

Organ Naklinde İnsan Lökosit Antijen Epitoplarının Araştırılması

Investigation of Human Leucocyte Antigen Epitopes in Organ Transplantation: Review

Tülay KILIÇASLAN AYNA,^{a,b}
İbrahim PİRİM^{a,b}

^aTıbbi Biyoloji AD,
İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi
Tıp Fakültesi,

^bDoku Tipleme Laboratuvarı,
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Tepecik Eğitim Araştırma Hastanesi,
İzmir

Geliş Tarihi/Received: 30.06.2016

Kabul Tarihi/Accepted: 20.01.2017

Yazışma Adresi/Correspondence:

Tülay KILIÇASLAN AYNA
İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi
Tıp Fakültesi,
Tıbbi Biyoloji AD, İzmir,
TÜRKİYE/TURKEY
tulayayna@gmail.com

ÖZET Organ nakli; böbrek, karaciğer, kalp yetersizliğinin, kemik iliği kök hücre nakli ise çeşitli hematolojik hastalıkların bir tedavi şeklidir. Ülkemizde ve dünyada en fazla yapılan organ nakli böbrektir. Böbrek naklinde, immünolojik açıdan önemli parametreler alıcı ve donör arasındaki kan grubu uyumu, insan lökosit antijen (HLA)'lerin uyumu, HLA'ya özellikle de donör HLA'sına özgü oluşan antikorlardır. HLA antikorları kan transfüzyonları, gebelik ve önceki nakiller nedeni ile gelişmektedir. Nakil öncesi donör HLA'sına özgü HLA antikorlarının varlığı hiperakut redlere sebep olur iken, yüksek oranda sensitiv olan hastaların uygun donör bulma şansı da azalmaktadır. Hastaların nakil şansını artırmak amacıyla farklı protokoller uygulanmaktadır. Bu protokollerden biri HLA antikorlarını parçalayan desensitizasyon tedavileridir. Kabul edilebilir uyumsuz HLA'lar ve tek antijen kaplı boncuklar olarak bilinen laboratuvar çalışmaları ile hastaların kabul edebileceği ve immün reaksiyon oluşturmayacak donör HLA'ları belirlenmektedir. Son yıllarda da HLA "matchmaker" olarak bilinen bilgisayar tabanlı programlar ile hasta ve donörün HLA'ları karşılaştırılmaktadır. Bu programlar, donörün antijenik uyarıya sebep olabilecek HLA epitoplarını belirlemektedir. Bu çalışmada, HLA epitoplarının organ nakillerindeki önemi üzerinde durulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Epitoplar; transplantasyon; HLA antijeni

ABSTRACT Organ transplantation is the accurate treatment of renal, liver and heart deficiency, while bone marrow stem cell transplantation is treatment of various hematological disorders. Renal transplantation is the most common organ transplantation in our country and the world. Blood group compatibility between donor and recipient, human leucocyte antigen (HLA) match, HLA specific, especially donor specific, antibodies are important immunological parameters in renal transplantations. HLA antibodies are produced due to blood transfusions, pregnancy and previous transplantations. The presence of pretransplant donor-specific anti-HLA antibodies lead to hyperacute rejections, and finding a compatible donor chance of hypersensitive patients decreases. Different protocols are applied in order to increase the transplantation chance of the patients. One of these protocols is desensitization therapies that degrade HLA antibodies. Acceptable mismatch HLAs that will not lead to immunological reactions are determined by using beads coated with single antigens and acceptable donor mismatch antigens. In recent years, HLA antigens of the patient and donor have been compared by computer based programs known as HLA matchmaker. These programs determine HLA epitopes of donor that may cause the antigenic response. This review is focused on the importance of the HLA epitopes in transplantation.

Key Words: Epitopes; transplantation; HLA antigens

Türkiye Klinikleri J Intern Med 2017;2(1):32-44

İnşan lökosit antijen [human leucocyte antigen (HLA)] uyumu molekülleri, insanda 6. kromozomun kısa kolu üzerine yerleşmiş genler tarafından kodlanan ve hücre yüzeyinde ekspres olan moleküllerdir.¹ Bu

moleküller protein özellikteki antijenlerin immün sistem hücrelerine sunulmasında önemlidir. HLA Sınıf I molekülleri CD8+ T sitotoksik hücrelere antijen sunumunda; Sınıf II molekülleri ise CD4+T yardımcı hücrelere antijen sunumunda görevlidir. Solid organ ve kemik iliği nakillerinde hasta ve verici (donör) arasındaki HLA uyumu nakilin başarısı açısından da önemlidir. Ülkemizde solid organ nakilleri içinde böbrek nakli en yaygın olandır. Böbrek nakli öncesinde hastada donörün HLA'larına özgü oluşan HLA antikoru titizlikle araştırılmalıdır.^{2,3} Zira bu antikoru varlığı hiperakut ve akut rejeksiyonlara neden olmaktadır. Aynı zamanda nakil sonrası dönemde de donör HLA'larına karşı da HLA antikoru gelişebilmektedir.⁴ Bu çalışmada, HLA'nın antikor reaksiyonlarının anlaşılmasına ışık tutulması amaçlanmıştır. Öncelikle bu reaksiyonlarda başrolü oynayan iki temel molekül antikor ve antijendir.

1. Antikor (İmmünglobulin, IgG): HLA antikoru kanda bulunan immünglobulin (Ig)'lerin %80'ini oluşturan IgG izotipindedir. Bu moleküller iki ağır iki hafif polipeptitten oluşmaktadır. g izotipindeki ağır zincir, moleküle adını vermektedir. Hafif zincirlerin ise %60'ı k, %40'ı l formundadır. Molekül, Fab olarak ifade edilen bölge ile antijen molekülüne bağlanmaktadır. Gerek ağır gerekse hafif zincirdeki ilk 100-110 aminoasit değişken bölgeyi oluşturmada ve antijene bağlanmada önemli rol oynamaktadır. Ayrıca, ağır ve hafif zincirlerde aşırı değişken bölge [complementary determining region (CDR)] olarak isimlendirilen aminoasit rezidüleri, antijen ile bağlanmada önemlidir. Ağır ve hafif Ig molekülleri değişken bölgelerinde üçer adet CDR (CDRH1, CDRH2, CDRH3 ve CDRL1, CDRL2 ve CDRL3) içermektedir. Antijenik molekül ile bağlanmada özellikle CDRH3 belirleyici rol oynamaktadır. Diğer CDR rezidüleri bağlanmaya destek sağlamaktadır.^{5,6}

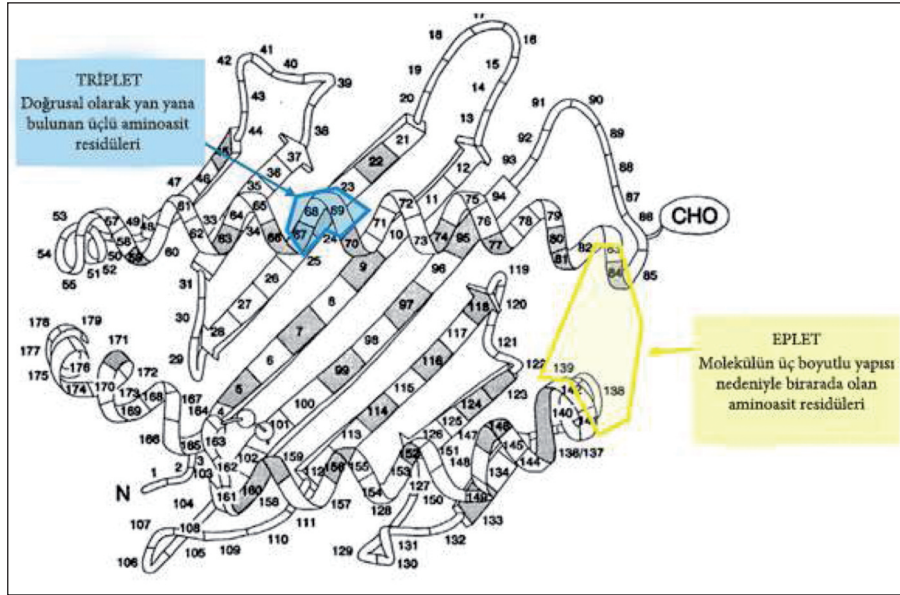
2. Antijen: Bir organizma için yabancı olan moleküller genel olarak antijen olarak ifade edilmektedir. Bir antijenin birden fazla antijenik özellik gösteren kısımlarına da epitop (antijenik determinant) adı verilmektedir. HLA molekülleri insanda bilinen en polimorfik moleküllerden biridir. Bu nedenle de birden fazla epitopa sahiptir.

Genel olarak üç tip epitop terimi kullanılmaktadır. Yapısal epitop, antijen ile antikorun bağlanma bölgesindeki 15-22 rezidüyü kapsar iken, fonksiyonel epitop, antikordaki CDR bölgeleri ile direkt kontak kuran 2-5 rezidüyü kapsamaktadır. Kriptik epitop ise gizli epitoplar olarak bilinmektedir. Bu epitoplar normalde antijenik bir uyarıya sebep olmaz iken, hücreye fagositoz ile alınan antijenlerin lizozomlarda parçalanması sonucu ortaya çıkan epitoplardır.^{5,6}

ANTİKOR-ANTİJEN BAĞLANMASI

Bağlanmada antijen ve antikor molekülleri arasındaki etkileşimler önemlidir. Bu etkileşimler polipeptit zincirlerini oluşturan aminoasitler arasında kurulmaktadır. Nonkovalent bağlanmalar antijene karşı gösterilen reaksiyonlarda önemlidir. Ortalama antikor-antijen bağlanmasında 70-120 H bağının rol oynadığı bilinmektedir. H bağları yanında iyonik bağlar, "van der waals" bağları hidrofobik etkileşimler kadar, antijen ve antikorun yapısal uyumu da önemlidir. Araştırmalar sonucunda, humoral immün reaksiyonlarda antijen üzerindeki tüm kontak alanının 690- 900 angrom (Å) olduğu saptanmıştır. Üstten görünen HLA molekülünün bağlanma oluğu da 750 Å'lık bir bağlanma alanına sahiptir. Antijen ile bağlanma sonucu antikor molekülünün üç boyutlu yapısında değişiklikler ortaya çıkmakta ve bu da reaksiyonun ilerlemesinde önemli rol oynamaktadır.^{5,7,8}

Böbrek naklinde, HLA tam uyumlu donörden yapılan nakiller ile düşük HLA uyumu olan donörlerden yapılan nakillerin greft sağkalımı oranlarının benzer olması, araştırmacıları HLA epitoplarının antikor ile etkileştiği bölgelere yoğunlaştırmıştır.⁹ Bu kapsamda 2000'li yılların başında Duquesnoy tarafından HLA "matchmaker" programı kullanılmaya başlanmıştır.⁹⁻¹¹ HLA "matchmaker", alloantikoru ortaya çıkarabilen immünojenik epitopların aminoasit dizisindeki polimorfizmleri esas alan bir bilgisayar programıdır. Temelde bu programın iki farklı sürümü vardır. Programın ilk sürümü üçlü aminoasit dizi uyumsuzluğu [triplet mismatch (tmm)] olarak adlandırılır ve HLA Sınıf I moleküllerine odaklanmıştır (Şekil 1).^{12,13} Bunun sebebi, HLA Sınıf I molekülleri tarafından uyarılan T-sitotoksik hü-



ŞEKİL 1: HLA Sınıf I molekülündeki triplet ve eplet yapısı.¹³

relerin immün reaksiyonlarının immünsupresif ilaç tedavileri ile kontrol altına alınamamasından kaynaklanmaktadır. HLA Sınıf I moleküllerinin immün reaksiyondaki rolünü saptamak için molekülün antikor ile etkileşen rezidüleri X ışını kristalografi çalışmaları ile saptanmıştır. Bu rezidülerin polimorfizmleri HLA-A, HLA-B ve HLA-C lokusları için ayrı ayrı belirlenir. Buna göre HLA-A lokusunda 30, B lokusunda 24 ve C lokusunda 19 polimorfik rezidü saptanmıştır.¹¹

Duquesnoy tarafından rapor edilen yayında, HLA Sınıf I molekülündeki polimorfik rezidüer Tablo 1’de görülmektedir.¹¹ Antikora erişebilecek pozisyonda olan aminoasitler, proteinin alfa-heliks (Şekil 1’de sarmal şeklinde görülen kısım) ve beta loop (Şekil 1’de köprü şeklinde olan kısım örneğin; 12S-20F bölgesi) kısımlarındadır.^{13,14} HLA “match-maker” programı, tmm (uyumsuz) sürümü ile Sınıf I antijeninin antikor ile etkileşen rezidüerlerin (kalıntı, belirli pozisyonlardaki aminoasitleri ifade etmektedir) üçlü aminoasit dizisini esas almaktadır. Hasta ve donörün tripletlerini karşılaştırarak alıcı-donör çifti arasında kaç tmm olduğunu saptamaktadır.^{11,15}

Triplet aminoasit rezidüer şekilde görüldüğü gibi adlandırılmaktadır (Şekil 2a). Bu tripletlerde

monomorfik rezidüer belirtilmemektedir (Şekil 2b, 2c).

Bu programın iki temel prensibi vardır. Bunlardan birincisi, her HLA antijeninin farklı polimorfik tripletlere sahip olduğu; ikinci ise hastaların kendi HLA antijenlerinin tripletlerini taşıyan epitoplara karşı antikor üretmeyebileceği görüşüdür. Bu özelliğinden dolayı, yüksek oranda sensitiv olan hastalarda nakil olma şansını artıracak belirtilmektedir. Duquesnoy’un 2001 yılında yaptığı çalışmadaki örnek Tablo 2’de görülmektedir.¹¹ Buna göre HLA doku tipi; HLA-A2, A31, B42, B53, Cw2 ve Cw7 olan yüksek oranda sensitiv olan böbrek hastasının 2 donörü olduğu düşünüldüğünde; birinci donörün HLA doku tipi; A2, A30, B51, B60, Cw4, Cw7, ikinci donörün doku tipi ise A2, A32, B8, B55, Cw3, Cw6’dır. Hasta ve iki donörü arasındaki HLA uyumu değerlendirildiğinde, her iki donörün de hasta ile benzer Sınıf I HLA uyumu olduğu görülmektedir. Tablo 2’de hasta ve iki donör adayının birer B antijeninin antikor bağlama bölgesindeki tripletleri karşılaştırılmaktadır. Birinci donörün B60 antijeninin lokus içi ve lokuslararası karşılaştırması sonucu 6 tmm var iken; ikinci donörün B8 antijeni ile tmm olmadığı görülmektedir. Belirtilen antijenler dışında A32, A74, B35, B56 ve B59 antijenleri ile de 0 tmm’dir.¹¹

TABLO 1: HLA Sınıf I moleküllerindeki polimorfik tripletler.

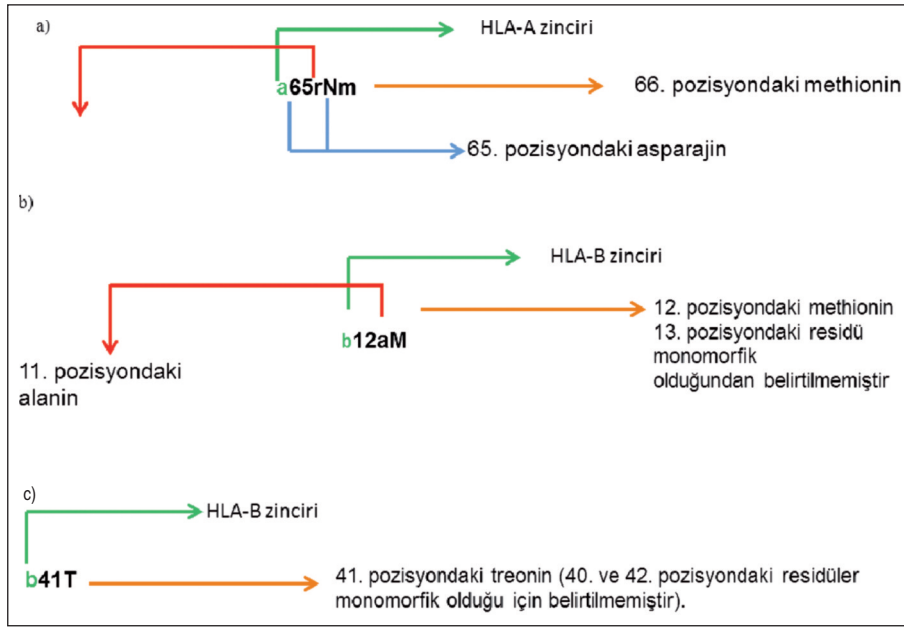
Pozisyon	HLA-A	HLA-B	HLA-C
9	F S T Y	D H Y	D F S Y
12	sV	sV aM Av	sV aV
14	R	R	R W
17	gR gS	gR	gR sR
41	A	A T	A
45	Me Kme	Ee Te Ge Ke Ma GeV	Ge
56	G R E	G	G
62	Rn Qe Ee Lq Ge	Rn Re Ge Re	Re
66	rKv rNm gKv rNm	qKy qlc qls qlY qlf rNm	qKy qNy
70	aQs aHs	aQa tNt aKa aSa rQa	rQa
74	D N H iD	D Y	D aD
76	An Vd En Es	Es En Ed Vs Vg	Vs V N
80	gTl rla	rla rNl rTl rTa	rNl rKl
82	aLr 1 Rg	aLr lrg llr	lrg
90	D A	A	A D
105	P S	P	P
107	G W	G	G
127	N K	N	N
131	R	R S	R
138	T	T	K T
142	I T	I	I
144	tKr tKh tQr	tQr tQl sQr	tQr
147	W	W L	W L
149	aVh aAh aAr tAh	aAr	aAr
151	vHa aHv aHAe aRv aRw aRr aHa	aRv aRe	aRt aRe aRa
156	L W R Q	W L D R	L R W
158	A V	A T	A
163	R T Dt E	L E T	T E L
166	Dg Ew	Ew Es Dg	Ew
171	Y H	Y H	Y
177	Et	Dt Et Dk	Kt Et
180	Q	Q E	Q
184	Dp Da	Dp	eP eH
186	K R	K	K
193	Av Pi	Pi Pv	Pv Pi
199	A	A V	A
207	G S	G	G
246	A S Va	A	A
248	V	V	V M
253	Ee Ke Qe	Ee	Ee Eq

Ayrıca, donörlerin tüm HLA antijenleri ile hastanın HLA antijenleri tmm açısından karşılaştırıldığında, birinci donör ve hasta arasında toplam 14 [A2 (0 tmm), A30 (4 tmm), B51 (1 tmm), B60 (6 tmm), Cw4 (3 tmm), Cw7 (0 tmm)] tmm var iken, ikinci donör ve hasta arasındaki tmm sayısı 0 [A2 (0 tmm), A32 (0 tmm), B8 (0 tmm), Cw3 (0 tmm) ve Cw6 (0 tmm)]'dir. Bu durumda uygun olan donör, donör 2'dir.

Panel reaktif antikor (PRA) testleri ile hastanın kabul edebileceği HLA doku tipi saptandığında, HLA "matchmaker" programı kabul edilebilecek ilave doku tipini de belirlemektedir. Yüksek oranda sensitiv olan bir hastanın HLA doku tipi ve PRA sonucu negatif olan HLA antijenleri Tablo 3'te görülmektedir (A1, A33, B8, Cw8).¹¹

Burada öncelikle PRA sonucuna göre, hastanın kabul edebileceği antijenlerin tripletleri belirlenir. Yukarıda görüldüğü gibi, tmm olmasına rağmen [A1 (2 tmm), A33 (10 tmm), B8 (4 tmm), Cw8 (1 tmm)] PRA sonucunun negatif olduğu belirlenmiştir. HLA "matchmaker" programına göre hastanın HLA tipi HLA-A69, B39, B67 ile 0 tmm'dir. Negatif PRA sonucuna neden olan HLA antijenlerin tmm derecesi saptanarak, benzer tmm'li diğer HLA antijenleri belirlenir. Bu hastanın HLA-A32, A36, A74, B42, B54, B55, B59, B64, B65 ile de düşük tmm'si vardır. Böylece hastanın kabul edebileceği HLA antijen sayısı artar. Bu da yüksek PRA'ya sahip olan hastaların nakil olma şansının artması anlamına gelmektedir.¹¹

Birkaç farklı HLA antijeninin tek bir antikor tarafından tanınması HLA'ları arasındaki çapraz reaksiyonlar olarak bilinir. Çapraz reaksiyonlar, çapraz reaktif grup [cross reaktive group (CREG)] antijenler arasındaki aminoasit sekanslarındaki ortak bölgelerden kaynaklanır. Bir başka ifade ile açıklayacak olursak, HLA'lar birden fazla epitoptan oluşan bir epitop takımına sahiptir. Bu epitoplardan bazıları o HLA molekülüne özgü iken, diğerleri başka HLA moleküllerinde de paylaşılabilir.^{6,16} Sonuçta bir A epitopuna özgü oluşan antikor, A epitopunu taşıyan diğer HLA molekülleri ile immün reaksiyon oluşturacaktır. İşte HLA



ŞEKİL 2a-c: HLA molekülündeki polimorfik triplet rezidüleri adlandırılması.

“matchmaker” programı bu epitoplara karşılaştırmak suretiyle daha az tmm olan donörün belirlenmesine de katkı sağlar. Duquesnoy’un çalışmasında verdiği, aynı CREG’de olan iki farklı hastanın (hasta X ve hasta Y) HLA “matchmaker” programı ile tmm sonuçları Tablo 4’te görülmektedir.¹¹

Son yıllarda HLA “matchmaker” programının ikinci sürümü eplet kullanılmaya başlanmıştır (Şekil 1). Eplet sürümü ile Sınıf I ve Sınıf II HLA’larının karşılaştırması yapılmaktadır. Yapısal epitoplara değerlendirildiği tmm yanında, eplet programı fonksiyonel epitoplara üzerine yoğunlaşmaktadır. Burada da polimorfik rezidüer ve yakın çevresinde bulunan diğer rezidüer değerlendirilmektedir. Yapısal epitoplarda iki farklı epitop yapısı karşımıza çıkmaktadır. Bunlardan birincisi tek yama (one patch) olarak bilinmektedir. Burada epitopun antijenik olması için en az bir adet nonself rezidü olmalı ve bu kısım antikörün CDR bölgeleri ile temas etmelidir. İkincisi ise iki yama (two patch) adını almaktadır. İki yama epitop modelinde iki farklı durum söz konusu olabilir. Yamalardan her ikisi de en az bir adet nonself rezidü içerebilir ya da yamalardan biri, bir ya da daha fazla nonself rezidüye sahip iken diğeri self rezidü-

lere sahip olabilir.^{7,9} Humoral mekanizmalar tam olarak anlaşılmasına rağmen, her bireyin kendi hücreleri üzerinde eksprese olan reseptörlerin epitoplara için düşük aviditeli B hücre repertuarına sahip olduğu bilinmektedir. Bu epitoplara, B hücrelerinin aktivasyonuna ve antikör üretimine sebep olmaz. Ancak, nonself rezidüer olduğunda B hücre aktivasyonuna self rezidüer katkı sağlamaktadır.¹⁰ İmmün reaksiyonda, yama modellerinde komşu rezidüer arasındaki mesafe önemlidir. Bu mesafe 3-3,5 Å’dır. Ayrıca, iki yama modelinde yamalar arasındaki uzaklık 7,5-14 Å civarında olmalıdır. Eplet sürümüne göre Sınıf I molekülleri (HLA-A, B, C) toplam 530 yamaya sahiptir. Bu yamaların çoğu molekülün a1 ve a2 bölgesindedir. 62-73 nolu rezidüer arasında 192, 76-83 no.lu rezidüer arasında 91 ve 142-152 no.lu rezidüer arasında 122 yama mevcuttur. Bazı rezidüerlerin yamaları HLA molekülünün antijen sunduğu kısımdaki cep kısımlarını da kapsamaktadır. Duquesnoy’un 2006 yılında yaptığı çalışmada verdiği 3 ve 3,5 Å yamadaki rezidüerlerle polimorfik olanlar Tablo 5’te görülmektedir. Sınıf II molekülleri ise sahip olduğu yamalar açısından değerlendirildiğinde, DR’de 74, DQ’da 103 ve DP’de 64 yama belirlenmiştir. Hem Sınıf I hem de Sınıf II moleküllerinin yamaları ço-

TABLO 2: HLA-A2,-A31,-B42,-B53,-Cw2,-Cw7 doku tipine sahip bir hastanın HLA-60 ve B-8 için triplet mismatchlerin araştırılması.

Hasta	Donör 1 HLA						Donör 2 HLA			
	A2	A31	B42	B53	Cw2	Cw7	B60	B8	B60	B8
HLA alleli	A*0201	A*3101	B*4201	B*5301	Cw*0202	Cw*0701	B*4001	B*0801	B*4001	B*0801
Polimorfizmler										
9	F	T	Y	Y	Y	D	H	D	NA	NA
12	sV	sV	sV	aM	aV	aV	aM	aM	NA	NA
14	R	R	R	R	R	R	R	R	NA	NA
17	gR	gR	gR	gR	gR	gR	gR	gR	NA	NA
41	A	A	A	A	A	A	T	A	NA	NA
45	Me	Me	Ee	Te	Ge	Ge	Ke	Ee	NA	NA
56	G	R	G	G	G	G	G	G	NA	NA
62	Ge	Qe	Rn	Rn	Re	Re	Re	Rn	NA	NA
66	rKv	rNv	qly	qlf	qKy	qKy	qls	qlf	NA	NA
70	aHs	aHs	aQa	tNt	rQa	rQa	tNt	tNt	NA	NA
74	H	iD	D	Y	D	aD	Y	D	NA	NA
76	Vd	Vd	Es	En	Vn	Vs	Es	Es	NA	NA
80	gTI	gTI	rNI	ria	rKI	rNI	rNI	rNI	NA	NA
82	Irg	Irg	Irg	aLr	IRg	Irg	IRg	IRg	NA	NA
90	A	A	A	A	A	D	A	A	NA	NA
105	A	S	P	P	P	P	P	P	NA	NA
107	W	G	G	G	G	G	G	G	NA	NA
127	K	N	N	N	N	N	N	N	NA	NA
131	R	R	R	S	R	R	R	R	NA	NA
138	T	T	M	M	T	T	M	M	NA	NA
142	T	I	I	I	I	I	I	I	NA	NA
144	tKh	tQr	tQr	tQr	tQr	tQr	NA	NA	sQr	tQr
147	W	W	W	W	W	L	NA	NA	L	W
149	aAh	aAr	aAr	aAr	aAr	aAr	NA	NA	aAr	aAr
151	aHv	aRv	aRv	aRv	aRe	aRa	NA	NA	aRv	aRv
156	L	L	D	L	W	L	NA	NA	L	D
158	A	A	A	A	A	A	NA	NA	A	A
163	T	T	T	T	E	T	NA	NA	E	T
166	Ew	Ew	Ew	Ew	Ew	Ew	NA	NA	Ew	Ew
171	Y	Y	Y	Y	Y	Y	NA	NA	Y	Y
177	Et	Et	DT	Et	Et	Et	NA	NA	Dk	Dt
180	Q	Q	E	Q	Q	Q	NA	NA	E	E
184	A	P	P	P	Eh	Ep	NA	NA	P	P
186	K	K	K	K	K	K	NA	NA	K	K
193	Av	Av	PI	Pv	Pv	PI	NA	NA	PI	PI
199	A	A	A	A	A	A	NA	NA	A	A
207	S	S	G	G	G	G	NA	NA	G	G
246	A	s	A	A	A	A	NA	NA	A	A
248	V	V	V	V	V	V	NA	NA	V	V
253	Q	Q	E	E	E	Eq	NA	NA	E	E

NA: Not Applicable. Ortak olmayan tripletler koyu ve altı çizili olarak gösterilmiştir; HLA: İnsan lökosit antijenleri.

ğunlukla molekülün üst ve yan yüzeyinde olmakla birlikte az sayıda yama HLA'larının alt veya dip kısmındadır.^{7,17,18}

HLA-A25 ve HLA-A26; HLA-A10 antijeninin (spliti) alt gruplarındandır. Moleküler yapı olarak birbirine oldukça benzeyen moleküllerdir. Her iki-

TABLO 3: Yüksek oranda sensitiv hastanın hücre paneliyle testleme sonucu saptanan kabul edebileceği HLA antijenleri (negatif reaksiyonlar) ve bu antijenlerin HLA “matchmaker” ile uyumsuz tripletleri.

Hastalar Pozisyon	Negatif reaksiyonlar									
	A2	A11	B7	B38	Cw2	Cw7	A11	A33	B8	Cw8
9	Y	Y	Y	Y	Y	D	F	T	Y	Y
12	Sv	Sv	Sv	aV	aV		sV	sV	aM	aV
14	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
17	Gr	Gr	Gr	Gr	Gr	Gr	Gr	Gr	Gr	Gr
41	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
45	Me	Me	Ee	Ee	Ge	Ge	Me	Me	Te	Ge
56	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
62	Qe	Qe	Rn	Rn	Re	Re	Qe	Rn	Rn	Re
66	rNv	rNv	qly	qlc	qKy	qNy	rNv	rNv	qlf	qKy
70	aQs	aQs	aQa	tNt	rQa	rQa	aQs	aHs	tNt	rQa
74	D	D	D	Y	D	AD	D	ID	D	D
76	Vd	Vd	Es	En	Vn	Vs	Vd	Vd	Es	Vs
80	gTL	gTL	rNI	ria	rKI	rNI	gTL	gTL	rNI	rNI
82	IRg	IRg	IRg	aLr	IRg	IRg	IRg	IRg	IRg	IRg
90	D	D	A	A	A	D	A	A	A	A
105	P	P	P	P	P	P	S	S	P	P
107	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
127	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
131	R	R	S	S	R	R	R	R	S	R
138	T	T	M	M	T	T	T	T	M	T
142	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
144	tKr	tKr	tQr	tQr	tQr	tQr	tKr	tQr	tQr	tQr
147	W	W	W	W	W	L	W	W	W	W
149	aAh	aAh	aAr	aAr	aAr	aAr	aAh	aAr	aAr	aAr
151	aHa	aHa	aRv	aRv	aRe	aRa	aHe	aRv	aRe	aRt
156	Q	Q	L	L	W	L	L	L	L	L
158	A	A	T	T	A	A	A	A	A	A
163	R	R	T	T	E	T	dT	T	L	T
166	Ew	Ew	Ew	Ew	Ew	Ew	Ew	Ew	Ew	Ew
171	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	H	H	Y
177	Et	Et	Et	Et	Et	Et	Et	Et	Et	Kt
180	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q
184	Dp	Dp	Dp	Dp	eH	eP	dP	dP	dP	eH
186	K	K	K	K	K	K	K	R	K	K
193	Pİ	Pİ	Pİ	Pİ	Pv	PI	Pİ	Av	Pv	Pv
199	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
207	G	G	G	G	G	G	G	S	G	G
246	A	A	A	A	A	A	A	S	A	A
248	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
253	E	E	E	E	E	E	E	Q	E	E

Ortak olmayan tripletler koyu ve altı çizili olarak gösterilmiştir.

sinde de 150TAH yaması vardır. HLA-A25 molekülünde 79-83. aminoasitler sırasıyla arjinin, izo-lösin, alanin, lösin ve arjinindir. IgG antikor bu

antijene V_H CDR3 ile 150 TAH yamasına ve V_L CDR3 ile de 79-83. rezidülere bağlanmaktadır. İki yama arasındaki mesafe 14 Å'dır. HLA-A26 mole-

TABLO 4: Aynı CREG'da olan iki farklı hastanın (hasta X ve hasta Y) HLA "matchmaker" programı ile tmm sonuçları.

Hasta X HLA tipi	Aynı CREG olmasına rağmen uyumsuz tmm'ler	Hasta Y HLA tipi	Aynı CREG olmasına rağmen uyumsuz tmm'ler
A2	A68 (2) A69 (1)	A2	A68 (2) A69 (1) A29 (4) A30 (5) A31 (3) A33 (4) A74 (0)
A31	A29 (3) A30 (4) A32 (0) A33 (2) A74 (0) B7 (2) B8 (0) B27 (6) B54 (1) B55 (0)	A32	B7 (4) B8 (3) B27 (7) B42 (3) B54 (1)
B42	B56(0) B60 (6) B61 (4)	B55	B56 (0) B60 (9) B61 (5)
B53	B35 (0) B49 (4) B50 (4) B51 (1) B52 (2) B57 (3) B58 (2) B70 (1)	B35	B49 (5) B50 (4) B51 (2) B52 (3) B53 (1) B57 (4) B58 (3) B70 (1)

HLA: İnsan lökosit antijenleri; CREG: Çapraz reaktif grup; tmm: triplet mismatch.

külünde ise 150TAH yamasının yanı sıra 79-83. aminoasitler glisin, treonin, lösin, arjinin ve glisin vardır. İki yama arasındaki mesafe 14 Å'dan fazladır. Bu durumda HLA-A25'e spesifik antikor (monoklonal antikor) HLA-A26 antijenine bağlansa bile immün reaksiyon gerçekleşmemektedir. Bu durum antikorun C1q molekülüne (antikora bağlı kompleman yolağını aktive eden) bağlanabilmesi için gerekli yapısal değişikliğin sağlanamamasından kaynaklanmaktadır. Bu özellik sitotoksiste negatif, absorpsiyon pozitif [cytotoxicity-negative absorption-positive (CYNAP)] olarak adlandırılmaktadır.^{7,18}

Yine bir başka yayında, gebelik sonucu oluşan HLA-A3'e spesifik antikorun HLA-A3'ün 62QE yamasına bağlandığı belirlenmiştir. Bu antikorun A30 ve A31 dışında 62QE yaması bulunan tüm antijenlerle immün reaksiyon verdiği saptanmıştır. HLA "matchmaker" programı ile anti-HLA A3 monoklonal antikoru ile test edilen HLA'ların epitop özellikleri incelendiğinde, bu monoklonal antikorun reaksiyon verdiği tüm antijenlerde 56. pozisyonda (ikinci yama) alanin aminoasiti var iken, A30 ve A31'de arjinin aminoasiti olduğu belirlenmiştir. Bu iki örnek immün reaksiyonlarda ikinci yamanın etkinliğini göstermektedir. İşte CREG'lerde de bu benzer yama özelliği humoral reaksiyonlarda önemlidir.^{7,14}

Eplet programı HLA'lar tarafından paylaşılan polimorfik yamaların "overlapping (çakışan)" gruplarını değerlendirir. Eplet programında sonuçlar değerlendirilir iken yüksek çözünürlükle çalışılan HLA tiplemesi de bu yama özellikleri ve antikor reaksiyonlarının anlaşılmasında önemlidir. Örneğin;

HLA-A23 ve HLA-A24, HLA-A9'un alt gruplarıdır. A*2301, A*2402, A*2403 ve A*2407 allellerindeki 63 EEK ve 65 GK yamalarına spesifik bir antikor gelişir ise dört allele de immün reaksiyon gerçekleşmektedir. A*2407'deki 66 EGKQ yaması 70. pozisyonda glutamine (Q) sahip iken; A*2301, A*2402, A*2403 aynı yamanın 70. pozisyonunda histidin (H) bulunmaktadır. Bu durumda A*2407'ye karşı oluşan monoklonal antikor 70Q'ya spesifiktir ve sadece A*2407 ile reaksiyon vermektedir.^{19,20}

Ülkemizde de olduğu gibi birçok ülkede, böbrek nakli öncesinde HLA Sınıf II moleküllerinden sadece *DRB1* genleri tiplenmektedir. Ayrıca eplet programı ile alıcı ve donör arasında DRB1, DRB3, DRB4, DRB5 molekülleri karşılaştırıldığında DRB3, DRB4, DRB5 molekülleri alıcı donör çiftinde uyumsuz eplet (tek ya da çift yamaları ifade ediyor) sayısı önemli miktarda etkilemektedir. Yine Sınıf II moleküllerinden HLA-DQ tiplemesi de önem kazanmaktadır. Nitekim son yıllarda birçok yayında böbrek nakli sonrası anti-HLA-DQ antikorların oluştuğu belirtilmektedir.²¹⁻²³ Duquesnoy 2008 yılındaki çalışmasında, eplet programında *DR* genlerinin yanında DQ epletlerinin de uyumsuzluğa katkısını göstermiştir (Tablo 6).²⁴

Son yıllarda, HLA tiplemesinin antijen düzeyinde değil, yüksek çözünürlüklü tipleme yöntemleri ile allel düzeyinde yapılmasının önemi ve allel düzeyindeki sonuçların HLA epitoplarının anlaşılması üzerine katkısı vurgulanmaktadır. *HLA-A, B, C, DR, DQ* genleri son derece polimorfiktir. Tablo 6'da görüldüğü gibi, yüksek çözünürlükte doku tipleme testlerinin yapılması HLA epitoplarındaki eplet yapıları ile ilgili daha fazla bilgi verecektir.^{25,26}

TABLO 5: HLA Sınıf I antijenlerinin 3,0-3,5 Å pozisyonundaki polimorfik ve monomorfik rezidüleri.

Sekans pozisyonu	Sınıf I lokusu	Moleküler yerleşimi	Yüzey maruziyeti	3 Å yamadaki r pozisyonla	3,5 Å yamadaki pozisyonlar
1	C	Yan kısımda	+	1 2	1 2 3
6	C	Yan kısımda	+	5 6 27	5 6 27
9	ABC	Yan kısımda	±	8 9 10	8 9 10 23
12	BC	Altyan kısımda	+	11 12 13 21	11 12 13 21 92 94
14	C	Yan kısımda	+	14 15 16 19 39	14 15 16 17 18 19 39
17	A	Yan kısımda	++	14 16 17 18	14 15 16 17 18
21	C	Altyan kısımda	±	20 21 22 39	14 19 20 21 22 23 39
30	B	Altyan kısımda	+	29 30 31 21 1	29 30 31 210 211
32	B	Altyan kısımda	±	31 32 33	27 31 32 33 48
35	C	Yan kısımda	±	35 36 48 85 3	35 36 46 48 853
41	B	Yan kısımda	++	40 41 42	40 41 42 43
44	A	Yan kısımda	++	43 44 45	36 42 43 44 45 61
45	B	Yan kısımda	+	44 45 46	35 44 45 46 64
46	B	Yan kısımda	+	35 45 46 47	35 44 45 46 47 48
56	A	Yan kısımda	+	55 56 57 59	54 55 56 57 58 59
62	A	Üst kısımda	++	61 62 63	59 61 62 63 64 65 66
63	ABC	Üst kısımda	±	59 62 63 64 P2	59 61 62 63 64 65 66 P2
65	ABC	Üst kısımda	++	61 64 65 66 69	61 62 64 65 66 68 69
66	ABC	Üst kısımda	++	65 66 70 P2	62 64 65 66 68 69 70 P1 P2
69	B	Üst kısımda	++	65 68 69 70 73	65 66 68 69 70 72 73
70	ABC	Üst kısımda	+	66 69 70	66 68 69 70 72 73
71	B	Yan kısımda	+	70 71 72	68 69 70 71 72 73 75
73	AC	Üst kısımda	+	72 73 77	69 70 72 73 77
76	A	Üst kısımda	++	75 76 77 80	72 73 75 76 77 79 80 P9
77	ABC	Üst kısımda	±	73 76 77 78 P8 P9	73 75 76 77 78 79 80 P8 P9
79	ABC	Üst kısımda	++	78 79 80	76 78 79 80 82
80	ABC	Üst kısımda	++	76 79 80 84	76 78 79 80 82 83 84
82	AB	Yan kısımda	+	80 82 86 87	79 80 82 83 86 87 88 89
83	AB	Üst kısımda	++	82 83 84 86	79 80 82 83 84 85 86
90	ABC	Yan kısımda	++	89 90 91	88 89 90 91
94	BC	Altyan kısımda	±	93 94 95 119	93 94 95 118 119
103	BC	Yan kısımda	±	2 103 104	2 103 104 108 110
105	A	Yan kısımda	++	104 105 106	1 104 105 106 107
107	A	Yan kısımda	++	160 107 108 169	105 106 107 108 169 173 180
109	A	Yan kısımda	+	108 109 110	108 109 110 111 112
113	BC	Altyan kısımda	+	102 112 113 114	98 102 112 113 114
114	ABC	Altyan kısımda	±	113 114 115 126	98 113 114 115 125 126
116	ABC	Altyan kısımda	±	115 116 123 124	115 116 123 124
127	A	Yan kısımda	++	127 128 132	127 128 129 132 133 134
131	B	Yan kısımda	++	129 130 131 132	129 130 131 132
138	C	Yan kısımda	++	137 138 139 141	137 138 139 140 141
142	A	Üst kısımda	++	138 141 142	138 139 141 142 144 145 146
143	B	Üst kısımda	±	142 143 144 P9	141 142 143 144 145 146 P9
144	A	Yan kısımda	+	144 145 148	133 141 142 144 145 146 148
				141 144 145 146	

devamı →

TABLO 5: Devamı.

147	BC	Üst kısımda	±	146 147 148	151 P8
149	A	Üst kısımda	++	145 148 149 150	145 146 148 149 150 151
150	A	Üst kısımda	+	149 150 151	146 148 149 150 151
151	A	Üst kısımda	++	150 151 152	148 149 150 151 154 155
152	ABC	Üst kısımda	±	151 152 155	150 151 152 154 155 P7
158	AB	Üst kısımda	++	157 158 159	154 155 157 158 159
161	A	Üst kısımda	++	157 161 162	157 159 161 162
163	A	Üst kısımda	+	162 163 167	159 162 163 166 167 P1
166	A	Üst kısımda	++	162 165 166 167	162 163 165 166 167 169 170
167	AB	Üst kısımda	++	163 166 167	163 165 166 167 169 170
173	C	Yan kısımda	++	169 172 173 174	169 170 172 173 174 176
177	ABC	Yan kısımda	++	176 177 178	176 177 178
178	B	Yan kısımda	+	177 178 181	176 177 178 180 181

Polimorfik pozisyonlar kalın ve altı çizili olarak gösterilmiştir.

TABLO 6: Sınıf II tiplmesi belirtilen hastanın farklı donörlerle uyumsuz epletlerinin karşılaştırılması.

Hasta Serolojik tipleme	Moleküler tipleme				Eplet total	DRB1 eplets	DRB3/4/5 eplets	DQB1 eplets	DQA1 eplets
	DRB1	DRB3/4/5	DQB1	DQA1					
DR15	DRB1*1501	DRB5*0101	DQB1*0502	DQA1*0102					
DR18	DRB1*0302	DRB3*0101	DQB1*0402	DQA1*0401					
Donör									
DR1	DRB1*0101	NONE	DQB1*0501	DQA1*0101	9	5	0	2	2
DR4	DRB1*0401	DRB4*0101	DQB1*0301	DQA1*0302	42	8	14	9	11
DR7	DRB1*0701	DRB4*0101	DQB1*0202	DQA1*0202	41	10	14	10	7
DR8	DRB1*0801	NONE	DQB1*0402	DQA1*0401	4	4	0	0	0
DR9	DRB1*0901	DRB4*0101	DQB1*0303	DQA1*0302	36	6	14	5	11
DR10	DRB1*1001	NONE	DQB1*0501	DQA1*0101	12	8	0	2	2
DR11	DRB1*1101	DRB3*0202	DQB1*0301	DQA1*0501	22	3	2	9	8
DR12	DRB1*1201	DRB3*0202	DQB1*0301	DQA1*0501	26	7	2	9	8
DR13	DRB1*1301	DRB3*0101	DQB1*0603	DQA1*0103	12	2	0	7	3
DR14	DRB1*1401	DRB3*0202	DQB1*0503	DQA1*0104	11	4	2	2	3
DR15 (self)	DRB1*1501	DRB5*0101	DQB1*0602	DQA1*0102	6	0	0	6	0
DR16	DRB1*1601	DRB5*0202	DQB1*0502	DQA1*0102	2	0	2	0	0
DR17	DRB1*0301	DRB3*0101	DQB1*0201	DQA1*0501	17	0	0	9	8
DR18 (self)	DRB1*0302	DRB3*0101	DQB1*0402	DQA1*0401	0	0	0	0	0

Ayrıca, son yıllarda özellikle yüksek oranda HLA antikoruna sahip olan hastalara tek HLA antijeni kaplı boncuklar [single antigen bead (SAB)] kullanılarak kabul edebilecekleri dokular saptanmaktadır. Bu boncukları kaplayan HLA allelleri yüksek çözünürlüklü yöntemlerle test edilmiştir. Bu özelliği ile daha spesifik sonuçların elde edilmesi anti-

korların tanınmasına ve greft sağkalımına katkı sağlayacaktır.²⁷⁻²⁹ SAB tekniği ile HLA-antikorları tarafından epitoplardan tanınması, kabul edilebilir HLA uyumsuzluklarının belirlenmesinde anahtar rol oynamaktadır. Aynı zamanda HLA “matchmaker” programının transplantasyon açısından öneminin belirlenmesinde de önemlidir. Resse ve

ark. tarafından yayımlanan bir çalışmada, HLA “matchmaker” epletleri ve SAB çalışmasının sonuçları değerlendirilmiştir. Bu çalışmada kalp transplantasyonu için bekleme listesine kaydedilen bir hastanın gebelik süresince kocasından çocuğuna geçen HLA’ları ile immünizasyonu ele alınmaktadır. Hastanın HLA-A*02:01, A*24:02, B*35:01, B*51:01, C*04:01, eşinin HLA-A*02:01, A*26:01, B*18:01, B*58:01, C*06:02. SAB analizlerinde B*58:01, C*06:02, B*57:01 ve B57:03 allelleri ile kaplı boncuklarda ortalama floresan yoğunluğu [mean fluorescence intensity (MFI)] değerleri yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar HLA “matchmaker” programı ile karşılaştırılmıştır. Antikor gelişen tüm allellerde 65 RNA ve 82 ALR epletlerinin oluşturduğu çift yama özelliği saptanmıştır. Bu alleller dışında SAB tekniğinde mevcut ve 65RNA epletine sahip çok sayıda allel vardır. Ancak bunlar 82ALR epletine sahip değildir. Ayrıca, 82ALR epleti hastanın A*24:02 ve B*51:01 allellerinde de mevcuttur. Çalışmadaki diğer bir husus, 65RNA ve 82ALR taşıyan allellerden A*25:01, A*32:01 ve B*15:16 allelleri SAB ile negatif olarak değerlendirilmiştir. HLA “matchmaker” programı ile bu allellerin aminoasit residüleri B*58:01 ile karşılaştırıldığında 94. residüde izolösinin treonin aminoasitine değişmiş olduğu saptanmıştır. Bu değişikliğin epitop yapısını etkileyerek antikor bağlanması üzerinde etkili olabileceği düşünülmüştür.¹⁰

Lomago ve ark. tarafından yayımlanan bir çalışmada, kuzeninden böbrek nakli yapılan bir hastada eplete spesifik oluşan antikorların farklı allellerle reaksiyon verdiği saptanmıştır. Nakil öncesi lenfositotoksik “cross match” negatif olan hastada, nakilden yaklaşık bir ay sonra SAB tekniği ile B*44:02 ile reaksiyon verir iken, B*44:03 ile reaksiyon vermeyen anti-HLA antikorları saptanmıştır. Hastanın doku tiplemesi yüksek çözünürlükle çalışıldığında B*44:03 antijeni belirlenmiştir. HLA “matchmaker” programı ile B*44:02’de 156DA epleti olduğu ve bu epletin vericideki C*07:04 allelinde de bulunduğu belirlenmiştir. 156 DA epleti bir grup HLA-B allelinde de (B*08:01, B*37:01, B*41:01, B*42:01, B*44:02) paylaşılmaktadır. Alıcının serumundaki antikorun tüm bu allellerle reaksiyon verdiği saptanmıştır.³⁰

Gebelik de novo anti-HLA’ların araştırılmasında kullanılan cazip bir modeldir. İlk gebeliklerin

%30’unda Sınıf I HLA antikorlarının geliştiği SAB kullanılarak saptanmıştır. Ocak 2016 tarihine kadar uluslararası epitop kaydı ile ilgili web sitesinde (www.epregistry.com.br) 81 adet antikor çalışmaları ile doğrulanmış HLA-ABC epitopları listelenmiştir. Bunların 62’si tek bir eplete (tek yama), 19’u ise eplet çiftlerine (iki yama) özgüdür. Homozigot A*02:01 tiplemesi yapılan ve gebelik döneminde babadan çocuğa geçen A*01:01 alleli, indüklenen antikorların A2, A68 ve A69 haricindeki 166DG ve 90D taşıyan tüm HLA-A allelleri ile reaksiyon verdiği saptanmıştır. A2, A68 ve A69 allellerinin 138 MI epletini paylaştığı ve bu epletin antikor antijen bağlanmasında önemli rol oynadığı saptanmıştır. Bir başka HLA antikor araştırmasında; A*24:02, A*32:01 tiplemesi yapılan gebelik döneminde babadan çocuğa geçen A*02:01 ile immünize edilen antikorların SAB panelindeki A*23:01, A*24:03, A*25:01 ve self alleller olan A*24:02, A*32:01 dışındaki tüm A allelleri ile reaksiyon verdiği saptanmıştır. HLA “matchmaker” programı ile sonuçlar değerlendirildiğinde, tüm allellerin 144 TKH ve 62GE epitoplarını taşıdığı, ancak bu epitopların yanı sıra 79GT epleti taşıyan allelleri ile reaksiyon saptandığı görülmüştür. Yani 79GT epleti immün reaksiyon için esastır.³¹ Gebelik sonrası Sınıf II antikorlarının araştırıldığı bir çalışmada da DRB1*08:01 ve DRB1*15:01 tiplemesi yapılan ve gebelik döneminde babadan çocuğa geçen DRB1*01:01 alleli indüklenen antikorlar SAB ve HLA “matchmaker” programı ile değerlendirilmiştir. Burada iki yama özelliği gösteren epitop yapısının immün reaksiyonların oluşmasında önemli olduğu saptanmıştır. İki yamada 67LQ ve self residü 60Y taşıyan allellerle güçlü immün reaksiyon saptanmıştır.²⁶

SONUÇ

Sonuç olarak, hasta ve donör arasındaki HLA uyumunun, kemik iliği ve solid organ nakillerinde başarıyı etkilediği uzun yıllardır bilinmektedir. Bu nedenle de 1960’lı yıllarda başlayan HLA alanındaki çalışmalar artarak devam etmektedir. Yüksek çözünürlüklü HLA tiplemenin yanı sıra, allellere spesifik antikorların belirlenmesi ve HLA analiz programlarının geliştirilmesi de bu alana katkı sağlayacaktır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması veya finansal destek bildirmemiştir.

Yazar Katkıları

Literatür taraması, derlemenin planlanması ve yazılması: Tülay Kılıçaslan Ayna; **Derlemenin okunması, genel değerlendirme:** İbrahim Pirim.

KAYNAKLAR

1. Reali G. [The HLA system and the major histocompatibility complex in humans]. *Pathologica* 1975;67(973-974):439-51.
2. Chinen J, Buckley RH. Transplantation immunology: solid organ and bone marrow. *J Allergy Clin Immunol* 2009;125(2 Suppl 2): S324-35.
3. Bray RA, Nickerson PW, Kerman RH, Gebel HM. Evolution of HLA antibody detection: technology emulating biology. *Immunol Res* 2004;29(1-3):41-54.
4. Picascia A, Sabia C, Grimaldi V, Montesano ML, Sommese L, Schiano C, et al. Lights and shadows of anti-HLA antibodies detected by solid-phase assay. *Immunol Lett* 2014;162(1 Pt A):181-7.
5. Kirkham PM, Schroeder HW Jr. Antibody structure and the evolution of immunoglobulin V gene segments. *Semin Immunol* 1994;6(6): 347-60.
6. MacCallum RM, Martin AC, Thornton JM. Antibody-antigen interactions: contact analysis and binding site topography. *J Mol Biol* 1996;262(5):732-45.
7. Duquesnoy RJ. A structurally based approach to determine HLA compatibility at the humoral immune level. *Hum Immunol* 2006;67(11): 847-62.
8. Duquesnoy RJ. The Antibody Response to HLA Mismatch: Putting Together the Pieces of a Puzzle. *Am J Transplant* 2015;15(12): 3019-20.
9. Lucas DP, Leffell MS, Zachary AA. Differences in immunogenicity of HLA antigens and the impact of cross-reactivity on the humoral response. *Transplantation* 2015; 99(1):77-85.
10. Resse M, Paolillo R, Minucci BP, Moccia G, Napoli C. Antibody-reactive class I epitopes defined by pairs of mismatched eplets and self-eplets. *Tissue Antigens* 2015;86(5): 368-72.
11. Duquesnoy RJ. HLAMATCHMAKER: a molecularly based donor selection algorithm for highly alloimmunized patients. *Transplant Proc* 2001;33(1-2):493-7.
12. Takemoto S, Port FK, Claas FH, Duquesnoy RJ. HLA matching for kidney transplantation. *Hum Immunol* 2004;65(12): 1489-505.
13. Tambur AR, Claas FH. HLA epitopes as viewed by antibodies: what is it all about? *Am J Transplant* 2015;15(5):1148-54.
14. Duquesnoy RJ, Mulder A, Askar M, Fernandez-Vina M, Claas FH. HLAMatchmaker-based analysis of human monoclonal antibody reactivity demonstrates the importance of an additional contact site for specific recognition of triplet-defined epitopes. *Hum Immunol* 2005;66(7):749-61.
15. Dankers MK, Witvliet MD, Roelen DL, de Lange P, Korfage N, Persijn GG, et al. The number of amino acid triplet differences between patient and donor is predictive for the antibody reactivity against mismatched human leukocyte antigens. *Transplantation* 2004; 77(8):1236-9.
16. Mulder A, Eijssink C, Kester MG, Franke ME, Kardol MJ, Heemskerck MH, et al. Impact of peptides on the recognition of HLA class I molecules by human HLA antibodies. *J Immunol* 2005;175(9):5950-7.
17. Duquesnoy RJ. HLA matching at the epitope level: the way to go. *Clin Transpl* 2013;441-51.
18. Duquesnoy RJ. HLAMatchmaker: a molecularly based algorithm for histocompatibility determination. I. Description of the algorithm. *Hum Immunol* 2002;63(5):339-52.
19. Getzoff ED, Tainer JA, Lerner RA, Geysen HM. The chemistry and mechanism of antibody binding to protein antigens. *Adv Immunol* 1988;43:1-98.
20. Duquesnoy RJ, Gebel HM, Woodle ES, Nickerson P, Baxter-Lowe LA, Bray RA, et al. High-Resolution HLA Typing for Sensitized Patients: Advances in Medicine and Science Require Us to Challenge Existing Paradigms. *Am J Transplant* 2015;15(10): 2780-1.
21. Lee H, Min JW, Kim JI, Moon IS, Park KH, Yang CW, et al. Clinical Significance of HLA-DQ Antibodies in the Development of Chronic Antibody-Mediated Rejection and Allograft Failure in Kidney Transplant Recipients. *Medicine (Baltimore)* 2016; 95(11):e3094.
22. Fujimoto T, Nakada Y, Yamamoto I, Kobayashi A, Tanno Y, Yamada H, et al. A refractory case of subclinical antibody-mediated rejection due to anti-HLA-DQ antibody in a kidney transplant patient. *Nephrology* 2015; 20(2):81-5.
23. Carta P, Di Maria L, Caroti L, Buti E, Antognoli G, Minetti EE. Anti-human leukocyte antigen DQ antibodies in renal transplantation: Are we underestimating the most frequent donor specific alloantibodies? *Transplant Rev (Orlando)* 2015;29(3):135-8.
24. Duquesnoy RJ. Clinical usefulness of HLAMatchmaker in HLA epitope matching for organ transplantation. *Curr Opin Immunol* 2008;20(5):594-601.
25. Duquesnoy RJ, Gebel HM, Woodle ES, Nickerson P, Baxter-Lowe LA, Bray RA, et al. High-Resolution HLA Typing for Sensitized Patients: Advances in Medicine and Science Require Us to Challenge Existing Paradigms. *Am J Transplant* 2015;15(10): 2780-1.
26. Duquesnoy RJ, Hönger G, Hösli I, Marrari M, Schaub S. Identification of epitopes on HLA-DRB alleles reacting with antibodies in sera from women sensitized during pregnancy. *Hum Immunol* 2016;77(2): 214-22.

27. Bettinotti MP, Zachary AA, Leffell MS. Clinically relevant interpretation of solid phase assays for HLA antibody. *Curr Opin Organ Transplant* 2016;21(4):453-8.
28. Soyöz M, Kılıçaslan-Ayna T, Özkızılcık-Koçyiğit A, Güleç D, Pirim İ. Single antigen flow beads for identification of human leukocyte antigen antibody specificities in hypersensitized patients with chronic renal failure. *Cent Eur J Immunol* 2016;41(1):93-100.
29. Kılıçaslan Ayna T, Özkızılcık Koçyiğit A. Detection of anti-HLA antibodies by flow cytometry. *Flow Cytometry* 2016; 131-53.
30. Lomago J, Jelenik L, Zern D, Howe J, Martell J, Zeevi A, et al. How did a patient who types for HLA-B*4403 develop antibodies that react with HLA-B*4402? *Hum Immunol* 2010;71(2): 176-8.
31. Duquesnoy RJ, Hönger G, Hösl I, Marrari M, Schaub S. Detection of newly antibody-defined epitopes on HLA class I alleles reacting with antibodies induced during pregnancy. *Int J Immunogenet* 2016;43(4): 200-8.