 0.6	0.790	
	1.Ay	0.4 - 2.0	0.7	0.8 ± 0.5	0.330	0.386
	6.Ay	0.5 - 1.5	1.2	1.0 ± 0.4	0.657	0.285



**Şekil 4-2: Hücre içi IFN-gama ve IL-17 Sitokin Seviye Değişimlerinin Yüzdeleri**

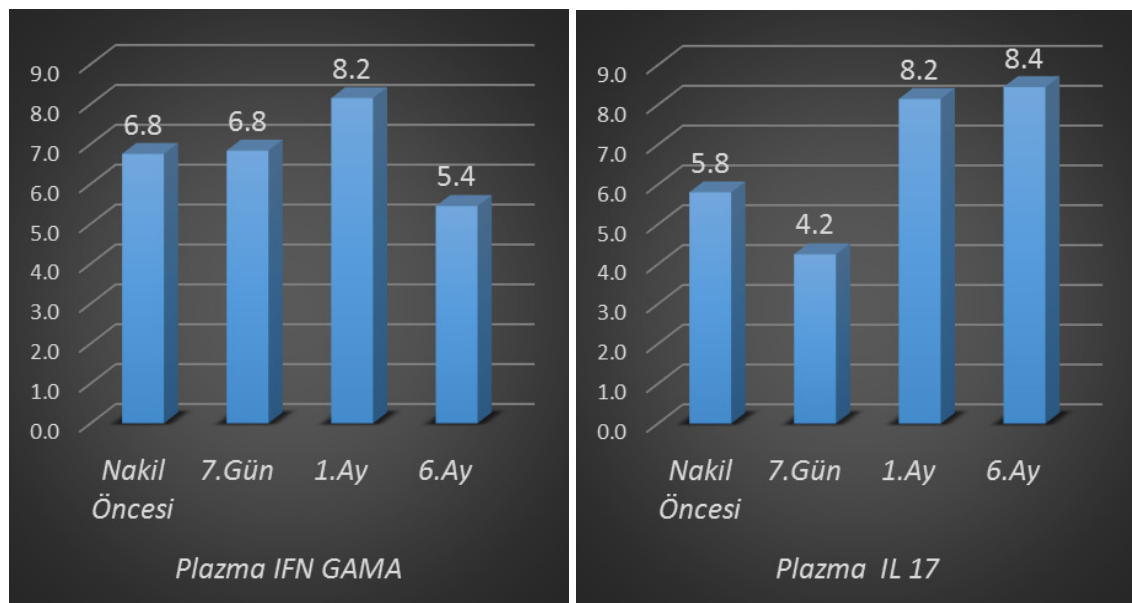
Hastaların plazmada sitokin seviyeleri karşılaştırıldığında, 7.günde plazma IFN- $\gamma$  değerinin nakil öncesi değerlere göre anlamlı değişim göstermediği ( $p>0,05$ ), 1.ayda IFN- $\gamma$  değerinin nakil öncesine göre arttığı ( $p<0,05$ ), 6.ayda ise anlamlı olarak düştüğü tespit edildi ( $p<0,05$ ).

7.gün plazma IL-17 değeri nakil öncesi değere göre anlamlı değişim göstermemişken ( $p>0,05$ ) 1.ay plazma IL-17 değeri, nakil öncesi değere göre anlamlı artış gösterdi ( $p<0,05$ ).

Sitokin seviyelerinin gruplara göre değişimi Tablo 4-10'da gösterilmiştir. Sitokin seviye ortalamalarının zamana göre değişimi ise Şekil 4-3'te verilmiştir.

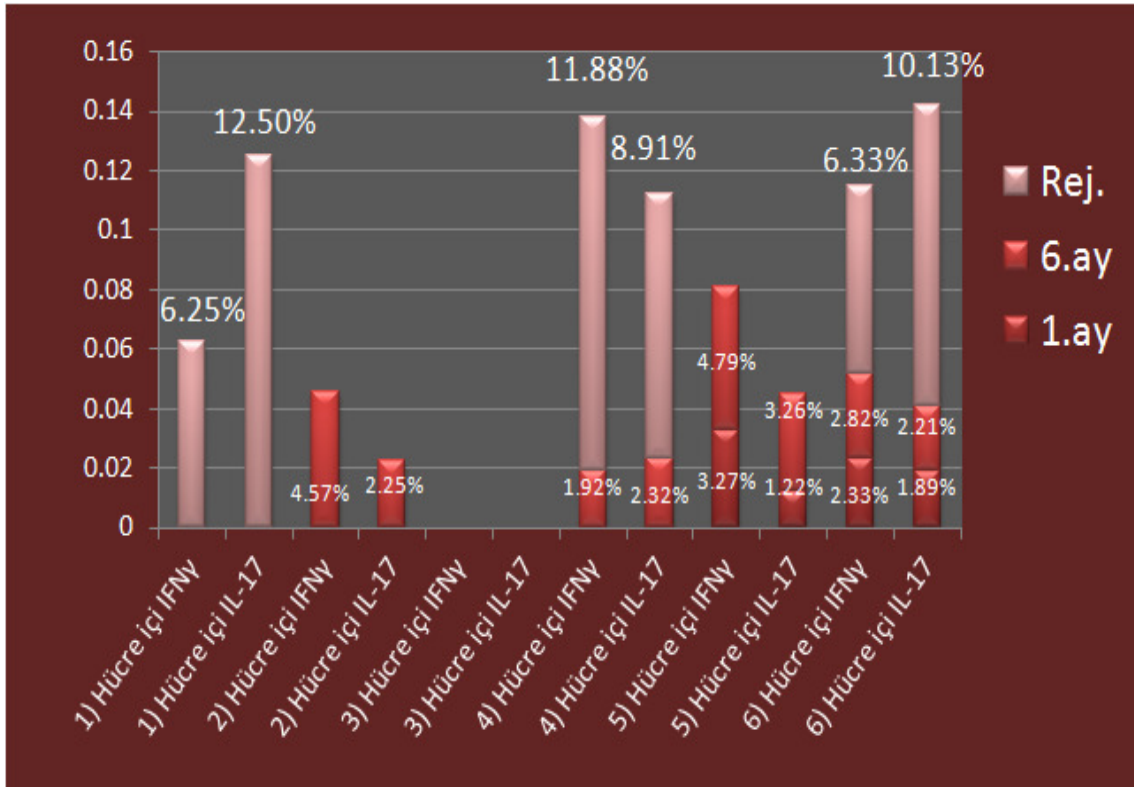
**Tablo 4-10: Plazma IFN-gama ve IL-17 Sitokin Seviyelerinin Gruplar Arasındaki Değişimi**

		Min-Mak	Medyan	Ort.±s.s.	Başlangıca Göre Değişim p	Bir Önceki Ölçüme Göre Değişim p
Plazma IFN $\gamma$	Nakil Öncesi	5.1 - 10.2	6.5	6.8 ± 1.1		
	7.Gün	5.2 - 8.1	6.9	6.8 ± 0.7	0.440	
	1.Ay	5.4 - 13.3	7.2	8.2 ± 2.2	<b>0.011</b>	<b>0.029</b>
	6.Ay	3.1 - 9.0	5.2	5.4 ± 1.6	<b>0.011</b>	<b>0.001</b>
Plazma IL 17	Nakil Öncesi	2.1 - 9.4	6.5	5.8 ± 2.7		
	7.Gün	1.7 - 9.6	2.8	4.2 ± 2.7	0.313	
	1.Ay	2.5 - 11.0	8.6	8.2 ± 2.3	<b>0.001</b>	<b>0.001</b>
	6.Ay	2.6 - 14.7	8.6	8.4 ± 3.3	<b>0.013</b>	0.744

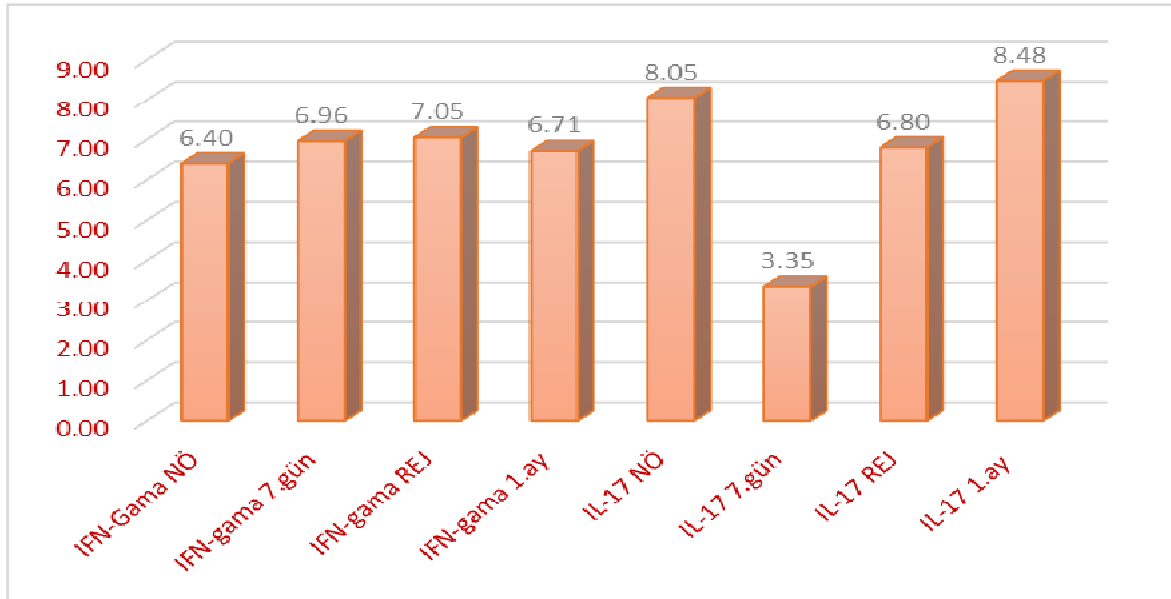


**Şekil 4-3: Plazma IFN-gama ve IL-17 Sitokin Seviye Ortalamalarının Zamana Göre Değişimi**

**Tablo 4-11: Rejeksiyonlu Hasta Grubunun Hücre İçi Sitokin Oranları**



Rejeksiyon geçiren 6 hastanın hücre içi IFN- $\gamma$  ve IL-17 seviyeleri % değer olarak Tablo 4-11’de gösterilmiştir. RHG sayı yetersizliğinden ve bazı hastalarda testten kaynaklı sonuç alınamamasından dolayı istatistiksel değerlendirmeye alınmadı. 6 nolu hastada hücre içi IFN- $\gamma$  ve IL-17 seviyeleri rejeksiyon geçirdiği gün 1.ay ve 6.aya göre 3-4 kat artış gösterdiği gözlemlendi. Total hasta grubuna bakıldığında sonucu çıkan 3 rejeksiyonlu hastada, stabil greft fonksiyonlu hasta grubunda çıkan hücre içi değerlere göre artış olduğu gözlenmiştir.



**Şekil 4-4: RHG'da Plazma IFN-gama ve IL-17 Seviye Ortalamaları**

Rejeksiyon geçiren 6 hastanın IFN- $\gamma$  ve IL-17 plazma seviyelerinin ortalama değerleri Şekil 4-4'te gösterilmiştir. Bu değerlere göre rejeksiyon geçirdiği gün plazma IFN- $\gamma$  seviyesi nakil öncesi, nakil sonrası 7.gün ve 1.ay değerlerine göre daha yüksek gözlemlendi. Plazma IL-17 değerleri ise, rejeksiyon geçirdiği gün nakil sonrası 7. güne göre daha yüksek, nakil öncesi ve nakil sonrası 1. aya göre daha düşük tespit edildi.

## 5.TARTIŞMA

Son dönem böbrek yetmezliği çeşitli hastalıklara neden olduğu nefronların ilerleyici ve geri dönüşümsüz kaybı ile sonuçlanabilen bir hastalıktır (7). SDBY hastalarının sayısı ülkemizde ve tüm dünyada giderek artış göstermektedir. Ülkemizdeki verilere göre son 10 yılda SDBY insidansında iki kat, prevalansında beş kat artış gözlenmiştir. SDBY olan hastalar, hayatlarını renal replasman tedavileri (diyaliz veya transplantasyon) ile sürdürürler (9, 80). Bu tedavilerden böbrek nakli, SDBY hastaları için hem yaşam kalitesini hem de sağ kalımını artıran en iyi tedavi seçeneğidir (1).

İmmünespresif tedavi yöntemleri günümüzde böbrek allogreft sağ kalımını arttırsa da nakil sonrası gelişen allogreft rejeksiyonu ve diğer komplikasyonlar nakil başarısı için aşılması gereken engeller arasındadır (1). Bu nedenlerden dolayı nakil sonrası, allogreft rejeksiyon sürecindeki hücresel ve immünolojik mekanizmaların bilinmesi ve transplant antijenlerine karşı oluşacak spesifik immün cevabın azaltılması, toleransın artırılması yönünde yapılan immünolojik testlerin takibi önemlidir (1,2).

SDBY hastalığının oluşumunda etkili birçok primer hastalık vardır. Diyabetik nefropati, hipertansif nefropati, glomerülonefrit, polikistik böbrek hastalıkları bu primer nedenler arasında en sık görülen hastalıklardır (8). Bu hastalıkların sıklığı ülkelere göre değişmekte olup, etiyojisi bilinmeyen SDBY ilk sırada gelmektedir (8,80). Bu çalışmaya dahil edilen 50 hastanın, %40'lık (n:20) kısmını etiyojisi bilinmeyen SDBY oluşturmaktadır. Diyabetik nefropati (%26, n:13) ve hipertansif nefropati (%20, n:10) ise çalışmaya dahil edilen hastalarda görülen primer nedenler arasındaydı. Türk Nefroloji Derneği'nin (TND) altı yıllık verilerine göre 2012 yılsonu itibariyle SDBY tanısı almış 13,761 hasta nakil olmuştur. 2012 yılında ise toplam 2905 nakil yapılmıştır. Bu nakillerden %64'ü erkek hastaya (n:1858), %36'sı kadın hastaya (n:1047) yapılmıştır (12). Ülkemizde kadavra kaynaklı vericiden nakil olan hasta sayısı canlı vericiden nakil olan hasta sayısına göre daha azdır. Bu nedenle hastaların diyaliz süreleri uzamaktadır. Tez çalışmasına dahil edilen hastalarda da aynı durum gözlenmiş ve kadavra kaynaklı vericiden nakil olan 2 hastanın diyaliz süreleri ortalama 108 ay, canlı vericiden nakil olan 28 hastanın diyaliz süreleri ortalama 27 ay, 20 hasta ise preemptivedi. TND 2012 verilerine göre, SDBY hastalarının nakil öncesi %70'i hemodiyaliz tedavisi, %10'u peritoneal diyaliz tedavisi olarak, %20'si ise diyaliz girmeden nakil oldu (12). Çalışmamız, bu verileri destekler nitelikte olup; dahil olan 50

SDBY hastasının, %58'inin (n:29) HD tedavisi olarak, %2'sinin (n:1) PD tedavisi olarak ve %40'ının ise diyalize girmeden (n:20) nakil olduğunu gösterdi.

Solid organ nakillerinde, ABO uyumsuzluğu öncelikli olarak hiperakut reddine neden olabilir (81). Çalışmaya dahil edilen tüm hasta ve vericilerin kan grupları uyumluydu. Sensitizasyon öyküsü olan hastalarda PRA oluşumu ve artışı gözlenmektedir. Bu artışa göre hastada DSA gelişmesi olasılığı ve buna bağlı olarak nakil olabirlilik şansı düşmektedir (18,81). Tez çalışmasındaki hastaların sensitizasyon bulguları incelendiğinde, 20 hasta kan transfüzyonu, gebelik veya nakil gibi hastayı sensitize edici etkenlere maruz kalmadı. Hastalardan 2'si ikinci naklini oldu, bu hastaların kan transfüzyonu ve gebelik öyküleri yoktu. 21 hastanın kan transfüzyon öyküsü ve 7 tanesinin gebelik öyküsü vardı. PRA taramalarında hastaların 43 tanesi negatifken, 7 tanesinde pozitif sonuç elde edilmiştir. PRA tarama sonucu pozitif çıkan 7 hastadan %72'si (n:5) sınıf I anti-HLA antikoruna , %28'i (n:2) sınıf II anti-HLA antikoruna sahipti. Sınıf I antikoruna sahip 3 hastada ve sınıf II antikoruna sahip 2 hastada, DSA oluşumu gözlemlendi. DSA'sı olan 5 hastanın sensitizasyon bulgularında, gebelik ve kan transfüzyonu öyküsü saptandı. PRA'sı pozitif çıkan hastaların 7 tanesine FCXM testi yapıldığında 5'inde hem T hücreler hem de B hücreler için negatif bulunurken, 2'sinde B hücreler pozitif bulundu. Bu 2 hastanın da birinde sınıf I diğesinde sınıf II DSA'sı tespit edilmiştir. Sınıf I DSA'sı olan ve FCXM'de B pozitifliği olan hastada, B pozitifliği nedeninin HLA dışı antikorlar ve FCXM testinin aşırı hassasiyetinden kaynaklı olabileceği düşünülebilir (82).

Böbrek nakil başarısını etkileyen faktörlerden biri de alıcı-verici arasındaki HLA uyumudur. HLA'nın yüksek polimorfizm göstermesinin nakil olabirliliği engellemesi ve hümmoral ve hüccresel immünitede rol oynaması, nakildeki önemini göstermek için başlıca iki nedendir (83). Hata ve ark. (84) yaptıkları çalışmada, kısmi uyumlu böbrek nakilli hastalarla tam uyumlu böbrek nakilli hastaların greft sağ kalımı karşılaştırılmış ve tam uyumlu nakillerin sağ kalıma olan etkisini anlamlı bulmuşlardır. Tez çalışmasındaki hastaların HLA-A,-B,-DR uyumlarına bakıldığında, 1'i 5/6, 6'sı 4/6, 24'ü 3/6, 6'sı 2/6, 5'i 1/6 uyumlu ve 7'sinin HLA uyumsuz nakil olduğu tespit edildi. 50 hastanın, nakil sonrası 6 aylık takiplerinde 6 tanesi rejeksiyon geçirdi ve bu hastaların 3'ü 3/6 uyumlu 3'ü ise HLA uyumsuz nakil olmuştur. Son yıllarda immünespresif tedavilerin gelişmesi ve etkinliğinin artmasıyla böbrek nakli sonuçlarını anlamlı derecede başarılı hale getirdiği tez çalışmamızla da desteklenmektedir.

Böbrek naklinin başarısını, nakil yapılmış olan hastanın ve greftin sağkalımı, kullanılan immüsupresif ilaçlar doğrudan etkilemektedirler (38,39). Tez çalışmasına dahil edilen ve nakil sonrası 6 ay takip edilen hastaların rejeksiyon durumları ve immüsupresif tedavi protokolleri değerlendirilmeye alındı. Bu hastalardan 42'si tanesine FK/MMF/PRD, 4 tanesine RAPA/MMF/PRD ve 4 tanesine FK/RAPA/PRD standart tedavilerinden uygun dozlarda verilmiştir. Kadavra kaynaklı vericiden (n:2) nakil olan hastalar, canlı vericiden (n:48) nakil olanlara göre daha riskli olduğu için standart tedavi protokolüne ek olarak, poliklonal bir antikor olan ATG kullanılmıştır. T hücre hedefli immüsupresif tedavi protokolleri akut hücresele rejeksiyonu belirgin şekilde engellediği görülmüştür (81). Nakil sonrası ortalama  $12,1 \pm 9,1$  (Min-Max:4-27) gün içerisinde hastaların (n:50), 5'i (%10) Akut T Hücre Aracılı rejeksiyon, 1'i (%2) Antikor Aracılı Rejeksiyon geçirmiştir. Rejeksiyon geçiren hastalara rejeksiyon tanısı konduğu gün anti-T hücre antikorunu olan ATG (3-10 gün) uygulanmış ve uygulanan tedavi başarılı olup greft sağ kalımı sağlanmıştır.

Tez çalışmasına dahil edilen hastalardan 44'ü (%88) Stabil Greft Fonksiyonlu (SGF), 6'sı (%12) Rejeksiyonlu Hasta Grubundaydı (RHG). Bu grupların demografik bulguları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi.

Stabil greft fonksiyonlu ve rejeksiyonlu hasta gruplarının serum kreatinin seviyeleri karşılaştırıldığında, beklenildiği üzere RHG'da 7. Gün ve 1. ay SGF'den anlamlı olarak daha yüksekti (30). Nakil öncesi ve 6. ay serum kreatinin seviyelerinde ise anlamlı fark gözlenmedi.

Allogreft akut rejeksiyon, greftin kaybedilmesi, kronik rejeksiyonun gelişmesi ve hatta hastanın kaybedilmesine yol açan önemli bir komplikasyondur (85). T hücreler ve salgıladıkları çeşitli sitokinler, grefte karşı oluşan immün cevapta ve rejeksiyonun gelişmesinde major rol oynamaktadır (2). Akut rejeksiyon riskini belirleyen prediktif biyobelirteçlerin tanımlanması, hastanın immunolojik durumunu yorumlayabilmek ve etkili immüsupresif tedaviyi yönlendirebilmek için anahtar rolü görmektedir (86). Bizim çalışmamızda hastalar 6 ay takip edilmiş ve belli günlerinde (nakil öncesi, 7. Gün, 1.ay, 6.ay) IFN- $\gamma$  ve IL-17 sitokinlerinin hücre içi ve plazma seviyeleri tespit edilmiştir. Hücre içi sitokin akan hücre ölçer cihazıyla çalışılmış ve sadece 1.ay ve 6.ay değerleri istatistiksel analize alınabilmiştir. Hücre içi IFN- $\gamma$  için; SGF ve RHG karşılaştırıldığında, 1. ay ve 6. ay seviyeleri arasında anlamlı farklılık tespit edilmedi. IL-17 için; SGF ve RHG karşılaştırıldığında, 1.ay değerleri arasında fark saptanmazken,



6. ay değerlerinde, RHG'da daha yüksek bulundu. IL-17 sitokinin RHG'da 6.ay değerinin yüksek çıkması sebebiyle hastanın, immünolojik olarak uzun süreli takip edilmesi gerektiği düşünülebilir. IL-17 sitokinin takibi ilerde oluşabilecek kronik rejeksiyonu öngörmek ve doğru tedavi protokolleri oluşturmak açısından önemli olabileceği çalışmalarda gösterilmiştir (87). Jin ve ark (88) IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  sitokinlerinin, nakil sonrası hastaların immün profillerinin çıkarılmasıyla akut rejeksiyonun öngörülebileceğini savunmuşlardır. Bir diğer çalışmada da, IFN- $\gamma$ 'nın greft sağ kalım takibi için bakılması gerektiğini göstermiştir (2).

Rejeksiyonunun erken belirtilerinden biri greftte lenfosit birikimi ve onların aktive olmasıyla açıklanır. Aktive olmuş lenfositleri uyaran temel unsurlar allogreftte inflamasyon sürecini uzatır. Amirzargar ve ark'nın (89), lenfositleri uyaran unsurlardan olan sitokinlerin, rejeksiyonla olan ilişkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada, Th1 hücrelerinden salınan IL-2 ve IFN- $\gamma$  ve Th2 hücrelerinden salınan IL-4 ve IL-10 sitokinlerin serumdaki düzeylerini, nakilden önce ilk 24 saat ve nakil sonrası 1. ve 2. haftalarda incelemişlerdir. Th2 sitokinlerinde farklılık saptamamışlardır. Th1 sitokinlerinin ise akut rejeksiyon belirteci olarak kullanılmasının değerli olduğunu öne sürmüşlerdir. Tez çalışmamızda, hasta gruplarında IFN- $\gamma$  ve IL-17 sitokinlerinin plazma düzeyleri karşılaştırıldı. Nakil öncesi, 7.gün ve 6. ay IFN- $\gamma$  seviyeleri SGF ve RHG'da anlamlı farklılık görülmedi. Nakil öncesi IL-17 değeri ise RHG'da SGF'ye göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu.

Millan ve ark'ları (90) karaciğer transplantasyonlarında, hücre içi ve süpernatant IFN- $\gamma$  ve IL-2 sitokin seviyelerini, rejeksiyonlu ve rejeksiyonsuz hasta gruplarında karşılaştırmışlardır. Nakil sonrası 1.ayda baktıkları hücre içi ve süpernatant IFN- $\gamma$  seviyesini rejeksiyonlu hasta grubunda anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Tez çalışmamızda da, nakil öncesine göre ve bir önceki ölçüme göre değişimlerine bakıldığında, hücre içi değerlerde anlamlılık saptanmazken, plazma IFN- $\gamma$  ve IL-17 seviyeleri, 1. ayda nakil öncesine göre daha yüksek bulundu. Hücre içi ve plazma sitokin seviyelerinin arasındaki farkın, hücre içi sitokinin lenfositleri uyarak bakılmasından kaynaklı olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızda kan örneklerinin toplanıp testlenmesi için tüm hastalar 1 yıl süre ile takip edildi. Hastaların hücreleri dondurularak saklandı. Dondurulan hücreler çözdürüldüğünde, tüm örneklerin test için uygun olmadığı belirlendi. Test için uygun

olan 3 rejeksiyonlu hastanın hücre içi sitokin seviyesine bakılabildi. Bu sonuçlara göre hastaların rejeksiyon geçirdikleri gün IFN- $\gamma$  ve IL-17 değerleri oldukça yüksek bulunmuştur. Bu veriler Millan ve ark.'nın (86) yaptığı çalışma ile desteklenmektedir.

Bu tez çalışması, böbrek nakli olmuş hastaların immün yanıtlarında, sitokinlerin (Th1 için; IFN- $\gamma$ , Th17 için; IL-17) rollerini izleyen ve inceleyen bir araştırmadır. Bu bağlamda, nakil olmuş hastalarda nakil sonrası 6 aylık dönemde immün yanıtta meydana gelen değişimleri ve bu değişimler üzerine immünsupresif ilaçların etkisini laboratuvar bulguları ile birlikte değerlendirerek bir sitokin profili (Th1 için; IFN- $\gamma$ , Th17 için; IL-17) oluşturmayı hedeflemiştir. Bulgularımız, böbrek nakli olmuş hastalarda IL-17 ve IFN- $\gamma$  sitokin değerlerinin belirli günlerde (nakil öncesi, nakil sonrası 7.gün, 1.ay, 6.ay) bakılmasının, akut ve kronik rejeksiyon takibi için önemli olduğunu göstermiştir. Verilerimize göre, hücre içi sitokin tayini, plazmadan sitokin tayinine göre daha kesin ve güvenilir sonuçlar vermiştir. Çalışmanın, hücreler dondurulmadan taze kan ile yapılmasını ve hücre içi tayine ek olarak süpernatantta da bakılması gerektiğini düşünüyoruz.

Akut ve kronik rejeksiyonda sitokinlerin rolü ve rejeksiyon için biyobelirteç olabilirliği, çalışmaya farklı sitokinler ekleyerek ve çalışmanın takip süresi uzatılarak araştırıldığında daha anlamlı sonuçların çıkacağını öngörmekteyiz.

## KAYNAKLAR

- 1) Baker RJ. *Renal Transplantation*. Medicine 2011; **39**(8):448-55.
- 2) Nazari B, Amirzargar A, Nikbin B, Nafar M, Ahmadpour P, Einollahi B, Pezeshki ML, Khatami SMR, Ansaripour B, Nikuinejad H, Mohamadi F, Mahmoudi M, Soltani S, Nicknam MH. Comparison of the Th1, IFN $\gamma$  Secreting Cells and FoxP3 Expression between Patients with Stable Graft Function and Acute Rejection Post Kidney Transplantation. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2013; **12**(3):262-268.
- 3) Abadja F, Sarraj B, Ansari MJ. Significance of Th17 Immunity in Transplantation. *Curr Opin Organ Transplant*. 2012;**17**(1):8-14.
- 4) Liu Z, Fan H, Jiang S. CD4+ T-cell subsets in transplantation. *Immunological reviews*. 2013;**252**:183-191.
- 5) Dalman MJ, Morris P. *Böbrek Transplantasyonu*. Dördüncü Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 1994. pp.8-25.
- 6) Benitez F, Najafian N. Novel Noninvasive Assays to Predict Transplantation Rejection and Tolerance: Enumeration of Cytokine-Producing Alloreactive T Cells. *Clin Lab Med*. 2008;**28**:365-373.
- 7) Akoğlu E, Süleymanlar G. *Kronik Böbrek Yetersizliği, Temel İç Hastalıkları*, Ankara: Güneş Kitabevi; 1996. pp.769-776.
- 8) National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Di* 2002; **65**: 1-246.
- 9) Suleymanlar G, Utas C, Arinsoy T, Ates K, Altun B, Altiparmak MR, Ecdet T, Yilmaz ME, Camsari T, Basci A, Serdengeçti K. A population-based survey of Chronic Renal Disease in Turkey-the CREDIT study. *Nephrol Dial Transplant* 2011; **26**: 1862-1871.
- 10) Yasar C, Yıldız A. ve ark. Kronik Böbrek Hastalığında Beslenme Desteği. *İç Hastalıkları Dergisi* 2010;**17**:247-256.
- 11) Reilly RF, Perazella MA. Chronic Kidney Disease: a new approach to an old problem. *Conn Med*. 2002;**66**(10):579-83.

- 12) Türk Nefroloji Derneği. Ulusal Kayıt Raporları, Ulusal Hemodiyaliz, Transplantasyon ve Nefroloji 2012 Türkiye raporu.  
Erişim Tarihi: 12.03.2015 Erisim: <http://www.tsn.org.tr>.
- 13) Danovitch GM. *Böbrek Nakli El Kitabı*. Tuncay Karpuzoğlu, çeviri editörü. Üçüncü baskı. Ankara: Güneş Kitapevi; 2003. pp. 1-16.
- 14) Himmelfarb J, And Ikizler TA. Hemodialysis. *N Engl J Med* 2010; **363**:1833-1845.
- 15) William L, Henrich, MD. *Principles And Practice Of Dialysis*. 2nd ed. Philadelphia: Wolter Kluwer Company; 1999. pp. 180-234.
- 16) Titiz İ. *Renal Transplantasyona Pratik Yaklaşım*. Üçüncü Baskı 2010; Bölüm 2:21-27.
- 17) Sert Ş. *Böbrek Transplantasyonu El Kitabı*. 2001; pp. 9-15.
- 18) Kumbala D, Zhang R. Essential concept of transplant immunology for clinical practice. *World J Transplant* 2013;**3**(4):113-118.
- 19) Klein C, Brennan DC, HLA and ABO sensitization and desensitization in renal transplantation.  
Erişim Tarihi: 15.03.2015 Erişimi: <http://www.uptodate.com/contents/hla-and-abo-sensitization-and-desensitization-in-renal-transplantation>.
- 20) Montgomery RA. Renal transplantation across HLA and ABO antibody barriers: integrating paired donation into desensitization protocols. *Am J Transplant* 2010; **10**: 449-457.
- 21) Lakkis FG, Sayegh MH. Memory T cells: a hurdle to immunological tolerance. *J Am Soc Nephrol* 2003; **14**: 2402-2410.
- 22) Danovitch GM. *Handbook of kidney transplantation*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2005: 23-71.
- 23) Khan IE, Zhang R, Simon EE, Hamm LL. The allo-immunological injury in chronic allograft nephropathy. In: Gööz M, editor. *Chronic kidney disease*. Shanghai: InTech, 2012: 401-414.
- 24) Warren DS, Zachary AA, Sonnenday CJ, King KE, Cooper M, Ratner LE, Shirey RS, Haas M, Leffell MS, Montgomery RA. Successful renal transplantation across simultaneous ABO incompatible and positive crossmatch barriers. *Am J Transplant* 2004; **4**: 561-568.

- 25) Nankivell BJ, Alexander SI. Rejection of the Kidney Allograft. *N Engl J Med* 2010;**363**:1451-62.
- 26) Braun WE. Renal transplantation: basic concepts and evolution of therapy. *J Clin Apher.*2003;**18(3)**:141-52.
- 27) Solez K, Colvin RB, Racusen LC, Haas M, Mengel M, Halloran PF, Baldwin W ve ark. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant* 2008; **8**: 753-760.
- 28) Colvin RB. Antibody-mediated renal allograft rejection: diagnosis and pathogenesis. *J Am Soc Nephrol* 2007;**18**:1046-56.
- 29) Terasaki PI. Humoral theory of transplantation. *Am J Transplant* 2003;**3**:665-73.
- 30) Danovitch GM. *Böbrek Nakli El Kitabı*. Tuncay Karpuzoğlu, çeviri editörü. Üçüncü baskı. Ankara: Güneş Kitapevi; 2003. pp.290-312.
- 31) Danovitch GM. *Böbrek Nakli El Kitabı*. Tuncay Karpuzoğlu, çeviri editörü. Üçüncü baskı. Ankara: Güneş Kitapevi; 2003. pp.17-38.
- 32) Dragun D, Muller DN, Brasen JH, et al. Angiotensin II type 1-receptor activating antibodies in renal-allograft rejection. *N Engl J Med* 2005;**352**:558-69.
- 33) Feucht HE. Significance of donor-specific antibodies in acute rejection. *Transplant Proc* 2005; **14**: 592-598.
- 34) Larsen CP, Morris PJ, Austyn JM. Migration of dendritic leukocytes from cardiac allografts into host spleens: a novel pathway for initiation of rejection. *J Exp Med* 1990;171:307-14.
- 35) Hagerty DT, Allen PM. Processing and presentation of self and foreign antigens by the renal proximal tubule. *J Immunol* 1992;**148**:2324-30.
- 36) Trowsdale J, Parham P. Mini-review:defense strategies and immunity-related genes. *Eur J Immunol* 2004;**34**:7-17.
- 37) Braun WE, Yadlapalli NG. The spectrum of long-term renal transplantation: outcomes, complications and clinical studies. *Transplantation Rev* 2002; **16**: 22-50.
- 38) Denton MD, Magee CC, Sayegh MH. Immunosuppressive strategies in transplantation. *Lancet* 1999; **353**: 1083-1091.
- 39) Aydıngöz SE, Takematot SK, Pinsky BW et al. The impact of human leukocyte antigen matching on transplant complications and immunosuppression dosage. *Human Immunol* 2007; **68**:491-499.

- 40) Almeida CC, Silveira MR, de Araujo VE, Piros de Lemos LL, de Oliveira Costa J, Reis CAL, de Assis Acurcio F, das Gracas Braga Ceccato M. Safety of immunosuppressive drugs used as maintenance therapy in kidney transplantation: a systematic review and meta-analysis. *Pharmaceuticals* 2013; **6(10)**: 1170-1194.
- 41) Kasiske BL, Zeier MG, Chapman JR, Craig JC, Ekberg H, Garvey CA, Green MD, Jha V, Josephson MA, Kiberd BA, Kreis HA, McDonald RA, Newmann JM, Obrador GT, Vincenti FG, Cheung M, Earley A, Raman G, Abariga S, Wagner M, Balk EM. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients: a summary. *Kidney Int.* 2010 ;**77(4)**:299-311.
- 42) Sprangers B, Kuypers DR, Vanrenterghem Y. Immunosuppression: does one regimen fit all?. *Transplantation.* 2011;**92(3)**:251-61.
- 43) Cheung Cy, Chan Hw, Liu Yl, Chau Kf, Li Cs. Long-Term Graft Function With Tacrolimus And Cyclosporine In Renal Transplantation: Paired Kidney Analysis. *Nephrology (Carlton).* 2009;**14(8)**:758-63.
- 44) Hardinger Kl, Bohl Dl, Schnitzler Ma, Lockwood M, Storch Ga, Brennan Dc. A Randomized, Prospective, Pharmacoeconomic Trial Of Tacrolimus Versus Cyclosporine In Combination With Thymoglobulin In Renal Transplant Recipients. *Transplantation.* 2005 ;**80(1)**:41-6.
- 45) Halloran PF. Immunosuppressive Drugs For Kidney Transplantation. *N.Engl J Med.* 2004;**351**:2715-2729.
- 46) Abbas AK, Lichtman AH. *Temel immünoloji. İmmün Sistemin İşlev ve Bozuklukları.* Yıldız Camcıoğlu, Günnur Deniz, editörler. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık ;2007.pp. 1-20.
- 47) Abbas AK, Lichtman AH. *Cellular and Molecular Immunology.* Fifth Edition. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005. pp. 16-39.
- 48) Jensen PE. Recent advances in antigen processing and presentation. *Nat Immunol.* 2007;**8(10)**:1041-8.
- 49) Abbas AK, Lichtman AH. *Temel immünoloji. İmmün Sistemin İşlev ve Bozuklukları.* Yıldız Camcıoğlu, Günnur Deniz, editörler. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık ;2007.p. 184-188.
- 50) Larosa Df, Rahman Ah, Turka La. The Innate Immune System In Allograft Rejection And Tolerance. *J Immunol.* 2007;**178(12)**:7503-9.

- 51) Iwasaki A, Medzhitov R. Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. *Nat. Immunol* 2004;**5**:987–995.
- 52) Alegre ML, Leemans J, Le Moine A, et al. The multiple facets of toll-like receptors in transplantation biology. *Transplantation* 2008;**86**:1-9.
- 53) Kim IK, Bedi DS, Denecke C, Ge X, Tullius SG. Impact of innate and adaptive immunity on rejection and tolerance. *Transplantation* 2008;**86**:889-94.
- 54) Brown KM, Kondeatis E, Vaughan RW, et al. Influence of donor C3 allotype on late renal-transplantation outcome. *N Engl J Med* 2006;**354**:2014-23.
- 55) Zhou W, Medof ME, Heeger PS, Sacks S. Graft-derived complement as a mediator of transplant injury. *Curr Opin Immunol* 2007;**19**:569-76.
- 56) Sumitran-Holgersson S. Relevance of MICA and other non-HLA antibodies in clinical transplantation. *Curr Opin Immunol* 2008;**20**:607-13.
- 57) Womer KL, Sayegh MH, Auchincloss H Jr. Involvement of the direct and indirect pathways of allorecognition in tolerance induction. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2001;**356**:639-47.
- 58) Ely LK, Burrows SR, Purcell AW, Rossjohn J, McCluskey J. T-cells behaving badly: structural insights into alloreactivity and autoimmunity. *Curr Opin Immunol* 2008;**20**:575-80.
- 59) Csencsits KL, Bishop DK. Contrasting alloreactive CD4+ and CD8+ T cells: there's more to it than MHC restriction. *Am J Transplant* 2003;**3**:107-15.
- 60) Li XC, Rothstein DM, Sayegh MH. Costimulatory pathways in transplantation: challenges and new developments. *Immunol Rev* 2009;**229**:271-93.
- 61) Briscoe DM, Alexander SI, Lichtman AH. Interactions between T lymphocytes and endothelial cells in allograft rejection. *Curr Opin Immunol*. 1998;**10(5)**:525-31.
- 62) Cornell LD, Smith RN, Colvin RB. Kidney transplantation: mechanisms of rejection and acceptance. *Annu Rev Pathol* 2008;**3**:189-220.
- 63) Wyburn KR, Jose MD, Wu H, Atkins RC, Chadban SJ. The role of macrophages in allograft rejection. *Transplantation* 2005; **80**:1641-7.
- 64) Opal SM, DePalo VA. Anti-inflammatory cytokines. *Chest*. 2000;**117(4)**:1162-72.
- 65) Mosmann T. *Cytokines And Immune Regulation*. Rich Rr, (Ed): Clinical Immunology, Principles And Practice. Mosby, Missouri,1996, Pp.217-230.

- 66) Abbas AK., Lichtman AH. *Cellular and Molecular Immunology*. Fifth Edition. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005. pp. 1-14.
- 67) Firestein BGS, Budd RC, Gabriel SE, McInnes IB, Frce, Frse, O'dell JR, *Kelley's Textbook Of Rheumatology*, 9th Edition. Elsevier 2013; Pp. 369-380.
- 68) Jiang S, Herrera O, Lechler RI. New spectrum of allorecognition pathways: implications for graft rejection and transplantation tolerance. *Curr Opin Immunol* 2004;**16**:550–557.
- 69) Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 1986;**136**:2348–2357.
- 70) Coffman RL. Origins of the T(H)1-T(H)2 model: a personal perspective. *Nat Immunol* 2006; **7**:539–541.
- 71) Harrington LE, et al. Interleukin 17-producing CD4 + effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat Immunol* 2005;**6**:1123–1132.
- 72) Chang HC, et al. The transcription factor PU.1 is required for the development of IL-9-producing T cells and allergic inflammation. *Nat Immunol* 2010;**11**:527–534.
- 73) Duhon T, Geiger R, Jarrossay D, Lanzavecchia A, Sallusto F. Production of interleukin 22 but not interleukin 17 by a subset of human skinhoming memory T cells. *Nat Immunol* 2009;**10**:857–863.
- 74) Linterman MA, Liston A, Vinuesa CG. T-follicular helper cell differentiation and the co-option of this pathway by non-helper cells. *Immunol Rev* 2012; **247**:143–159.
- 75) Hoffmann SC, et al. Functionally significant renal allograft rejection is defined by transcriptional criteria. *Am J Transplant* 2005; **5**:573–581.
- 76) Barbara JA, et al. Islet allograft rejection can be mediated by CD4 + , alloantigen experienced, direct pathway T cells of TH1 and TH2 cytokine phenotype. *Transplantation* 2000; **70**:1641–1649.
- 77) Van Kooten C, et al. Interleukin-17 activates human renal epithelial cells in vitro and is expressed during renal allograft rejection. *J Am Soc Nephrol* 1998; **9**:1526–1534.



- 78) Tsaour I, et al. Donor antigen-specific regulatory T-cell function affects outcome in kidney transplant recipients. *Kidney Int* 2011; **79**:1005–1012.
- 79) Agorogiannis EI, Regateiro FS, Howie D, Waldmann H, Cobbold SP. Th17 cells induce a distinct graft rejection response that does not require IL-17A. *Am J Transplant* 2012; **12**:835– 845.
- 80) Karahan GE, Seyhun Y, Oguz FS, Kekik C, Onal AE, Yazici H ve ark. Impact of HLA on the underlying primary diseases in Turkish patients with end-stage renal disease. *Ren Fail* 2009; **31**: 44-49.
- 81) Chinen J, Rebecca HB, Transplantation immunology: Solid Organ and bone marrow *Allergy Clin Immunol*. 2010; **125(2)**: S324–S335.
- 82) Delgado JC, Eckels DD. Positive B-cell only flow cytometric crossmatch: implications for renal transplantation. *Exp Mol Pathol* 2008; **85**: 59-63.
- 83) Nickerson P. HLA matching and sensitization in Kidney Transplantation. *Canadian Council for Donation and Transplantation* 2006.
- 84) Hata Y, Cecka MY, Takemoto S, Ozawa M, Cho YW, Terasaki PI. Effects of changes in the criteria for nationally shared kidney transplants for HLA matched patients. *Transplantation* 1998; **65**:208-212.
- 85) Sadeghi M, Daniel V, Weimer R, Wiesel M, Hergesell O, Opelz G. Pre-transplant Th1 and post-transplant Th2 cytokine patterns are associated with early acute rejection in renal transplant recipients. *Clin Transplant* 2003; **17(2)**:151-7.
- 86) Millán O, Rafael-Valdivia L, San Segundo D, Boix F, Castro-Panete MJ, López Hoyos M, Muro M, Valero-Hervás D, Rimola A, Navasa M, Muñoz P, Miras M, Andrés A, Guirado L, Pascual J, Brunet M. Should IFN- $\gamma$ , IL-17 and IL-2 be considered predictive biomarkers of acute rejection in liver and kidney transplant? Results of an multicentric study. *Clinical Immunology* 2014; **154**: 141–154.
- 87) Deteix C, Attuil-Audenis V, Duthey A, Morelon and Olivier Thauinat Caligiuri G, Graff Dubois S, Patey EN, McGregor B, Dubois V. Intra-graft Th17 Infiltrate Promotes Chronic Rejection Lymphoid Neogenesis and Hastens Clinical. *J Immunol* 2010; **184**:5344-5351.
- 88) Jin ZK, Xu CX, Tian PX, Xue WJ, Mao TC, Duan WL, Xi M. Immune Monitoring in Kidney Transplant Recipients Could Predict Acute Rejection by a

New Method: Flow Cytometric Microcarrier Assay. *Transplantation Proceedings*. 2013;**45**:1508-1510.

- 89) Amirzargar A, Lessanpezeski M, Fathi A, Amirzargar M, Khosravi F, Ansari-pour B, Nikbin B. Th1/Th2 Cytokine Analysis in Iranian Renal Transplant Recipients. *Transplantation Proceedings*. 2005;**37**:2985-2987.
- 90) Millán O, Rafael-Valdivia L, Torrademé E, López A, Fortuna V, Sánchez-Cabus S, López-Púa Y, Rimola A, Brunet M. Intracellular IFN- $\gamma$  and IL-2 expression monitoring as surrogate markers of the risk of acute rejection and personal drug response in de novo liver transplant recipients. *Cytokine*. 2013;**61**:556–564.

## FORMLAR

### GÖNÜLLÜ OLUR FORMU METNİ

Sayın Hastamız,

Son dönemlerde yapılan çalışmalarda da bildirildiği gibi nakil öncesi ve sonrası hastaların immünolojik açıdan incelenmesi nakil başarılarında büyük öneme sahiptir. Nakil öncesi ve sonrası tetkikler bu sayede nakil yapılan organda meydana gelen herhangi bir aksamayı önceden haber verici özellikte olabilir. Bu aksaklıklardan önceden haberdar olunması organın uzun süre sağ kalması ve iyi çalışması için önemlidir.

İnsan vücudu kendinden olmayan her şeyi ortadan kaldırmak üzere programlanmıştır. Ancak, vücudun organı atması (rejeksiyon) olayının önceden öğrenilmesi ve bu durumun tersine çevrilmesi üzerine dünya her geçen gün yeni araştırmalar yapmaktadır. Bir organın vücut tarafından reddedilmesinde en önemli ve merkezi rolde lenfositler dediğimiz küçük küreler oynar. Bunlar bütün bağışıklık sistemini vücuda yabancı bir molekülü yok etmek üzere harekete geçirebilir. Bu sayede pek çok madde salgılatır (sitokinler). Bunlar yabancı molekülün olduğu yeri bulup yok edebilir. Bunlar özellikle nakil edilen böbreğe zarar verebilir. Bu moleküllerin belirli aralıklarla takibi sonucunda, bunların böbreğe zarar vermesi engellenebilir. Bu sayede vücudun organı atmaya yönelik saldırıları erken dönemde bilinip, önlenebilir.

Sizlerden vücudu koruyan maddeleri araştırmak üzere iki tüp kan alıp **“Böbrek Nakilli Hastaların İmmün Yanıtlarında Th17 ve Th1 Profilinin Değerlendirilmesi ”** başlıklı çalışmamız için kullanacağız. Bu kandan daha sonra hücre kültürü yapacağız. Bildiğiniz gibi böylesi az miktarda kan vermenin neredeyse hiçbir yan etkisi yoktur. Olası yan etkiler arasında baş dönmesi ve tansiyon düşmesine bağlı hafif baygınlık hissi sayılabilir. Böyle durumlarda kişi ferah ve düz bir ortamda birkaç dakika uzanarak, gerekirse ayakları havaya kaldırılarak bu hali atlatabilir. Alınan kanda yukarıda belirtilen küreciklerden salgılanan maddelere dair tetkikler fakültemiz Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında yapılacaktır. Araştırmamızın sonunda elde edeceğimiz bilgilerle, sitokinlerin organa olan etkisini daha önceden tespit etmiş olacağız. Bu çalışmanın sizin için herhangi bir masrafı yoktur. Kimliğiniz ile ilgili bilgiler gizli tutulacaktır. Verdiğiniz kan bağış olup, kanı verenin ve çalışmayı yapanın ticari bir

kazanç beklentisi yoktur. Ayrıca size ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, başka merkezlere yollanması ve işlenmesi konusunda bu çalışmayı yapan kişilere yetki veriyorsunuz. Yürütmekte olduğumuz bu çalışmanın sonuçları hakkında Ayşe EROL'dan bilgi alabilirsiniz.0554 461 46 72 numaralı telefonda kendisine ulaşıp bilgi alabilirsiniz.

Sayın Prof.Dr Fatma Savran OĞUZ tarafından İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" (denek) olarak davet edildim. Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağına bilincindeyim). Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Ayşe EROL İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'ndan arayabileceğimi biliyorum. Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir

memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı-soyadı, İmzası, Adresi (varsa telefon no, faks no)

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin Adı-soyadı, İmzası, Adresi (varsa telefon no, faks no)

Açıklamaları yapan araştırmacının Adı-soyadı, İmzası

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin Adı-soyadı, İmzası, Görevi

**ETİK KURUL KARARI**

T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ  
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



Sayı : 450

Tarih : 04.03.2014

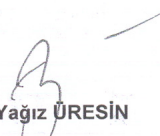
Konu : Prof.Dr. Fatma SAVRAN OĞUZ

Sayın Prof.Dr. Fatma SAVRAN OĞUZ  
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

İlgi : Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalının 14/02/2014 gün ve 63 sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Ayşe EROL'un yürüteceği 2014/409 dosya numaralı "Böbrek Nakilli Hastaların İmmün Yanıtlarında Th17 ve Th1 Profilinin Değerlendirilmesi" başlıklı çalışma kurulumuzun 21/02/2014 gün ve 04 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

  
Prof.Dr. A. Yağız ÜRESİN  
İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar  
Etik Kurul Başkanı

Eki: İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

<b>Adı</b>	Ayşe	<b>Soyadı</b>	EROL
<b>Doğ.Yeri</b>	Fatih	<b>Doğ.Tar.</b>	08/04/1988
<b>Uyruğu</b>	T.C.	<b>TC Kim No</b>	11620197018
<b>Email</b>	bioayseerol@gmail.com	<b>Tel</b>	05544614672

### Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
<b>Doktora</b>		
<b>Yük.Lis.</b>		
<b>Lisans</b>	Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı	2011
<b>Lise</b>	Bayrampaşa Anadolu Lisesi	2006

### İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma *	Yazma*		KPDS/ÜD S Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	Orta	Orta			

\*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
<b>LES Puanı</b>			
<b>(Diğer) Puanı</b>			

### Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Office Programları	İyi

### Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

### Özel İlgi Alanları (Hobileri):