

Böbrek Transplantasyonunda Rejeksiyon Mekanizmaları ve Biyobelirteçleri

Rejection Mechanisms and Bioindicators in Kidney Transplantation

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

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

^bDoku Tipleme Laboratuvarı Kliniği,
Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
İzmir, TÜRKİYE

Received: 11.10.2018

Received in revised form: 05.12.2018

Accepted: 14.12.2018

Available online: 04.01.2019

Correspondence:

Tülay KILIÇASLAN AYNA
İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi
Tıp Fakültesi,

Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, İzmir,
TÜRKİYE/TURKEY
tulayayna@gmail.com

ÖZET Organ transplantasyonu, organ yetmezliklerinin tedavisinde önemli bir seçenektir. Dünyada ve ülkemizde böbrek transplantasyonu en çok yapılan organ transplantasyonudur. Hem kadavra donörün hem de canlı donörün organ kaynağı olarak kullanılması son dönem böbrek yetmezliği olan birçok hastanın nakil olmasına imkân sağlamaktadır. Transplante edilen organın normal fonksiyonlarını yapabilmesi hastanın yaşam kalitesini yükselttiği gibi, ülke ekonomisine de katkı sağlamaktadır. Uzun ömürlü bir böbrek sağkalımı için transplantasyon immünolojisinin iyi anlaşılması önemlidir. Bu bağlamda değerlendirme için hasta ve donör arasındaki doku uyumu, immün sistem hücrelerinin yabancı organı tanıma mekanizmaları, bu süreçte görev alan hücreler, moleküller göz önünde bulundurulmalıdır. Son yıllarda geliştirilen hücresel ve solid faz tekniklerinin birlikte kullanımı ile anti-insan lökosit antijenleri antikorlarının saptanması, özellikle hiper akut rejeksiyonların önüne geçen önemli bir yeniliktir. Ancak, uzun dönemde ortaya çıkan rejeksiyonlar ve graft yetmezlikleri hâlen organ nakil merkezleri için bir sorun olmaya devam etmektedir. Bilim insanlarının, greft ve hasta arasındaki immüno-lojik ilişkinin anlaşılması amacıyla yeni biyobelirteçler bulma girişimleri devam etmektedir. Bu bağlamda hastadaki bazı genlerin ekspresyon düzeyleri, hasta ve donör arasındaki gen polimorfizm farklılıkları ve protein ekspresyon düzeyindeki değişiklikler kan ve idrar örneklerinde değerlendirilmektedir. Ayrıca, son birkaç yıldır greft dokusundaki harabiyet nedeni ile kan ve idrara geçen serbest donör DNA'ları bu amaçla araştırılmaktadır. Bu çalışmada, T ve B-hücrelerinin temel rol oynadığı immün yanıt tipleri ile böbrek rejeksiyon mekanizmaları ve yeni biyobelirteçler hakkında bilgi verilmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Böbrek transplantasyonu; doku-organ reddi; sinyal iletimi; gen ekspresyonu; biyobelirteçler

ABSTRACT Organ transplantation is a significant option for organ failure treatment. In our country and all around the world, kidney transplantation is the most common solid organ transplantation. The availability of deceased as well as related donors allows a number of patients with end stage renal failure to be transplanted. Normal functionality of allografts will increase life quality of the patients as well as contribute to national economy. The well understood of transplantation immunology is important for long-term graft survival. Thus, histocompatibility of recipient and donor, recognition mechanisms of immune system cells for allograft, the cells and molecules that play roles in this process, and production of donor specific antibody should be considered for the evaluation. Recently, the detection of anti-human leukocyte antigen antibodies by utilization of cellular and solid phase techniques together has been an important novelty that prevents especially hyperacute rejections. However, long-term rejections and graft failures are still issues for organ transplant centres. Scientist continue their attempts to find new biomarkers in order to understand the immunological relationship between the graft and the patient. In this context, expression levels of some genes in the patient, the gene polymorphism differences between donor and recipient, and the alterations at protein expression levels are evaluated in blood and urine samples. In recent years, cell free donor DNAs that pass through blood and urine due to graft tissue destruction, have been investigated. In this review, the information about immune response types in which T and B-cells play the main role and rejection mechanisms and new biomarkers will be given.

Keywords: Kidney transplantation; graft rejection; signal transduction; gen expression; biomarkers

Normal fonksiyonunu yerine getiremeyen doku veya organların yerine sağlıklı doku ve organların transfer edilmesine transplantasyon adı verilmektedir. Aynı türün genetik olarak farklı bireyleri arasında yapılan ve nakli ifade eden allojenik transplantasyon, organ yetmezliklerinde gün geçtikçe kullanımı artan bir tedavi seçeneğidir.¹ Böbrek transplantasyonu ülkemizde ve dünyada en çok uygulanan solid organ transplantasyonudur.^{2,3}

İNSAN LÖKOSİT ANTİJENLERİ (HLA)

Böbrek transplantasyonunda alıcı ve vericinin (donör) AB kan grubu uyumu, insan lökosit antijenleri [human leukocyte antigen (-HLA)] uyumu ve alıcıdaki HLA'ya özgü antikolar (anti-HLA antikor) başarıyı önemli ölçüde etkilemektedir.^{4,5} Böbrek nakli yapılabilmesi için alıcı ve donör çiftleri arasında A, B, O kan grubu uyumu olmalıdır.⁶ Transplantasyondaki başarıyı etkileyen diğer parametre çiftler arasındaki HLA uyumudur. HLA bölgesi 6. kromozom üzerinde yer almaktadır ve 4 Mb büyüklüğündedir. Bu bölge insan genomundaki genlerin %0,1'ini içermektedir, 20'den fazla gen immün sistem ile ilişkilidir. İnsan genomunda hastalıklarla en güçlü bağlantının olduğu bölge yine HLA'dır. Transplantasyon açısından HLA'daki önemli genler sınıf I bölgesindeki HLA-A, -B, -C ve sınıf II bölgesindeki HLA-DR, -DQ, -DP'dir.⁷ Bu bölgelerin önemi yüksek polimorfizmlerinden kaynaklanmaktadır. 2018 verilerine göre toplam 18.181 HLA alleli olduğu açıklanmıştır. Bunların 13.324'ü sınıf I, 4.857'si sınıf II allelidir. Bu kadar büyük bir çeşitliliğe sahip HLA allel havuzu içinde organ alıcılarının tam uyumlu donör bulma şansı oldukça düşüktür.⁸ Yukarıda bahsedilen HLA bölgesinden kodlanan proteinler transmembran proteinlerdir. Bunlardan sınıf I HLA proteinleri büyük bir alfa (α) zinciri kodlamaktadır. Alfa zinciri aminoasit katlanmaları ile üç alfa domaini oluşturmaktadır. Bunlardan α_1 ve α_2 peptit bağlama oluğunu oluşturmaktadır. Sınıf I molekülleri 8-10 aminoasitlik intrinsek peptitlerin CD8⁺ T-hücrelerine sunumunda görev yapmaktadır. Sınıf I molekülündeki diğer α domaini olan α_3 ise sitotoksik T-hücrelerindeki CD8 molekülü ile etkileşmekte-

dir.⁴ Bu etkileşim, sınıf I molekülü ile T-hücresi arasındaki ilişkiyi güçlendirmektedir. Ayrıca, sınıf I molekülünde 15. kromozomdaki bir genden kodlanan β_2 mikroglobulin α zincirinin hücre membranındaki stabilizasyondan sorumludur.⁴ β_2 mikroglobulinin bu özelliği bilindiğinden, yakın zamanda yapılan bazı çalışmalarda transplantasyon sonrasında nakledilen organın (allogreft) sağkalımını arttırmak amacıyla allogreftteki β_2 mikroglobulin geni sessizleştirilmesi hedeflenmiştir. Bu şekilde domuzlara yapılan allojenik akciğer transplantasyonlarının kısa dönem sonuçları ümit vericidir.⁹ Sınıf II HLA moleküllerini kodlayan iki gen (α ve β genleri) bulunmaktadır. Ayrı ayrı sentezlenen α ve β zincirleri bir araya gelerek sınıf II molekülünü oluşturmaktadırlar. Her iki zincir de ikişer domain içermektedir. α_1 ve β_1 domainleri sınıf II moleküllerinin peptit bağlama oluğunu oluşturmaktadırlar. Buraya 10-20 aminoasitlik peptitler bağlanarak CD4⁺ T yardımcı hücrelere antijenik determinantların sunumu sağlanmaktadır. Buraya bağlanan peptitler hücre dışı (eksternal) peptitlerdir ve yardımcı T-hücrelerinin yüzey moleküllerinden olan CD4'ün sınıf II molekülünün β_2 domaini ile ilişkili olduğu da belirlenmiştir. Sınıf I ve sınıf II molekülleri arasındaki bir diğer farklılık ise eksprese olduğu hücre grubu ile ilgilidir. Sınıf I molekülleri tüm çekirdekli hücrelerde eksprese olur iken, sınıf II molekülleri sadece antijen sunan hücreler (ASH)'de bulunmaktadır. HLA moleküllerinin peptit bağlama oluğunun tabanında cepler bulunmaktadır. Peptit antijenlerin aminoasitlerinin yan zincirleri bu ceplere girmekte ve peptitlerin HLA molekülünün oluğuna tutunmasını sağlamaktadır. Antijenik peptitlerin T-hücre reseptörü (THR)'nde kontak kurduğu aminoasitler bulunmaktadır. Bu sayede HLA'nın antijen bağlama bölgesindeki peptit, THR ile kontak kurmaktadır. HLA sınıf I ve II moleküllerinin antijen bağlama mekanizması birbirinden farklıdır. Sınıf I molekülleri sitoplazmada proteozomlarda yıkılmış ve TAP (transporter associated with antigen processing) porları ile endoplazmik retikuluma (ER) gelen kısa peptitleri bağlamaktadır. Peptit-HLA kompleksi veziküllerle hücre yüzeyine taşınmaktadır. Sınıf II molekülleri ER'de sentezlenmektedir. Endozomlara alınan eksternal peptitlerle geç endozomlarda karşılaşmakta-

dır. Peptit fragmentleri Sınıf II moleküllerinin antijen bağlama oluşuna bağlandıktan sonra yine veziküllerle birlikte hücre yüzeyine taşınmaktadır.⁴ Allojenik transplantasyonda alıcı T-hücrelerine antijenlerin sunumunda görev yapan hücreler ASH olarak da bilinen dendritik hücreler (DH), makrofajlar ve B-hücreleridir. Bu hücreler içinde DH'lerin bazı özellikleri, onları T-hücresi yanıtını başlatan en verimli ASH'ler yapmaktadır. DH'ler, mikroorganizmaların ve yabancı antijenlerin yaygın giriş yaptığı yerlerde ve mikroorganizmaların kolonize olabildiği dokularda stratejik olarak konumlanmıştır. Mikroorganizmaları yakalayabilmelerini sağlayan reseptörleri [toll benzeri reseptörler "toll like receptor (TLR)", mannoz bağlayan lektin reseptörleri vb.] eksprese etmektedirler. Bu hücreler lenfatikler aracılığıyla epitelyum ve dokulardan, lenf düğümlerinin T-hücre bölgelerine göç etmektedirler. DH'ler, naif T lenfositlerini aktive etmek için gerekli olan peptid-HLA komplekslerini, kostimülatörleri ve sitokinleri yüksek düzeyde eksprese etmektedirler. Bu özelliğinden dolayı da diğer ASH'lerden 100-1.000 kat daha T-hücre aktivasyonuna sebep olmaktadır.^{4,10} Bir DH 100-3.000 T-hücresini aktive edebilmektedir.¹¹

ALLOTANIMA

Allogreft rejeksiyonu transplantasyon başarısızlığının önemli bir nedenidir. Allotanıma sensitizasyon aşaması ile başlamaktadır. Bu aşamada antijenik peptidin ASH'ler tarafından ikincil lenfoid organlarda T-hücrelerine tanıtılması gerçekleşmektedir. Bu tanıma ile oluşan efektör hücreler greftte kan ve lenf kanalları yolu ile ulaşarak allotanımanın ikinci aşaması olan rejeksiyonu başlatmaktadır. Bu alanda yapılan çalışmalar, allogreft rejeksiyonunun genellikle humoral (veya antikora dayalı), hücresele (veya lenfositlere dayalı) veya her iki mekanizma ile meydana geldiğini göstermiştir. Transplantasyonda allogreftin tanınması üç farklı şekilde olmaktadır. Bunlar; direkt tanıma, indirekt tanıma ve semi direkt tanımadır.^{12,13}

Direkt tanıma: Bu tanıma, transplantasyona özel bir immün tanımadır. Donör türevli ASH'ler ve endotel hücreleri de dâhil olmak üzere donör hücrelerinin yüzeyinde bozulmamış HLA mole-

küllerinin alıcı T-hücrelerince tanınmasını içermektedir. Karışık lenfosit kültür testinin direkt tanımanın klinik sonuçlarını gösterebilecek bir test olduğu bilinmektedir. Alıcı hücreleri donör hücrelerini yabancı olarak tanıdığına proliferasyon olmaktadır ve ortamdaki sitokin havuzu da immün reaksiyon ile ilişkilidir. Bu testin akut rejeksiyonun bir göstergesi olarak kullanılabilmesi belirtilmektedir. Direkt tanıma rol oynayan T-hücrelerin frekansının, periferik kandaki tüm T-hücrelerinin %1-10'u olduğu tahmin edilmektedir. Direkt tanıma iki farklı model önerilmektedir. İlk model T-hücrelerinin direkt yol ile alloaktivasyonunun peptitten bağımsız bir süreç olabileceğini öne sürerken, başka bir model doğrudan alloaktivasyonun peptit bağımlı olduğunu önermektedir.^{12,13} Örneğin; verici HLA'sı alıcı HLA'sından yapısal olarak farklı olduğunda, alloreaktif T-hücrelerinin allopeptitten bağımsız olarak allo-HLA molekülünün kendisindeki polimorfik kalıntıları doğrudan tanıyabileceği önerilmektedir.¹³ Diğer modelde ise etkili allotanımanın olması için klasik sunumun olması gerektiği önerilmektedir. Yani alıcı ve verici HLA'ları farklı olduğu durumda doğrudan allopeptitten bağımsız olarak allo-HLA tanınır iken, alıcı ve donör HLA'ları benzer olduğu durumlarda donör HLA-allopeptit yapısının direkt yolla T hücre alloreaksiyonuna sebep olduğu düşünülmektedir. Direkt tanıma olgunlaşmamış DH'lerin olgunlaşarak sekonder lenfoid organlara transferi önemlidir. Yolcu lökositler de denilen bu hücrelerin olgunlaşmasında inflamatuvar sinyaller ile iskemi ve reperfüzyon hasarı sonucu oluşan sinyaller önemlidir. Bu süreç allogreft içinde sitokin ve kemokin ekspresyonu ve reaktif oksijen türlerinin oluşumuna neden olmaktadır; DH'lere gelen uyarılar, özellikle TLR'lerin aktivasyonu ile MyD88 ve TRIF'nin sinyal yolları aktive etmektedir. Bu da sekonder lenfoid organlara DH'lerin göçünü sağlamaktadır.¹³ Allogreftteki TLR'lerin nakavt edilmesinin, iskemi-reperfüzyon hasarının derecesini düşürdüğü gösterilmiştir.¹⁴ Olgunlaşmış DH'ler lenfatik sistemle lenf nodlarına göç etmekte ve parakortekste peptitten bağımsız ve peptit bağımlı modellerle T-hücrelerini uarmaktadır. Sınıf II HLA molekülleri aracılığıyla CD4⁺ T-hücreleri aktive olduğunda B-hücreleri, sitotoksik T-hücreleri,

fagositer hücreler gibi birçok hücrenin aktivasyonunu sağlamaktadır. Aktive olan hücreler ve anti-kor sitokin gibi immün moleküller allogreftte nakledilmektedir. DH'ler sınıf I HLA antijenleri de ekspresye ettiğinden, peptiden bağımsız olarak CD8⁺ sitotoksik T-hücrelerini aktive edebilmekte ya da peptit bağımlı olarak da endozomdan sitoplazmaya kaçan peptitler sınıf I moleküllerince CD8⁺ T-hücrelerine sunulmak suretiyle alloreaktif T hücreleri aktive olmaktadır. CD8⁺ T-hücrelerinin, allogreft ile doğrudan etkileşimi yoluyla endotel hücrelerin yıkımına ve sonuçta akut rejeksiyona aracılık ettiği gösterilmiştir. Allotanimada B-hücrelerinin aktive edilmesi ile oluşan plazma hücrelerinden donöre spesifik antikörlerin sentezlenmesi allogreft patolojisinde önemlidir. Çünkü bu antikörler greftin endotel ve diğer hücrelerine bağlanarak kompleman proteinlerinin aktivasyonu ve sonuçta da allogreftte membran atak komplekslerinin oluşumu ile hücre harabiyetine sebep olmakta ya da kompleman aktivasyonuna neden olmayan bir antikör bile olsa natural killer (NK) hücreleri ve makrofajlar gibi antikör reseptörlerine sahip hücreler tarafından greft hücreleri haraplanabilmektedir. Allogreft rejeksiyonunda direkt tanımayı etkileyen bazı faktörler de mevcuttur. Bunlardan birincisi timustaki negatif seleksiyondur. T-hücreleri olgunlaşma sırasında kendi HLA'larını ve kendi peptitlerini tanımakta ve bu moleküllerle zayıf etkileşim göstermektedirler. Güçlü etkileşim gösteren T-hücreleri negatif seleksiyon ile yok edilmektedir. Bu da T-hücrelerinin alıcı HLA'larından allo-HLA'ları ayırt etmesini kolaylaştırılmaktadır. İkincisi viral enfeksiyonlardır. T-hücrelerinin viral enfeksiyonlarla aktive edilmesi hücre yüzey molekülleri ile sitokin ve kemokin havuzunun değişmesine sebep olmaktadır ve sonuçta alloreaktif T-hücrelerinin aktivasyonunu tetikleyebilmektedir. Bu heterolog immün yanıt olarak adlandırılmaktadır. Çeşitli çalışmalarda, viral enfeksiyonlardan sonra heterolog immün yanıtın alloreaktif T-hücrelerin aktivasyonunu başlattığı gösterilmiştir.^{13,15,16} Üçüncüsü, allogreft kaynaklı yolcu lökositlerin sayısıdır. Kabaca T-hücrelerini aktive edecek ASH (özellikle DH) sayısı arttıkça, aktive olacak T-hücre sayısı da artmaktadır. Yaşla birlikte immün sistem hücrelerinin sayısı

azalmaktadır. Bu açıdan bakıldığında, yaşlı donörden yapılan nakillerde direkt allotanımaya aracılığıyla alloreaktif T-hücrelerin aktivasyonu gençlerden daha zayıftır. Son olarak, allogreft kaynaklı ASH'lerin HLA ekspresyon düzeyi de direkt tanıma bakımından önemlidir. Allotanimada sırasında HLA-T-hücre reseptörü (THR) etkileşimi ile başlayan immün aktivasyonda koreseptörlerin ekspresyonu önem kazanmaktadır. Koreseptörler, kostimülatörler (immün sistemi aktive edenler) ve koinhibitörler olarak iki ana başlıkta toplanmaktadır. Kostimülatörler ve koinhibitörler arasındaki denge immün reaksiyonun şiddetini ve yönünü belirlemektedir. HLA-THR etkileşimine rağmen kostimülatör sinyallerin eksikliği tolerans mekanizmasının gelişimini sağlamakta ve anergi denilen immün yanıtı ortaya çıkarmaktadır. Yine bu hücre-hücre etkileşimleri sırasında ortamdaki sitokin içeriği de immün yanıtın yönünün belirlenmesinde önemlidir.¹³

İndirekt tanıma: T-hücresinin bu yolak ile aktivasyonu alloimmüniteye özgü değildir. Yabancı antijenlerin işlenmesi ve yabancı peptit antijenlerin T-hücrelerine sunumu için başlıca fizyolojik mekanizmayı kapsamaktadır. İndirekt tanıma aracılığı ile alloimmün yanıtta T-hücresi aktivasyonunun kronik rejeksiyon gelişiminde işlev gördüğü bilinmektedir. T-hücrelerin indirekt tanıma yoluyla alloaktivasyonu, greft alloantijenlerinin alıcı ASH'ler tarafından işlenmesinin ve ardından allopeptidin lenfoid organlarda alıcı CD4⁺ T-hücrelerine sunumunun bir sonucudur. Bu süreç, karşılıklı olarak birbirini dışlayan üç mekanizma yoluyla oluşmaktadır. Birincisi, donör hücre zarları ve/veya alloantijenler, allogreftten dolaşıma boşaltılmakta ve sekonder lenfoid doku içinde bulunan alıcı DH'ler tarafından fagosite edilebilmektedir. İkincisi, sekonder lenfoid dokulara göç eden donör hücreleri, alıcı DH'ler tarafından fagositize edilebilmektedir. Üçüncü olarak, dolaşımla grefte gelen alıcının ASH'leri, greftteki alloantijenleri (muhtemelen apoptotik veya nekrotik intragreft hücrelerden) fagosite edebilmekte ve daha sonra dolaşımla yine sekonder lenfoid dokularda, alıcı T-hücrelerini aktive edebilmektedir.¹³ Alloantijen ile aktive olan T-hücreleri, direkt tanımda bahsedilen mekanizmalarla CD8⁺ T-hücreleri, B-hücreleri, makrofaj ve NK hücrelerini aktive edebilmektedir. İndirekt yanıtı

yönlendiren baskın alloantijenler, zaman zaman değişmektedir, dolayısıyla indirekt T-hücre yanıtı da zamanla değişecektir; bu süreç epitop kayması olarak adlandırılmaktadır.¹⁷ Direkt tanımanın aksine, indirekt tanıma ile aktive edilen T-hücrelerinin prekürsör frekansı çok düşüktür (1/milyon T-hücreden daha azdır). Bununla birlikte, epitop kayması indirekt tanımanın kalıcı olmasına ve poliklonal aktivasyonun ortaya çıkmasına neden olduğundan önemlidir. Alıcılarda indirekt tanıma ile kalıcı T-hücre aktivasyonunun kronik rejeksiyon ile ilişkisi saptanmıştır.¹³

Kendini kısıtlama (self restricted), T-hücre aktivasyonu regülatör (düzenleyici-T reg) T-hücrelerinin genişlemesinde önemli bir mekanizmadır. Tipik olarak yüksek CD25⁺ ve FoxP3 ekspresyon seviyeleri ile tanımlanan immünregülatör CD4⁺ T-hücreleri indirekt T-hücresi alloaktivasyonunu inhibe etmektedir. Dolayısıyla indirekt alloaktivasyon (ve böylece kronik rejeksiyon), sınırlı sayıdaki CD25⁺ ve FoxP3⁺ immün regülatör hücreler bulunan hastalarda ortaya çıkabilmektedir.¹⁸ İndirekt T-hücre yanıtları olmayan hastalarda Treg sayısı yüksek iken, kronik rejeksiyonlu hastalarda Treg sayısının düşük olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak, indirekt tanımada etkili bir immün yanıt ortaya çıkmasında Treg hücreleri önemlidir. Yine bu aşamada kostimülator ve koinhibitör sinyallerin karakteri de önemlidir.¹³

Semi direkt tanıma: Allo-HLA ve/veya peptitlerin tanınmasında son yıllarda açıklanan bir mekanizmadır. Burada bozulmamış (intact) allo-HLA moleküllerinin alıcı ASH'lere aktarılması sözkonusudur. Bu aktarım iki şekilde olmaktadır: 1) Alıcı ASH'leri allo-HLA ekspresyonlu greft endotelini geçerken, hücre-hücre teması sonucu bu moleküllerin alıcı ASH'leri üzerine aktarılması, 2) 100 nm'den küçük veziküller olan eksozomlar aracılığıyla greftteki allo-HLA'ların alıcı ASH'lere aktarılması ve dolaşım ile sekonder lenfoid organlarda ASH'lerin T-hücrelerini aktive etmesidir. Eksozomlar yoluyla allo-HLA transferinin hem in vitro hem de in vivo olarak gerçekleştiği gösterilmiştir, ancak eksozom transferi tek başına naif T-hücrelerinin aktivasyonuna aracılık etmek için yeterli olmayabilmektedir.^{18,19}

REJEKSİYON MEKANİZMALARI

Allogreft rejeksiyonunun üç klinik tipi bulunmaktadır. Bunlar; hiperakut rejeksiyon, akut rejeksiyon ve kronik rejeksiyondur. **Hiperakut rejeksiyon** transplante edilen organın alıcının kanı ile perfüzyonundan kısa bir süre sonra ortaya çıkmaktadır. Hiperakut rejeksiyonun ortaya çıkmasında donöre spesifik anti-ABO antikorları ve anti-HLA antikorları önemlidir. Kan grubu identik nakiller ve transplantasyon öncesinde yeni çaprazlama yöntemlerinin kullanımı ile hiperakut rejeksiyonlar transplantasyon klinikleri için sorun olmaktan çıkmıştır.²⁰ Hiperakut rejeksiyonda mekanizma donör spesifik antikorların donör endotelindeki antijenlere bağlanarak kompleman proteinlerinin aktive etmesi ile başlamaktadır. Bu aktivasyon sonrasında vasküler endotel hücre zarında oluşan MAC ile endotel harabiyeti ortaya çıkmaktadır. Diğer taraftan inflamatuvar sinyaller ile nötrofillerin grefte göç edip litik enzimleri salgılaması ve trombositlerin hasarlanan alana göç ederek vasküler hemorajiye sebep olmasıyla greft kaybedilmektedir. **Akut rejeksiyon**, transplantasyon sonrası ilk haftalar ve aylarda görülmektedir. Yukarıda da bahsedildiği gibi, direkt tanıma mekanizmaları sonrasında ortaya çıkmaktadır. Semi direkt tanıma mekanizmalarının da bu sürece katkısı bulunmaktadır. CD4⁺ T yardımcı hücre aktivasyonu sonucunda, greftin sitotoksik T-hücresi aracılı hedeflenmesi, greft vasküler endotel hücrelerinin aktivasyonu, kemokin üretimi, NK hücrelerin aracılık ettiği greft hücrelerinin lizisi gibi monosit/makrofaj aracılı mekanizmalar akut hücrel red gelişiminde yer alabilmektedir. İmmünoşüpresif veya immüno-modülatör ajanların ve/veya immün düzenleyici hücrelerin CD4⁺ T-hücresi aktivasyonunu hedefleyerek akut rejeksiyon gelişimini belirgin olarak inhibe ettiği bulunmuştur. Alloreaktif CD8⁺ sitotoksik T lenfositleri ile greft hücrelerinin lizisi, akut hücrel reddin gelişiminde kritik bir mekanizmadır. Çoğu vasküler ve parankimal hücreler HLA sınıf I moleküllerini ifade etmektedir ve bu sebeple de CD8⁺ T-hücreleri yıkımı ortaya çıkarmak için doğrudan grefti hedefleyebilmektedir.¹³ Akut rejeksiyonların yaklaşık %90'ı CD4⁺ ve CD8⁺

aktivasyonu ve perforin, granzim salınımı ile sonuçlanan hücrel rejeksiyonlardır. Jia ve ark. akut rejeksiyon tanısı alan ve almayan hastaların böbrek biyopsilerinde gen ekspresyonu değişimlerini araştırmışlardır.²¹ Toplam 790 genden 437'sinin ekspresyonu artarken, 353 genin ekspresyonunun azaldığını saptamışlardır. Bu çalışmada akut rejeksiyon ile en güçlü ilişkisi olan genler, interferon (IFN)-g, tümör nekrozis faktör (TNF), B₂ mikroglobulin, LCK olarak saptanmıştır. Çalışmada, akut rejeksiyonun patogeneğinde hücre için sinyal iletiminde rol oynayan LCK (Src kinaz)'nın anahtar rol oynadığını açıklamışlardır. LCK, T-hücre reseptör kompleksinin bir parçası olan CD3'ün intrasitoplazmik kısmı (CD3e) ile etkileşerek hücre içi sinyal iletimini başlatan bir moleküldür.²¹ Ayrıca, B-hücrelerinin akut rejeksiyona antikor üretme yolu ile katkısı bulunmaktadır.^{22,23} Alloantikörün bağlanması, hücrelerin direkt olarak parçalanmasıyla sonuçlanmaktadır. Akut humoral rejeksiyonların tanısında greft biyopsilerinde C4d kompleman proteini araştırılmaktadır. Ancak C4d negatif sonuçlarda akut rejeksiyonla ilişkili olabilmektedir.^{23,24} Akut humoral rejeksiyonda vaskülit ve greftte mononükleer hücre birikimi görülmektedir.¹³ **Kronik rejeksiyon**, geç allogreft başarısızlığının en yaygın nedenidir. Daha az bilinen bir süreçtir ve mekanik ve fonksiyonel olarak alloantijene bağımlı ve alloantijen bağımsız süreçlerle ilişkilidir.¹³ Histolojik olarak kronik rejeksiyon, değişken derecelerde interstisyel mononükleer hücrel infiltratlar, ekstraselüler matriks birikimi ve fibröz gelişimiyle ilişkilidir. Kapsamlı araştırmalara rağmen, kronik reddin gelişimi ile ilgili kesin mekanizmalar belirsizliğini korumaktadır. Reperfüzyon hasarı, erken dönemdeki akut rejeksiyon atakları, kalsinörün inhibitörleri gibi nefrotoksik ilaçların kullanımı, gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonları ile ilişkili inflamasyon kronik rejeksiyon gelişimine katkı sağlamaktadır. Transplantasyonda de novo anti-HLA antikor oluşumunun kronik rejeksiyon gelişimi için bir risk oluşturduğu öngörülmektedir.^{22,25} Nakil sonrası donörün uyumsuz HLA'larına karşı oluşan antikorların; kompleman aktivasyonu, antikora bağlı hücre sitotoksitesi ile greft hasarına katkı sağladığı bi-

linmektedir. Anti-HLA antikor-antijen bağlanması, greftin içine immün sistem hücrelerinin göç etmesini düzenlemektedir. Ayrıca, antikorların endotel hücrelerin üzerindeki HLA'lara bağlanması, greft hasar mekanizmalarını teşvik eden hücre içi sinyalizasyon programlarını da aktive etmektedir.²⁶ Bu konuda yapılan çalışmalar kısıtlıdır. Çünkü kültüre alınan vasküler endotel hücreler hızla HLA ekspresyonlarını (özellikle sınıf II) kaybetmektedir. Yapılan çalışmalarda, IFN-g, TNF- α gibi sitokinlerin kültür ortamına eklenmesi veya transfeksiyonla HLA ekspresyonunu başlatacak transaktivatör genlerin hücrelere aktarılması ile HLA ekspresyonu artırılmaktadır. Fizyolojik koşullar altında da çoğu insan vasküler endotel hücreleri HLA-II moleküllerini eksprese etmemektedir. Cerrahi travma, iske mi/reperfüzyon hasarı, rejeksiyon ve enfeksiyon da dâhil olmak üzere transplantasyon sırasında veya sonrasında, TNF- α , interlökin (IL)-1 β ve IFN-g gibi proinflamatuvar sitokinler üretmektedir. Bu sitokinler HLA ekspresyonunun artmasına sebep olmaktadır.²⁷ Çalışmalarda, sınıf I anti-HLA antikorların antijenlere bağlanması ile fosfolipaz Cg1'in aktivasyonu sonucu, sinyal mekanizmasında ikincil haberciler denilen inositol trifosfat (IP₃) ve diaçilgliserolün oluştuğu ve sonuçta hücre içi kalsiyum salınımının düzenlendiği saptanmıştır. Hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun değişmesi, P-selektin içeren Weibel-Palade body (WPb) veziküllerinin ekzositozunu tetiklemektedir. P-selektinin hücre yüzeyinde hızlı bir şekilde düzenlenmesi, nötrofiller, monositler ve trombositlerin adezyonunu desteklemektedir. Bu da CD68⁺ makrofajlar ve nötrofiller gibi miyeloid hücrelerin greftte baskın olmasını sağlamaktadır. HLA antikor-antijen bağlanması, aynı zamanda protein kinazlardan olan Src, paksillin ve fokal adezyon kinaz (FAK)'ın aktivasyonunu teşvik etmektedir. FAK'nin yanı sıra küçük G proteinlerinden Rho'nun aktivasyonu hücre iskeletindeki aktin proteinlerinin düzenlenmesi fokal adezyonların oluşumu ve stres liflerinin oluşumunu sağlamaktadır. Endotel hücrelerin sınıf I anti-HLA antikorlarına maruz kalmasından sonra ortaya çıkan en erken fonksiyonel değişikliklerden biri, aktin hücre iskeletinin yeniden şekillenmesidir, bu da hızlı ve

dramatik stres lifi oluşumu ile sonuçlanmaktadır.²⁸ Stres liflerinin oluşumu mekanik transdüksiyona izin vermektedir. Bu yapılar lökositlerin bağlanması hücre-hücre adezyonu açısından önemlidir. Hücre iskeletinin aynı zamanda hücre içi sinyal kaskadlarının aktif bir organizatörü olduğu, farklı süreçlerin ve yolların lokalizasyonunu kontrol ettiği de gün geçtikçe daha fazla çalışma ile desteklenmektedir. Yine bu süreçte rapamisin memeli hedefi [mammalian target of rapamycin (mTOR)] ve hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz [extracellular signal regulated kinase (ERK)] aktivasyonunda hücre iskeletinin düzenlenmesine katkısı söz konusudur. Sınıf I anti-HLA antikollarının antijenlere bağlanması ile bazik fibroblast büyüme faktörü [fibroblast growth factor (bFGF)] ve reseptörünün sentezinin arttığı, bu düzenlemede de hücre iskeletinin katkısı olduğu belirlenmiştir. bFGF, endotel yüzeyindeki FGFR'ye bağlanarak endotel ve düz kas hücrelerinin proliferasyonu artmaktadır. Ayrıca, bFGF damarlanmayı hızla artıran bir büyüme faktörü olduğundan neovaskülarizasyon da artmaktadır.^{27,29} Bu sonuçlar, sınıf I anti-HLA antikollarının greft damarlarında düz kas hücrelerinin ve endotel hücrelerin proliferasyonuna ve damar çapının daralmasına katkı sağladığını göstermektedir. Sınıf I anti-HLA antikollarının antijeni ile bağlanması ile PI3 kinaz/Akt yolunun aktivasyonu ve endotelde antiapoptotik Bcl-2 ve Bcl-xL protein ekspresyonunun arttığı da belirlenmiştir.³⁰ Bu, sinyal yolunun moleküllerinden olan mTOR ve ERK, S6 kinaz (S6K) ve S6 ribozomal protein (S6RP) aktivasyonunu sağlamaktadır. Bu proteinler hücre büyümesi ile ilgili proteinlerin kilit düzenleyicileridir. Bahsettiğimiz proliferasyon, sağkalım ve göç etme sinyalleri muhtemelen kronik vasküler rejeksiyona ve intimal hiperplaziye katkıda bulunmaktadır.

HLA sınıf II moleküllerinin kültürdeki düşük ekspresyonları nedeni ile bu alanda daha az çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda da HLA-II moleküllerinin antikoru bağlanması, protein kinazlar Src, FAK ve PI3K/Akt ve mTOR, S6K, S6RP ve MAPK ERK dâhil olmak üzere hücre içi sinyal ağını tetiklediği gösterilmiştir. HLA-II antikolları, ayrıca proliferasyon ve migrasyon dâhil

olmak üzere endotel hücrelerinde anjiyojenik yanıtı uyarmıştır.^{30,33}

Ek olarak, vericinin uyumsuz HLA antijenlerinden bağımsız proseslerinde kronik rejeksiyona katkı sağladığı bilinmektedir. Bunlar; donör beyin ölümü, viral enfeksiyonlar, hipertansiyon, hiperlipidemi, hücre yaşlanması ve immünsüpresiflerin toksisitesidir. Kronik rejeksiyonda hücre dışı matris proteinleri inflamatuvar proteazlar tarafından parçalanmaktadır. Debri makrofajlar ve granülositler tarafından fagosite edilmektedir. Fibroblastlar morfolojik değişikliklere giderek yeni hücre dışı matris için düzenlenmiş kollajen, fibronektin ve proteoglikanlar üretmektedirler. Yüksek oranda düzenlenen bu olaylar muhtemelen hasar gören organlar içinde zamanla gelişmekte ve bu durumda ilerlemiş greft disfonksiyonu ile sonuçlanmaktadır. Trombosit kökenli büyüme faktörü, bazik bFGF ve vasküler endotelial büyüme faktörü dâhil olmak üzere makrofajlar ve lenfositlerin ürettiği büyüme faktörleri düz kas proliferasyonunu başlatmakta bu da kan damarlarının daralmasına sebep olmaktadır. Kronik rejeksiyon geçiren allogreftlerde ifade edilen TGF- β , organ fibrözü ile ilişkili olan endotelmezenkimal geçişe neden olan kilit faktördür. Böylece, sadece hasar değil, aynı zamanda hasar ve işlev bozukluğunun onarımı/yeniden şekillendirilmesi işlemi de kronik rejeksiyona katkıda bulunmaktadır.¹³

TRANSPLANTASYON VE BİYOBELİRTEÇLER

Transplantasyon sonrasındaki süreci tahmin etmek ve allogreftin fonksiyonu hakkında bilgi sahibi olmak amacıyla yıllardır çeşitli biyobelirteçler kullanılmıştır. Bunların ilki deri greftleridir. Böbrek nakledilmeden önce hastaya vericiden transplante edilen deri, organ nakli sonrası döneme ışık tutmuştur. Yine Terasaki'nin sitotoksikite testi ile DSA'ları saptaması transplantasyonda önemli bir dönüm noktasıdır. Günümüzde de transplantasyon ve sonrasındaki süreci değerlendirmeye katkı sağlayabilecek biyobelirteçlerin kullanımı gün geçtikçe artmaktadır. Bunlar arasında; T-hücre alloreaksiyon testleri, T-hücrelerinin adenosin trifosfat [adenosine triphosphate (ATP)] üretim özelliği, allogreft biyopsi materyallerinde, periferik

kanda ve idrardaki gen ekspresyon çalışmalarında mRNA ve protein düzeyinde çeşitli araştırmalar yer almaktadır.³¹

T-hücre alloreaksiyon testlerinde, hastaların verici antijenlerine maruz kaldığında alıcı T-hücreleri tarafından salınan IFN-g ölçülebilmektedir. IFN-g ELISPOT deneyinin, böbrek transplantasyonundan önce ve sonra donör-reaktif hafıza T-hücrelerini ölçebileceği ve sonuçların akut rejeksiyon, gecikmiş greft fonksiyonu ve kronik allogreft disfonksiyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. İndüksiyon tedavisinin etkileri nedeni ile, beklenen korelasyonun saptanmadığı çalışmalar da mevcuttur. Bu çalışma sisteminde, donör hücrelerine ihtiyaç duyulması ve test prosedürünün yoğun emek gerektirmesi, ideal bir biyobelirteç olmasını kısıtlamaktadır.³¹

ATP üretiminin, antijeni tanımayı takip eden en erken aşamalardan biri olduğu düşünülmektedir. Immuknow olarak da bilinen bu test sistemi, mitojenle uyarılmış periferik kan mononükleer hücrelerden CD4⁺ T-hücrelerinin manyetik olarak izole edilerek parçalanması ve ATP ölçümünün yapılması esasına dayanmaktadır. Düşük ATP seviyelerinin enfeksiyonlarla, yüksek seviyelerin ise rejeksiyon olasılığının artmasıyla ilişkili olduğunu açıklayan çalışmalar mevcut iken, uyumsuz sonuçlar da yayımlanmıştır. Çalışma numunelerinin toplama ve saklama süreleri arasındaki zaman aralığının kısa olmasının gerekmesi, ATP düzeyi üzerindeki transplantasyondan sonraki sürenin etkisi ve sonuçları yorumlama konusundaki sınırlılık testin kısıtlayıcı taraflarıdır.³¹

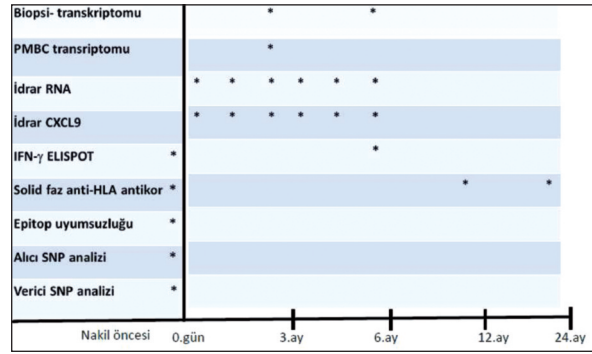
Gen ekspresyon (transkriptom) çalışmaları da biyobelirteç olarak kullanılabilir. T-hücre sitotoksitenin göstergesi olarak perforin ve granzimin ekspresyonlarının analizi önemlidir. Bu moleküller hedef hücre apoptozunu indüklemekte ve böbrek transplant rejeksiyonunda tübüler epitelyal hücre hasarına yol açmaktadır. Gerçekten de üriner hücrelerde perforin ve granzim B'nin mRNA düzeylerinin akut rejeksiyonla korele olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, çeşitli çalışmalarda, intragreft granzim B transkriptleri, akut rejeksiyonda, rejeksiyonu olmayan hastalara kıyasla anlamlı bir biri-

kim göstermiştir. Lizise uğrayan hücrelerin mRNA stabilitesi üzerine etkisi bu çalışmaları sınırlayabilmektedir, daha büyük çalışma grupları ile sonuçların değerlendirilmesine gereksinim duyulmaktadır. Gen ekspresyonu için kullanılabilir bir diğer belirteç FoxP3'tür. Düzenleyici T-hücreleri tarafından sentezlenen ve rejeksiyonun inhibisyonuna katkı sağlayan bir biyobelirteç olarak karşımıza çıkmaktadır. Üriner hücrelerde artmış FoxP3 mRNA, böbrek transplant alıcılarında akut rejeksiyonda iyileşme ile veya iyileşme olmaksızın allogreft reddinin tersine çevrilebilirliği ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, periferik kan FoxP3 transkriptleri, klinik olarak toleranslı alıcılara kıyasla, kronik rejeksiyonu olan böbrek transplant alıcılarında anlamlı olarak daha düşüktür. Diziye dayalı yaklaşımlar ile greft biyopsisinde gen ekspresyonlarını değerlendiren mikrodizi tabanlı sistem kullanılmaktadır. Halloran ve ark.nın 2017 yılında yaptıkları bir çalışmada, allogreft biyopsinin mikrodizi analizinin klinik sonuç ile histolojiden daha iyi korelasyon gösterdiği belirlenmiştir.³² Değerlendirme için biyopsi materyaline ihtiyaç duyulması testin kısıtlayıcı yönüdür. Hastanın periferik kanından 17 farklı gen ekspresyonunu değerlendiren "kidney solid organ response test (kSORT)" testi, yüksek duyarlılık ve özgüllük ile rejeksiyonu öngörebilmektedir, ancak T-hücresi ve antikor aracılı rejeksiyon arasında ayırım yapamamaktadır. Aynı grup tarafından yapılan bir sonraki çalışma bu testi daha da doğrulamış ve kSORT testini antidonör IFN-g ELISPOT testi ile birleştirmenin rejeksiyon fenotipini ayırt etmede yardımcı olabileceğini göstermiştir.³³ kSORT testinin avantajları arasında periferik kan kullanılması önemlidir. Kronik rejeksiyonun belirteci olarak "Genomics of chronic allograft rejection (GoCAR)" çalışması da yeni yaklaşımlardandır. Araştırmacılar, allogreft rejeksiyonunu öngörmeye odaklanmak yerine fibröz bağli kronik yetmezliği tahmin edebilen bir gen seti oluşturmayı amaçlamıştır. Çalışma, fibröz ilerlemeyi ve transplantasyon sonrası erken greft kaybını tahmin etmede standart klinik ve histolojik değişkenlerden daha üstün olan 13 gen grubunu tanımlamıştır.²⁶ Bu genler; hücre büyüme yollarında, tümör büyümesinde ve baskılanmasında ve hücre

zarı onarımında rol oynamışlardır. Bu çalışmanın da kısıtlayıcı tarafı, greft biyopsi materyaline duyulan ihtiyaçtan kaynaklanmaktadır. Son yıllarda alıcı idrarlarının rejeksiyon tanısındaki rolü üzerinde durulmaktadır. İdrar örneklerinde CD3e, İFN'nin indüklediği protein (IP-10) ve 18S rRNA ekspresyonlarının idrarda tespiti akut humoral ve hücrel rejeksiyonları ayırt edebilmiştir. Ancak, mRNA ekstraksiyonu için idrarın işlenmesi teknik olarak zor olabilmektedir.^{31,34}

İdrarda CXCR3 kemokinleri CXCL9 [interferon-g (MIG)] ve CXCL10 [interferon-indüklü protein-10 (IP-10)] umut verici protein yapıdaki biyobelirteçler olarak görünmektedir. Çok merkezli bir çalışmada, CXCL9 mRNA ve proteininin idrar seviyelerinin, akut rejeksiyonu teşhis ettiği gösterilmiştir. CXCL10 düzeylerinin de hem akut rejeksiyon hem de poliovirüs (BKvirus) enfeksiyonunda yükseldiği gösterilmiştir. CXCL10'un, herhangi bir klinik değişiklikten önce yükselen seviyelerle akut reddetmeyi hassas bir şekilde saptadığı gösterilmiştir.³¹ Daha yeni çalışmalar ile idrar CXCL10 düzeyi ve donör spesifik antikor kombinasyonunun, humoral rejeksiyonun tanısını güçlendirdiğini göstermiştir. Ayrıca, humoral rejeksiyon sırasında idrar CXCL10:Cr oranının, greft kaybı ile ilişkisi saptanmıştır.³¹ Nispeten küçük tek merkezli çalışmalarda, idrar CXCL9 ile T-hücresi aracılı rejeksiyon arasındaki güçlü korelasyon da saptanmıştır. Amerikan Transplant Kongresi 2016'da bildirilen sonuçlar, seri idrar CXCL9 ölçümlerinin rejeksiyon tedavisinin etkinliği konusunda bilgilendirici olabileceğini düşündürmektedir.³⁴ İdrarda CXCL9 ve CXCL10 testleri, ELISA veya Luminex tabanlı bir platform da mevcuttur; basit, invaziv olmayan ve uygun maliyetlidir ve bu nedenle biyobelirteç olarak idealdir.^{31,34} Humoral rejeksiyonların tanısında de novo DSA'ların tespiti için solid faz tabanlı çalışmalar yapılabilmektedir.³⁵

İmmünsekanslama, her bir T-hücresi ve B-hücresi klonunun profillenmesine izin verir. Biyo-informatik ve multipleks polimeraz zincir reaksiyonu çalışmalarının kombinasyonu bu yaklaşımda önemlidir. Bu alandaki çalışmalar çok erken aşamalarında, ancak alloimmün yanıtı



ŞEKİL 1: Böbrek transplantasyonu sonrası immünolojik takip için kullanılacak biyobelirteçler.³⁴

İFN-γ: Interferon gama, HLA: İnsan lökosit antijeni, SNP: Tek nükleotid polimorfizmi.

ölçmek için ümit verici bir araç olabileceği düşünülmektedir.³¹

Kütle spektrometresi, bir ya da daha fazla rejeksiyon biyobelirteci tanımlamak için ideal bir platform sunmaktadır. Yayımlanmış çalışmaların çoğu, birçok molekülün tanımlanması ile birlikte idrar proteomuna odaklanmıştır, ancak bunlardan sadece birkaçı (α-antichymotrypsin, uromodulin, b2-mikroglobulin ve kollajen fragmanları) farklı gruplar tarafından çalışılmıştır.³¹

Son birkaç yıldır greft hasarı sonucu dolaşıma ve idrara geçen donör DNA'sının araştırıldığı (cell free DNA) çalışmalarda sonuçlar, akut rejeksiyon ve enfeksiyonlarla koreledir. Rejeksiyon atakları olduğu durumlarda cell-free DNA düzeylerinin daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu çalışmaların da kapsamının genişletilmesi sonuçların değerlendirilmesine katkı sağlayacaktır.³³

Menon böbrek transplantasyonu sonrası takipte idrar temelli çalışmaların önemli olduğu belirtilmiştir (Şekil 1).³⁴ Şekil 1'de immünolojik takipte kullanılacak biyobelirteçler görülmektedir. Nakil sonrası erken dönemde düzenli olarak her ay idrarda RNA ve CXCL9 takibinin yapılması, biyopsi ve kan örneklerinde transkriptom çalışmaları, anti-HLA antikorlarının araştırılmasının önemi vurgulanmaktadır.³⁴

Son yıllarda immünsüpresif tedavi almadığı hâlde allogrefi tolere eden hastalar da dikkati çekmektedir. Bu hastalar operasyonel toleranslı hastalar olarak ifade edilmektedir. Çoğu operasyonel

toleranslı hasta, çeşitli nedenlerle (örneğin; kişisel inançlar, aşırı yan etkiler, gözetim, ruhsal bozukluklar, sosyal sorunlar) kendilerini tedaviden uzak tutan uyumsuz hastalardır. Çok sayıda transplantasyon merkezinin katıldığı bir çalışmada, operasyonel toleranslı hasta insidansının %0,03 oranında olduğu belirlenmiştir. Operasyonel toleranslı böbrek alıcılarının temel özellikleri, genel olarak diğer böbrek alıcılarından büyük ölçüde farklı görünmemektedir. Bu hastaları belirlemede kullanılabilir biyobelirteçlerin saptanması son derece önemlidir. Ancak güvenilir bir biyobelirteç bulunması oldukça güçtür. Operasyonel toleranslı hastaların nadir görülmesi, yeterli kontrol popülasyonunun olmaması, kişisel özellikler, viral enfeksiyonlar, HLA uyumu, ilaçlar, örneklem prosedürleri veya kan hücresi alt grubu kompozisyonu gibi sayısız karıştırıcı faktör biyobelirteç bulmadaki güçlüklerin nedenidir. Çalışmalarda tolere edilen allogreftlerde iki farklı Treg popülasyonu dikkati çekmektedir. Bunlardan biri doğal T reg'ler olarak bilinen hücre teması ile immünsüpresif özelliğini gösteren CD4⁺CD25⁺ T reg'lerdir. Diğeri ise uyarılmış Treg (indüklenmiş-iTreg)'lerdir. TGF-β üreten CD4⁺CD25⁺ iTreg'ler Th3 olarak da bilinmektedir.

Trans-vivo gecikmeli tip hipersensitivite (trans-vivo delayed-type hypersensitivity -tvDTH) testi allogreftte verilecek immün yanıt hakkında bilgi verecek ve toleranslı böbrek alıcılarını keşfedecek bir çalışmadır. Temel olarak, tvDTH testi, transplantasyondan sonra sensitiv alıcı T-hücreleri, donör antijenleri ve alıcı APC'lerin, şiddetli kombine immün yetmezliği olan farelerin kulağına veya ayak tabanına enjekte edilmesinden oluşmaktadır. Alıcı hücrelere immün yanıt veriliyorsa, şişlik olarak görünen bir DTH reaksiyonu oluşacaktır. Haynes ve ark. rejeksiyonlu hastalarda tvDTH yanıtlarında IL-17 ve IFN-γ sitokinlerinin önemini saptamış, toleranslı hastalarda tvDTH yanıtlarının yokluğunun ise IL-10'a değil, TGF-β'ya dayandığı ve Th3 Treg hücrelerin arttığını düşündüren bir tablo ortaya çıkmıştır. Bununla birlikte, tvDTH testi için yüksek hücre sayılarına ihtiyaç duyulması, farelerin gerekliliği ve tekniğin sıkıntıları nedeni ile kullanımı sınırlıdır. Vendetti ve ark., toleranslı hasta kanları ve/veya allogreftlerde B-

hücrelerinin ve nTreg ve iTreg hücrelerinin daha yüksek oranlarda bulunduğunu saptamışlardır. T-hücrelerindeki inhibitör moleküller, CD39, GITR ve CTLA-4, B hücrelerindeki inhibitör moleküller CD1d ve CD5'te artış olduğu belirlenmiştir. Operasyonel toleranslı hastaların kan örnekleri, sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında, benzer veya azaltılmış CD3⁺ T-hücre sayıları belirlenen çalışmalar da bulunmaktadır. Benzer oranlarda CD8⁺ Tc efektör, CD8⁺ Tc hafızası ve CD4⁺ T-hücreleri kaydedilmiştir. CD4⁺CD25⁺ Treg hücreleri ve FoxP3 transkriptleri, toleranslı ve sağlıklı gönüllüler arasında benzerdir. Kronik rejeksiyonlu hastalarda ise azalmıştır. Bu durum, FoxP3⁺ T-hücrelerinin kan seviyelerinin, muhtemelen greftin içindeki durumu zayıf temsil etmesi ile açıklanmıştır. Gerçekten de operasyonel olarak toleranslı böbrek alıcılarının greft biyopsileri ile ilgili doğrudan araştırmalar, rejeksiyonlu hastalarda sağlıklı kontrollere kıyasla allogreft infiltratlarında FoxP3 ekspresyonunda artış olduğunu ortaya koymaktadır. Toleranslı hastaların Treg hücrelerinde *FoxP3* gen lokusunda yüksek oranda DNA demetilasyonu olduğu da gösterilmiştir. Yine düzenleyici B-hücrelerinin (B reg) toleranslı hastalarda arttığı saptanmıştır. Stabil ve toleranslı hastaların kan örnekleri ile yapılan çalışmalarda, en iyi ayırım yapan genler olarak NF-κB, CD40, TNF, granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör ve glukokortikoid ağırlık dikkati çekmiştir. Ancak bu alanda yeni çalışmalar yapılmasına gereksinim duyulmaktadır.³⁶

SONUÇ

Allogreft rejeksiyonu, immün sistem hücrelerinin ve immün moleküllerin, çok sayıda hücresel proteinin katıldığı karmaşık bir mekanizmaya sahiptir. Transplantasyon sonrası kullanılan immünsüpresif ilaçlar ile immün tanıma kontrol altına alınmaya çalışılmaktadır. Ancak tedavide kullanılan ilaçlar, kritik doz ilaç grubuna girmekte, etkinliği ve yan etkilerinin titizlikle takip edilmesi önemlidir. Nakil sonrası dönemde transkriptom, proteom, donöre özgü antikorların araştırılması çalışmaları rejeksiyon mekanizmalarının aydınlatılmasına, toleranslı hastaların belirlenmesine ve tedaviye de katkı sağlayacaktır.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite

üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: İbrahim Pirim; **Tasarım:** Tülay Kılıçaslan Ayna; **Denetleme/Danışmanlık:** Tülay Kılıçaslan Ayna; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Tülay Kılıçaslan Ayna; **Analiz ve/veya Yorum:** Tülay Kılıçaslan Ayna; **Kaynak Taraması:** Tülay Kılıçaslan Ayna; **Makalenin Yazımı:** Tülay Kılıçaslan Ayna; **Eleştirel İnceleme:** İbrahim Pirim; **Kaynaklar ve Fon Sağlama:** Tülay Kılıçaslan Ayna.

KAYNAKLAR

1. Abbas AK, Lichman AH, Pillai S. Cells and tissues of the immune system. Cellular and Molecular Immunology. 7th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2012. p.16-34.
2. Edirne T. Organ and tissue transplantations: results and recommended strategies in Turkey. Türkiye Klinikleri J Med Sci. 2004;24(3):261-6.
3. Matesanz R, Mahillo B, Alvarez M, Carmona M. Global observatory and database on donation and transplantation: world overview on transplantation activities. Transplant Proc. 2009;41(6):2297-301. [Crossref] [PubMed]
4. Abbas AK, Lichman AH, Pillai S. Major histocompatibility complex molecules and antigen presentation to T lymphocytes. Cellular and Molecular Immunology. 7th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2012. p.110-36. [PubMed]
5. Adams AB, Williams MA, Jones TR, Shirasugi N, Durham MM, Kaech SM, et al. Heterologous immunity provides a potent barrier to transplantation tolerance. J Clin Invest. 2003;111(12):1887-95. [Crossref] [PubMed] [PMC]
6. Oğuz FS. [Transplantation immunology]. Türkmen A, editör. Transplantasyon Nefrolojisi Pratik Uygulama Önerileri. 1. Baskı. Ankara: Buluş Tasarım ve Matbaacılık Hizmetleri San Tic; 2016. p.27-35.
7. Alelign T, Ahmed MM, Bobosha K, Tadesse Y, Howe R, Petros B. Kidney transplantation: the challenge of human leukocyte antigen and its therapeutic strategies. J Immunol Res. 2018;5:5986740. [Crossref]
8. Barten MJ, Schulz U, Beiras-Fernandez A, Berchtold-Hertz M, Boeken U, Garbade J, et al. The clinical impact of donor-specific antibodies in heart transplantation. Transplant Rev (Orlando). 2018;32(4):207-17. [Crossref] [PubMed]
9. Figueiredo C, Carvalho Oliveira M, Chen-Wacker C, Jansson K, Höffler K, Yuzefovych Y, et al. Immunoengineering of the vascular endothelium to silence MHC expression during normothermic ex vivo lung perfusion. Hum Gene Ther. 2018 Nov 20. Doi: 10.1089/hum.2018.117. [Epub ahead of print].
10. Collins AB, Schneeberger EE, Pascual MA, Saidman SL, Williams WW, Toloff-Rubin N, et al. Complement activation in acute humoral renal allograft rejection: diagnostic significance of C4d deposits in peritubular capillaries. J Am Soc Nephrol. 1999;10(10):2208-14. [PubMed]
11. Sönmez M. [Immunobiology of dendritic cell]. Basic Molecular Hematology Course. 2005; 87-91.
12. Ingulli E. Mechanism of cellular rejection in transplantation. Pediatr Nephrol. 2010;25(1): 61-74. [Crossref] [PubMed] [PMC]
13. Ingulli E, Alexander SI, Briscoe DM. Immunology of pediatric renal transplantation. In: Avner ED, Harmon WE, Niaudet P, Yoshikawa N, Emma F, Goldstein S, eds. Pediatric Nephrology. 7th ed. London, UK: Heidelberg, Springer; 2015. p.1-51. [Crossref]
14. Kupiec-Weglinski JW, Busutil RW. Ischemia and reperfusion injury in liver transplantation. Transplant Proc. 2005;37(4):1653-6. [Crossref] [PubMed]
15. Ford ML. Virally-induced heterologous immunity in renal transplant recipients: important or inconsequential? Am J Transplant. 2016;16(5):1348-9. [Crossref] [PubMed] [PMC]
16. Adams AB, Williams MA, Jones TR, Shirasugi N, Durham MM, Kaech SM, et al. Heterologous immunity provides a potent barrier to transplantation tolerance. J Clin Invest. 2003;111(12):1887-95. [Crossref] [PubMed] [PMC]
17. Suci-Foca N, Ciobotariu R, Colovai A, Foca-Rodi A, Ho E, Rose E, et al. Persistent allopeptide reactivity and epitope spreading in chronic rejection. Transplant Proc. 1999;31(1-2):100-1.
18. Martin-Moreno PL, Tripathi S, Chandraker A. Regulatory T cells and kidney transplantation. Clin J Am Soc Nephrol. 2018;13(11):1760-4. [Crossref] [PubMed]
19. Morelli AE, Larregina AT, Shufesky WJ, Sullivan ML, Stolz DB, Papworth GD, et al. Endocytosis, intracellular sorting, and processing of exosomes by dendritic cells. Blood. 2004;104(10):3257-66. [Crossref] [PubMed]
20. Kılıçaslan Ayna T, Diler AS, Çarın M. Detection of posttransplant donor specific antibodies against donor HLA antijens by flow cytometric cross-match. J Ist Faculty Med. 2006;69:93-7.
21. Jia CL, Jia R, Li Y, Li X, Jia Q, Zhang H. LCK as a potential therapeutic target for acute rejection after kidney transplantation: a bioinformatics clue. J Immunol Res. 2018;6451298. [Crossref]
22. Ayna TK, Çalışkan Y, Ciftçi HŞ, Türkmen A, Gürtekin M. Long-term effects of antibodies against human leukocyte antigens detected by flow cytometry in the first year after renal transplantation. Balkan Med J. 2013;30(1):37-45. [Crossref] [PubMed] [PMC]
23. Halloran PF, Reeve JP, Pereira AB, Hidalgo LG, Famulski KS. Antibody-mediated rejection, T cell-mediated rejection, and the injury-repair response: new insights from the genome Canada studies of kidney transplant biopsies. Kidney Int. 2014;85(2):258-64. [Crossref] [PubMed]

24. Collins AB, Schneeberger EE, Pascual MA, Saidman SL, Williams WW, Tolkoff-Rubin N, et al. Complement activation in acute humoral renal allograft rejection: diagnostic significance of C4d deposits in peritubular capillaries. *Am Soc Nephrol.* 1999;10(10):2208-14.
25. Terasaki PI. A personal perspective: 100-year history of the humoral theory of transplantation. *Transplantation.* 2012;93(8):751-6. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
26. Théry C, Duban L, Segura E, Véron P, Lantz O, Amigorena S. Indirect activation of naive CD4+ T cells by dendritic cell-derived exosomes. *Nat Immunol.* 2002;3(12):1156-62. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
27. Jin YP, Valenzuela NM, Zhang X, Rozengurt E, Reed EF. HLA class II-triggered signaling cascades cause endothelial cell proliferation and migration: relevance to antibody-mediated transplant rejection. *J Immunol.* 2018;200(7):2372-90. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
28. Jin YP, Singh RP, Du ZY, Rajasekaran AK, Rozengurt E, Reed EF. Ligation of HLA class I molecules on endothelial cells induces phosphorylation of Src, paxillin, and focal adhesion kinase in an actin-dependent manner. *J Immunol.* 2002;168(11):5415-23. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
29. Yeşilyurt E, Fidan I. Dendritic cells and their role in infection. *Turkish Journal of Microbiology Society.* 2011;41(3):91-102.
30. Valenzuela NM, Reed EF. Antibodies to HLA molecules mimic agonistic stimulation to trigger vascular cell changes and induce allograft injury. *Curr Transplant Rep.* 2015;2(3):222-32. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
31. Safa K, Magee CN, Azzi J. A critical review of biomarkers in kidney transplantation. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2017;26(6):509-15. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
32. Halloran PF, Reeve J, Akalin E, et al. Real time central assessment of kidney transplant indication biopsies by microarrays: the Intercomex study. *Am J Transplant.* 2017;17(11):2851-62. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
33. Celec P, Vlková B, Lauková L, Bábíčková J, Boor P. Cell-free DNA: the role in pathophysiology and as a biomarker in kidney diseases. *Expert Rev Mol Med.* 2018;20:e1. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
34. Menon MC, Murphy B, Heeger PS. Moving biomarkers toward clinical implementation in kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol.* 2017;28(3):735-47. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
35. Kılıçaslan Ayna T, Çiftçi HŞ, Gürtekin M. [Donor-specific antibodies with single antigen beads assay determination: review]. *Türkiye Klinikleri J Nephrol.* 2011;6(1):17-21.
36. Massart A, Ghisdal L, Abramowicz M, Abramowicz D. Operational tolerance in kidney transplantation and associated biomarkers. *Clin Exp Immunol.* 2017;189(2):138-57. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]