T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI

ANABİLİM DALI

KARACİĞER NAKİL SONRASI ÇOCUKLARDA İMMÜNOLOJİK YANITIN AMİLOİDOZ GELİŞİMİ YÖNÜNDEN DEĞERLENDİRİLMESİ

Uzmanlık Tezi

Dr. Sezin AYDEMİR

(Tez Danışmanı: Prof. Dr. Özlem DURMAZ UĞURCAN)

İSTANBUL-2017

ÖNSÖZ

Bilgi ve tecrübeleri ile iyi bir çocuk hekimi olabilmem için emek veren İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı başkanı sayın Prof. Dr. Mübeccel Demirkol başta olmak üzere, İTF Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı ve Çocuk Sağlığı Enstitüsü'nün tüm saygıdeğer öğretim üyelerine,

Tez çalışmamın yürütülmesinde yol gösterici olan, yoğun çalışma temposu içerisinde bana değerli vaktini ayıran, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım tez danışmanım sayın Prof. Dr. Özlem Durmaz Uğurcan'a,

Tez çalışmam esnasında yardımlarını esirgemeyen sayın Dr. Zerrin Önal ve Dr. Dilek Güller'e,

Çalışma örneklerimin analizlerinde yardımcı olan Çocuk Gastro Eser Element Laboratuvarı sorumlusu sayın Prof. Dr. Tülin Özden'e ve tüm çalışanlarına,

Tezim süresince emeği geçen İTF Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı çalışanlarına,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum kliniğimizdeki değerli uzman doktor ve asistan arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen, bana inanan aileme ve yanımda olan eşime sevgi, saygı ve şükranlarımı sunarım.

Dr. Sezin Aydemir

Nisan 2017

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ ..... **i**
İÇİNDEKİLER ..... **ii**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **iv**
TABLO LİSTESİ ..... **v**
KISALTMALAR ..... **vi**
ÖZET **1**
SUMMARY **2**
1. GİRİŞ VE AMAÇ **3**
2. GENEL BİLGİLER **5**
2.1. Temel İmmünoloji 5
2.1.1. Doğal ve Edinsel İmmünite 5
2.1.2. Major doku uygunluk kompleksi ve molekülleri 6
2.2. Transplantasyon İmmünolojisi 9
2.2.1. Greft Tipleri 10
2.2.2. Alloantijenin Tanıma Yolakları 10
2.2.2.1. Direkt Yolak 10
2.2.2.2. İndirekt Yolak 11
2.2.3. T Hücre Aktivasyonu 12
2.2.3.1. Kostimülasyon 13
2.2.3.2. T Hücre Aktivasyonunun Hücre İçi Mekanizması 14
2.2.4. Sitokin ve Kemokinlerin Rolü 14
2.2.4.1. Sitokinler 14
2.2.4.2. Sitokinlerin Allogreft Rejeksiyonundaki Rolü 14
2.2.4.3. Sitokinlerin Tolerans Gelişmesindeki Rolü 15
2.2.4.4. Kemokinler 16
2.2.5. Efektör Mekanizmalar 16
2.2.6. Rejeksiyonun Klinik Evreleri 17
2.2.6.1. Hiperakut Rejeksiyon 17
2.2.6.2. Akut Rejeksiyon 17
2.2.6.3. Kronik Rejeksiyon 18
2.3. Amiloidoz 19
2.3.1. AA Amiloidoz 20

2.3.2. Serum Amiod A 20
3. HASTA VE YÖNTEMLER 22
3.1. Etik Kurul Onayı 22
3.2. Hasta Grubu 22
3.3. Enfeksiyon Grubu 23
3.4. Serum örneklerinin alınması ve saklanması 23
3.5. Serum amiloid A ölçümü 24
3.6. İstatistiksel Yöntem 24
4. BULGULAR 25
4.1. Nakil olgularının tanımlayıcı ve klinik özelliklerine göre değerlendirmeler 25
4.2. Enfeksiyon olgularının tanımlayıcı ve klinik özelliklerine göre değerlendirmeler 27
4.3. Nakil ve enfeksiyon gruplarının karşılaştırılması 28
4.4. Nakil olgularının takiplerine göre değerlendirmeler 32
5. TARTIŞMA 39
6. SONUÇLAR 43
7. KAYNAKÇA 45
8. EKLER 51
9. ÖZGEÇMİŞ VE İLETİŞİM BİLGİLERİ 58

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Serum Amiloid A düzeylerinin dağılımı 29
Şekil 2: Nakil olguların Serum Amiloid A takipleri dağılımı 33
Şekil 3: Nakil olguların C Reaktif Protein takipleri dağılımı 34
Şekil 4: Nakil olguların WBC takipleri dağılımı 34
Şekil 5: Kültür sonuçları dağılımı 35
Şekil 6: Ateş dağılımları 37
Şekil 7: Serum ile nakil arası geçen süre ile Serum Amiloid A ölçümleri ilişkisi 37

TABLO LİSTESİ

Tablo 1a: Nakil Olgularının Tanımlayıcı ve Klinik Özelliklerin Dağılımı 25
Tablo 1b: Nakil Olguların Tanımlayıcı ve Klinik Özelliklerin Dağılımı 26
Tablo 2: Nakil Olguların Laboratuvar Bulguları Dağılımı 27
Tablo 3: Enfeksiyon Grubu Olguların Tanımlayıcı ve Klinik Özelliklerin Dağılımı 27
Tablo 4: Enfeksiyon Grubu Olguların Laboratuvar Bulguları Dağılımı 28
Tablo 5: Gruplara Göre Tanımlayıcı Özelliklerin Karşılaştırılması 28
Tablo 6: Gruplara Göre Serum Amiloid A Değerlendirinin Karşılaştırılması 29
Tablo 7: Nakil Hastalarında Serum Amiloid A Gruplarına Göre C Reaktif Protein Değerlendirmeleri 30
Tablo 8: Serum Amiloid A Gruplarına Göre C Reaktif Protein Sınıflamalarının Değerlendirmeleri 30
Tablo 9: Serum Amiloid A İle C Reaktif Protein Nümerik Değerlerinin İlişkisi 31
Tablo 10: Karaciğer Nakli Yapılan Olgularda; Nakil Sonrası 1. hafta, 1. ay ve 6. ay Ölçümlerinin Değerlendirilmesi 32
Tablo 11: Karaciğer Nakli Yapılan Olgularda; Nakil Öncesi, Nakil Sonrası 1. Hafta, 1. Ay ve 6. Ay Kültür Sonuçlarının Değerlendirilmesi 35
Tablo 12: Karaciğer Nakli Yapılan Olgularda; Karaciğer Nakli Yapılan Olgularda; Nakil Öncesi, Nakil Sonrası 1. Hafta, 1. Ay ve 6. Ay Rektal Sürüntü Kolonizasyonlarının Değerlendirilmesi 36
Tablo 13: Karaciğer Nakli Yapılan Olgularda; Nakil Öncesi, Nakil Sonrası 1. Hafta, 1. Ay ve 6. Ay Ateş Düzeylerinin Değerlendirilmesi 36
Tablo 14: Rejeksiyona göre CRP ve Serum Amiloid A Değerlendirmeleri 38

KISALTMALAR

µgr	: Mikrogram
µL	: Mikrolitre
AA	: Amyloid Associated
APC	: Antigen presenting cell
CRP	: C-reaktif protein
°C	: Santigrat derece
FMF	: Familial Mediterranean Fever
HDL	: High Density Lipoprotein
HLA	: Human leukocyte antigen
IL	: İnterleukin
Ig	: İmmunglobulin
ICE	: İntelökin -1-beta converting enzyme
DAG	: Diaçilgliserol
IFNγ	: İnterferon gamma
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
IP3	: İnositoltrifosfat
IP-10	: İnterferon gamma inducible protein
kDa	: Kilo dalton (ağırlık birimi)
MCP-1	: Monocyte chemoattractant protein 1
MHC	: Major histocompatibility complex
MIG	: Monokine induced by interferon gamma
MIP	: Makrofaj inflamatuar proteinleri
mRNA	: Messenger RNA
NFAT	: Nuclear factor of activated T cells
NFkB	: Nükleer faktör kappa B
NK	: Naturel killer
PCR	: Polymerase chain reaction
PDGF	: Platelet derived growth factor
PIP	: Fosfotidil inozitol bifosfat
PKC	: Protein kinaz C
PNL	: Polimorfonükleer lokosit
RANTES	: Regulated upon activation normal T cell expressed and secreted

RNA : Ribonükleik asit

SAA : Serum Amiloid A

TCR : T cell receptor

TGF-β : Transforming growth factor beta

TNF-a : Tümör nekroz faktör alfa

WBC : White blood cell (lökosit)

ÖZET

Karaciğer Nakil Sonrası Çocuklarda İmmünolojik Yanıtın Amiloidoz Gelişimi Yönünden İncelenmesi

Amaç: Enfeksiyöz ve nonenfeksiyöz inflamasyona yanıt olarak yükselen SAA'nın serumda uzun süre yüksek düzeylerde seyretmesinin AA amiloidoz gelişim açısından risk faktörü oluşturduğu bilinmektedir. Karaciğer nakli sonrasında greft ile konak arasındaki immün etkileşimin kronik subklinik bir inflamatuar durum yaratması amiloidoz gelişim riskini arttırabilir. Kliniğimizde, metabolik karaciğer hastalığı nedeni ile nakil olup, post transplantasyon 11. yılında sistemik amiloidoz gelişen bir hastadan yola çıkarak karaciğer nakil sonrası ortaya çıkan immünolojik olayların amiloidoz gelişim riski açısından değerlendirimeyi amaçladık.

Hastalar ve Yöntem: İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Bilim Dalı Polikliniğinden takip edilen 1-20 yaş arasındaki karaciğer nakli sonrasında takip edilen a)posttransplantasyon 6. ayını doldurmuş 51 hastanın anlık SAA ölçümleri ve b) nakilden itibaren takip edilen 7 hastanın ardışık SAA ölçümlerleri ile amiloidoz gelişim riskini öngörmeyi hedefledik.

Bulgular: Kesitsel olarak değerlendirilen posttransplantasyon 6. ayını doldurmuş (ortalama 60,7±42,3 ay)51 olgunun anlık SAA ölçümleri 0,69 ile 71,80 mg/L arasında değişmekte olup, ortalama 7.46±10.81 mg/L(medyan 4,1mg/L) olarak saptandı. SAA değeri 10 mg/L üzerinde olma oranı %13,7 (n=7) olarak saptandı. Çalışma başladıktan sonra nakil olan 7 hastanın serum amiloid A düzeyleri arasındaki değişimler incelendiğinde nakil öncesine göre 1.hafta ve 1. ayda görülen yükseliş istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). Ancak bu yüksek değerler persiste etmiyordu, nakil öncesine göre nakil sonrası 6.ay ölçümleri anlamı farklılık göstermiyordu($p>0,05$). SAA' nın 1. hafta ve 1. ayda yükseldiği dönemde CRP değerlerinde de yükseklik olması ve kültür üremeleri bu yüksekliğin enfeksiyon ilişkili olabileceğini düşündürdü.

Sonuçlar: Zaman geçtikçe karaciğer allogreftinin konakta immünolojik açıdan belli bir dengeye ulaşması durumunda bu etkileşimin azalmasıyla birlikte amiloid A proteini üretiminin persiste etmediğini düşündürmektedir. Nakil sonrası ilk dönemlerde gözlenen artmış SAA düzeyleri, amiloidoz gelişimi açısından risk yaratacak değerlere ulaşmıyor izlenimi vermiştir. Ayrıca yüksek değerlerin sınırlı bir dönemde olması amiloidoz gelişimi açısından genel bir risk oluşturmadığının düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler:karaciğer transplanlasyonu,immünoloji,amiloidoz

SUMMARY

Investigation of Immunological Response in Children After Liver Transplantation in Terms of Amyloidosis

Purpose : SAA levels rise in response to infectious and noninfectious inflammation. Sustained elevation of SAA is a risk factor for development of AA amyloidosis. After liver transplantation, the immunological interaction between the graft and the host leads to a state of subclinical inflammation, which may increase the risk for development of amyloidosis. After the occurence of amyloidosis in a patient in the eleventh year after liver transplantation performed due to metabolic liver disease, we aimed to evaluate the immunological processes after transplantation for the risk of amyloidosis.

Patients and Methods: Patients between the ages of 1 - 20 treated in our hepatology unit were enrolled in the study. We obtained samples for SAA from 51 patients who were transplanted more than 6 months ago. We obtained samples from 7 patients immediately before the transplant and 1 week, 1 month and 6 months posttransplant. We aimed to predict the risk for the development of amyloidosis.

Results: The 51 patients who completed a minimum of 6 months posttransplant (mean 60.7 ± 42,3 months) were evaluated in a cross sectional study and had SAA levels between 0.69 and 71.8 mg/L (mean: 7.46 ± 10.81 mg/dL, median 4.1 mg/L). 13.7% of patiens (n = 7) had a SAA level of 10 mg/L or higher. 7 patiens who were transplanted during the study period were found to have statistically significant elevations of SAA in the first week and first month posttransplant ($p < 0.05$). However, these elevations did not persist, as the SAA levels at 6 months posttransplant significantly higher ($p > 0.05$). In the first week and month posttransplant, CRP levels were also elevated and cultures were positive, which suggests that the elevated SAA levels were of infectious origin.

Discussion: After liver transplantation, the graft and the host reach a state of immunologic equilibrium with time. As the intensity of the interaction between the graft and the host decreases, production of SAA decreases. The elevated SAA levels in the early posttransplant period do not seem to be high enough or persist long enough to increase the risk for the development of amyloidosis.

Keywords: liver transplantation,ımmunology,amyloidosis

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Amiloid, çeşitli klinik bozukluklarda vücudun birçok doku ve organında hücreler arasında depolanan ve çözünmeyen protein agregatlarıdır. Amiloidoz, organlarda farklı amiloid proteinlerinin ekstraselüler olarak birikmesi ile oluşan heterojen hastalıklar topluluğudur. Sekonder amiloidoz olarak da bilinen AA tipi amiloidoz akut faz reaktanı olan SAA protein parçalarından oluşan fibirillerin hücre dışında birikmesi ile kronik inflamasyon sonrasında gelişir. SAA nın yüksek plazma düzeyi inflamatuar süreci göstermektedir. Serum amiloid A nın uzun sureli olarak plazmada yüksek düzeyde bulunması amiloidoz gelişimi için artmış risk ile ilişkilidir Proteolitik sindirime dirençli fibriller kalp, böbrek ve gastrointestinal sistem gibi hayati organlardaki normal dokuları tahrip ederek erken ve ani ölüme neden olabilirler. Amiloidoz klinikte en sık FMF ile ilişkili olarak ortaya çıkar ve en sık böbrek olmak üzere çeşitli organ tutulumları ile karşımıza gelir.

Karaciğer naklinde, karaciğer greftinin vasküler anastomozlarının tamamlanmasının ardından alıcının immün sistemi, vericinin dokularına karşı greft reddi ile sonuçlanabilecek bir seri hücresel ve moleküler yanıt gösterir. Hiperakut rejeksiyonda; vericinin kan grubu, HLA ya da greftden eksprese edilen diğer polimorfik antijenlerine karşı gelişen antikorlar ile alıcının daha önce karşılaşması durumunda bu antikorlar greft endoteline bağlanıp kompleman ve prokoagulan kaskadı aktive edebilmekte ve kısa sürede organın kaybına neden olabilmektedir. Akut rejeksiyon, genellikle transplantasyon sonrası ilk 90 gün içerisinde görülür ve gelişiminde hücresel ve hümoral yanıt rol oynamaktadır. HLA farklılığı hızlı bir greft hasarı ve yıkımına yol açan T lenfosit ve monosit aktivasyonuna yol açar. Ayrıca eozinofil,granülosit makrofaj ve NK hücreleri de bu immün reaksiyonda rol oynamaktadır. Akut rejeksiyon sonrasında laboratuarda immünolojik olarak lökositoz ve eozinofili çeşitli intekökin seviyeleri veya intelökin reseptörlerinde artış, neopterin, serum amiloid A protein, anti-donor class I MHC antikorlarında artış görülebilir.Kronik rejeksiyonda akut rejeksiyondan farklı olarak greft hasarı çok daha yavaş gelişir. Ekstrasellüler matriks inflamatuar proteazlar tarafından yıkıma uğrar ve debris makrofaj ve granülositler tarafından fagosite edilir. Fibroblastlar;kollojen, fibronektin ve proteoglikanların yeni oluşacak ekstraselüler matrikste organize olmalarını sağlayarak morfolojik değişimden ve skar formasyonu oluşumundan sorumludur. Tüm bu değişimler organ hasarına, greft disfonksiyonuna ve son olarak da organın kaybedilmesine yol açabilmektedir.

Enfeksiyöz ve nonenfeksiyöz inflamasyona yanıt olarak yükselen SAA'nın serumda uzun süre yüksek düzeylerde seyretmesinin AA amiloidoz gelişim açısından risk faktörü oluşturduğu bilinmektedir. Karaciğer nakli sonrasında greft ile konak arasındaki immün etkileşimin kronik subklinik bir inflamatuar durum yaratması amiloidoz gelişim riskini arttırabilir.

Kliniğimizde, metabolik karaciğer hastalığı nedeni ile nakil olmuş bir hastanın post transplantasyon 11. yılında tanımlanan sistemik amiloidoz nedeni ile kaybedilmesinden yola çıkarak karaciğer nakil sonrası çocuklarda immünolojik yanıtın amiloidoz gelişim yönünden değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Organ transplantasyonu, son dönem organ yetmezliklerinde en başarılı tedavi olarak kabul edilmektedir. Tedavide umut vaadedici olup, kısa dönem sonuçlarında ciddi başarılar kaydedilmiş olsa da immüsüpresif ilaçların uzun süreli kullanımı sonrasında gelişen toksisite ve rejeksiyon gibi komplikasyonlara bağlı olarak uzun dönem sağ kalımlar beklenenin altında düzeyde kalmaktadır.

Karaciğer transplatasyonu sonrasında alıcıların yaşam beklentisi normal popülasyona göre daha düşük olarak bildirilmektedir(5 yıllık sağ kalım %68) (1).Oniki yıl içerisinde karaciğer trasplantasyonu alıcılarında %20 oranında de nova maligniteler gelişmiş olup bu vakaların %50 den fazlası ölüm ile sonuçlanmıştır (2).Ayrıca organ alıcılarında renal hastalık, kardiyovasküler hastalık ve enfeksiyonlara bağlı ölüm riski de artmaktadır (3).

Karaciğer, sindirim organlarından gelen mikrobiyal ve çevresel antijenlere sürekli maruz kalan ve bu antijenlere karşı gelişen immün reaksiyonlardan korunmak için doğal mekanizma geliştiren tolerojenik bir organdır. Karaciğer transplantasyonunda diğer solid organlar ile kıyaslandığında organ rejeksiyonunun daha düşük oranda görülmesinin ve alıcıların daha düşük dozlarda immünsüpresif gereksinimi olmasının bu lokal tolerojenik mekanizmalar ile ilişkili olabileceği öngörülmektedir (4).

Karaciğer nakil hastalarında tolerans ve rejeksiyonun altta yatan immünolojik mekanizmalarını anlamak nakil sonrasında gelişebilecek komplikasyonları aydınlatmak ve önleyebilmek için anahtar rol oynamaktadır.

2.1. Temel İmmünoloji

Transplante dokuyakarşı geliştirilen immün yanıtı anlamak için genel immün yanıtın kısaca gözden geçirilmesi faydalı olacaktır.

Başlıca görevi, organizmayı yabancı moleküllere ve mikroorganizmalara karşı savunmak olan immün sistem, bunları tanıyarak, çeşitli efektör mekanizmalar ile cevap verir.

Memeli immün sistemi karmaşık bir sistem olup doğal ve edinsel immünite olmak üzere 2 grupta incelenebilir.

2.1.1. Doğal ve Edinsel İmmünite

Doğal immünite, hücresel ve biyokimyasal savunma mekanizmalarından meydana gelir. Fiziksel ve kimyasal bariyer (epitel ve yüzeyinde antimikrobiyal madde üretimi),fagositik

hücreler (nötrofil, makrofaj) , NK hücreler, kompleman bileşenleri, inflamasyonun diğer mediyatörleri ve sitokinler doğal immünitede rol oynarlar.

Edinsel immunite, belirli antijenik yapılara karşı özgül olarak gelişir, bu tip immünitede hücresel ve hümoral bağışıklık mekanizmaları rol oynar. Hücresel bağışıklık T lenfositler, hümoral bağışıklık ise B lenfositler ve plazma hücrelerinden oluşur.

Doğal ve edinsel immün sistem kendi aralarında sıkı bir ilişki içindedir. Antijen-spesifik T hücre aktivasyonu doğal immün sistemin elemanları olan sitokin ve kemokinlerin üretim ve sekresyonuna yol açarken, kompleman komponentlerinin dokularda lokal üretimi T hücre aktivasyonu için gereklidir (5).

Organ transplantasyonu, edinsel immünitenin bir formu olup grefte immün yanıtın birinci hedefi verici hücre yüzeylerinde eksprese olan Major Histocompatibility Complex (MHC) molekülleridir.

2.1.2. Major doku uygunluk kompleksi ve molekülleri

Kazanılmış bağışıklık sisteminin en önemli hücrelerinden birisi olan T hücrelerin protein yapısındaki antijenlere karşı özgün yanıt gerçekleştirebilmesi için bu antijenlerin antijen sunan hücreler (antigen presenting cells, APC) tarafından alınması, işlenmesi ve bazı yüzey moleküllerine bağlanarak T hücrelerine sunulması gerekmektedir. Bu yüzey molekülleri major doku uygunluk kompleksi (major histocompatibility complex; MHC) molekülleridir.

İnsan genomunda MHC moleküllerinin kodlanmasını sağlayan genlerin bulunduğu bölge ise majör doku uygunluk kompleksi olarak adlandırılır (6).

1940'lı yıllarda Dr. George Snell ve arkadaşları genetik olarak birbirinden farklı fareler arasında yapılan deri nakillerinin rejeksiyonla sonuçlandığını, ancak sinjeneik (genetik olarak birbirinin aynı) fareler arasında yapılan deri nakillerinin başarılı olduğunu göstermişlerdir. Bu farelerin genomları incelendiğinde ise farklılığın genomda bulunan dev bir gen kompleksinden kaynaklandığını bulmuş ve bunları doku kabul ve rejeksiyonundan sorumlu olmaları nedeniyle doku uygunluk genleri (histocompatibility genes) olarak adlandırmışlardır. Ancak o dönemde buldukları bu gen kompleksinin gerçek fonksiyonunu tam olarak açıklayamamışlardır. Daha sonraki yıllarda ise Dr. Snell ve arkadaşları farelerde buldukları bu dev gen kompleksinin insanda da mevcut olduğunu göstermiş ve buna da majör doku uygunluk kompleksi (major histocompatibility complex: MHC) adını vermişlerdir. İnsanlarda

bu bölgede bulunan genler tarafından kodlanan moleküller ise insan lökosit antijenleri (human leukocyte antigen; HLA) olarak adlandırılmıştır (7).

İlk çalışmalardan yaklaşık 35-40 yıl sonra Dr. Snell ve ekibi MHC ve MHC moleküllerinin gerçek fonksiyonlarını tam olarak tanımlamış ve bu buluşları ile 1980 yılında Nobel Tıp ödülünü almışlardır (8).

MHC insanda 6. kromozomun kısa kolunda yerleşmiş, MHC moleküllerini kodlayan dev bir gen kompleksidir.

MHC üç ana lokustan meydana gelir. Bunlar MHC Class I, MHC Class II ve MHC Class III lokuslarıdır.

MHC, organizmanın en polimorfik genlerinin bulunduğu bölgedir. Diğer önemli bir özellikleri de kodominant olarak eksprese edilmesidir. Yani hem anneden hem de babadan geçen genlerin tamamı kodlama yapar, böylece fenotipik olarak iki ebeveynden geçen genlere ait moleküller aynı kişide üretilir ve MHC moleküllerindeki çeşitliliği artırır (9).

MHC molekülleri, insanda ilk kez lökositlerin yüzeyinde gösterildiği için insan lökosit antijenleri (human leukocyte antigen; HLA) olarak adlandırılmıştır. Ancak daha sonraları MHC I moleküllerinin tüm nükleuslu hücrelerde bulunduğu, MHC II moleküllerinin ise makrofajlar, dendritik hücreler, B hücreleri ve bazı özel şartlar sağlandığında endotelde de eksprese olduğu gösterilmiştir (10).

MHC molekülleri bu hücrelerin yüzeyinde self antijenlere bağlı olarak sabit şekilde eksprese olurlar. Ancak yabancı bir antijen organizmaya girdiğinde aktif hale geçen sitokinler ile ekspresyonları belirgin olarak artar (11).

MHC-I molekülleri bir α ve bir β2 mikroglobulin zincirinden oluşur. β2 mikroglobulin, farklı MHC genleri olan bireyler arasında büyük bir sekans homolojisi olduğundan daha korunmuş olup alfa sarmal bölgeleri daha çeşitli ve polimorfiktir. α zinciri üç yerde kıvrım yapar: α1, α2 ve α3. Bunlardan α1 ve α2 kıvrımlarının tepesi, zincirin en polimorfik olan kısımlarıdır ve bu iki kıvrımın arasında oluşan oluk peptid antijenin MHC molekülüne bağlandığı bölgedir. Oluk yaklaşık 8-10 aminoasit uzunluğundaki peptidlerin yerleşebileceği büyüklüktedir.β2 mikroglobulin zincirinin ise α zinciri ile non kovalent bağlarla bağlanır ve görevi MHC ile antijenin bağlantısını güçlendirmek ve stabilize etmektir (11,12).

MHC I molekülleri hemen tüm nükleuslu hücrelerde bulunur. Ana görevi intrasitoplazmik olarak yerleşim gösteren tümör antijenleri ve virüsler gibi yabancı antijenleri CD8+ sitotoksik T hücrelerine sunmaktır. Başlangıçta, intrasitoplamik antijeni içeren bu hücreler; makrofajlar,dendritik hücreler, B lenfositler ve vasküler endotelyal hücreler gibi APC ler(antigen presenting cells) tarafından internalize edilip işlenir ve yüzeylerinde bulunan MHC I ve II molekülleri aracılığıyla komşu lenf bezlerindeki naive T hücrelerine sunulur. Sonrasında antijene özgün CD8+ sitotoksik T hücre klonu ve bir miktar da CD4+ yardımcı T hücre klonu aktive ve prolifere olur. Daha sonraki aşamada ise efektör hale gelen CD8+ sitotoksik T hücreleri antijenin asıl olarak bulunduğu bölgeye gider ve ilgili antijeni yüzeyindeki MHC I molekülleri ile eksprese eden hücreleri tespit edip bunları içindeki antijenle birlikte öldürür (13).

MHC II molekülleri birbirine non-kovalen bağlarla bağlı polimorfik bir α ve polimorfik bir β zincirden oluşur. Bu zincirlerin her biri α1, β1 ve α2, β2 olacak şekilde iki bölgede kıvrım yapar. α1 ve β1 kıvrımlarının tepe noktası molekülün en polimorfik kısmıdır ve bunların arasında oluşan oluk antijenin bağlandığı bölgedir. Antijen bağlanma oluğu MHC I molekülüne göre daha esnektir ve 10-30 aminoasitten oluşan daha büyük peptidler bu oluğa sığabilir. α2 kıvrımı MHC ile antijenin bağlantısını güçlendirir ve stabilize eder. β2 kıvrımı ise MHC molekülünün T hücre koreseptörü olan CD4'e bağlanma bölgesidir.

MHC II moleküllerinin görevi fagosite edilen ekstrasellüler antijenleri CD4+ yardımcı T hücrelerine sunmaktır. Başlangıçta, vücuda giren ekzojen antijenlerle karşılaşan ve onları fagosite eden APC'ler antijeni işleyip yüzeylerindeki MHC II molekülleri ile komşu lenf bezinde bulunan naive CD4+ yardımcı T hücrelerine sunarlar. CD4+ yardımcı T hücrelerin uyarılması çeşitli sitokinlerin üretilmesine neden olur. IL2 hem CD8 lenfositleri hem de CD 4 hücreleri uyarır. IFNγ üretimi ile APC üzerinde MHC II yapımının artırılmasına yardımcı olur. Aktive ve prolifere olan yardımcı T hücre klonu antijenin bulunduğu bölgeye gider ve antijeni sunan makrofajlar ve B hücrelerine yardımda bulunur. Antijeni sunan hücre makrofaj ise CD4+ yardımcı T hücresi onu, antijeni fagosite etmesi konusunda daha etkin bir hale getirir, B hücresi ise onu antikor üretmesi yönünde uyarır (13,14).

T hücreleri antijene özgünlüğü çok yüksek olan hücrelerdir ve bir antijeni tanıyıp reaksiyon oluşturabilmesi için bu antijenin MHC yüzey molekülleri tarafından işlenmesi ve sunulması gerekmektedir (15).

MHC molekülleri T hücre reseptörleri kadar özgün moleküller değildir ve özgünlüğü oluşturan T hücre reseptörünün kendisidir. Yani farklı peptidler aynı MHC molekülüne bağlanıp sunulabilir, ancak yalnızca buna özgün olan T hücre klonu aktive olup proliferasyon gösterir (6,15).

Ayrıca MHC molekülleri kişinin kendi (self) antijenleri ile yabancı (non-self) antijenleri birbirinden ayıramaz. Antijen bağlanma oluğuna yapıca uygun olduğu sürece her antijen bağlanıp sunulabilir. Hatta normal şartlarda hücrelerin yüzeyindeki MHC moleküllerine bağlanan antijenlerin hemen tamamı self antijenlerdir ancak organizma self antijenlere reaksiyon oluşturmaz. Çünkü self antijenlere reaksiyon oluşturabilecek T hücrelerinin hemen tamamı santral tolerans aşamasında yok edilmiştir. Kalanlar ise reaksiyon oluşturmaması için periferde sıkı bir şekilde kontrol altında tutulur (6,16).

Yabancı bir antijen vücuda girdiğinde ise uyarılan doğal ve kazanılmış bağışıklık sistemi sitokinleri sayesinde hem MHC moleküllerinin hem de kostimülatörlerin ekspresyonu artar. Böylece self antijenler tarafından işgal edilmemiş durumda olan kısıtlı sayıdaki MHC molekülüne bağlanma fırsatı bulan yabancı antijen için sayıca az gibi gözükse de etkinlik açısından güçlü bir antijen sunumu gerçekleştirilir. Bu sunum özgün T hücre yanıtı oluşturmak için yeterlidir (17).

MHC molekülleri transplantasyon sonrası gelişen rejeksiyonun ana nedendir. Allojeneik MHC molekülleri yabancı antijenler olmaları nedeniyle immün sistem tarafından fark edilir ve alloreaktif T hücreleri harekete geçer. Bu, direkt ya da indirekt yollarla meydana gelebilir. Donöre ait APC'lerin yüzeyinde bulunan MHC molekülleri self MHC molekülüne yapıca çok benzer olduğunda direkt olarak alloreaktif T hücreleri ile reaksiyon oluşturabilir. Bu durumda birden fazla T hücre klonu aktive olur. Ya da allojeneik MHC molekülü kişinin APC'leri tarafından yakalanır, işlenir ve T hücrelerine sunulur. İndirekt olan bu sunumda ise yalnızca özgün T hücre yanıtı meydana gelir (18).

2.2. Transplantasyon İmmünolojisi

İmmün sistem, transplantasyonun rutin medikal bir tedavi yöntemi olarak kullanılmasının önündeki en önemli engeldir. İmmün sistem, yabancı ajanları yok etmek üzere efektif mekanizmalar ile donatılmış olup nakledilen organın rejeksiyonunda en önemli rolü oynamaktadır. Bu mekanizmaların bilinmesi, rejeksiyonun klinik bulgularının anlaşılması, erken tanı ve uygun tedavilerin geliştirilebilmesi için son derece önemlidir.

Transplantasyon immünolojisi ile ilgili gelişmeler,1970 li yılların sonuna doğru başlamış ve bu alandaki ilerlemeler yeni immünsüpresiflerin kullanıma girmesini ve organ kayıplarının azalmasını sağlamıştır. Transplantasyondaki en büyük problem alıcının grefte karşı olan reaksiyonudur (19).

2.2.1. Greft Tipleri

Grefte karşı gelişen immün yanıtın derecesi greft ile alıcı arasındaki genetik farklılığın derecesine bağlı olarak değişmektedir. Farklı türlerin üyeleri arasında gerçekleştirilen ksenogreftler maksimal immün cevaba yol açarak hızlı rejeksiyona yol açabilmektedir. Vücudun bir bölümünden başka bir bölümüne alınan otogreftler (deri greftleri) ve genetik olarak aynı bireyler arasında gerçekleştirilen izogreftler (tek yumurta ikizleri) doku farklılığı olmadığından rejeksiyona neden olmamaktadır. En sık transplantasyon formu olan allogreft aynı türün farklı bireyleri arasında gerçekleştirilir. Allogreftin rejeksiyona gitme derecesi donör ve alıcı arasındaki benzerlik derecesine ve histokompatibiliteye bağlıdır. Yanıtın derecesi ve türü transplantasyonun türüne göre de değişmektedir. Örneğin; immünolojik olarak özel bir yapıya sahip olan göz ve beyin dokusu minimal derecede immün sistem hücreleri olması nedeni ile uygunsuz donör nakillerini bile tolere edebilirler. Deri greftleri başlangıçta vaskülarize olmadıklarından kanlanma olana kadar rejeksiyon geliştirmezler. Kalp, böbrek, karaciğer gibi yüksek vaskülarize organlar ise alıcıda güçlü hücresel yanıta neden olabilmektedir.

2.2.2. Alloantijenin Tanıma Yolakları

T hücrelerinin alloantijeni tanıması, transplante organın rejeksiyonu ile sonuçlanan, direk ve indirek yolaklar üzerinden olan ve her biri allospesifik T hücre klonlarının üretimine yol açan temel olaydır.

2.2.2.1. Direkt Yolak

Alıcı T hücreleri donör hücre yüzeyindeki intakt allo-MHC moleküllerini tanır. Endojen peptid ile bağlı olmayan MHC molekülü unstabil olduğundan T hücreleri tarafından tanınamaz. Ancak endojen proteinlerden derive peptidler donör MHC molekülüne bağlanıp donör dokuyu yabancı olarak algılamasında rol oynarlar. Bazı T hücrelerinin sadece MHC moleküllerini tanıyabildiğine dair kanıtlar da bulunmaktadır. Bu yolun erken alloimmün yanıtta dominant yol olduğu düşünülür (20).Direkt alloimmün yanıt akut rejeksiyonda büyük öneme sahiptir.

Transplante organ interstisyel dendritik hücre formunda çeşitli sayıda APC ler taşımaktadır. Bu APC ler yoğun olarak allo MHC molekülleri içerdikleri için alıcı T hücrelerini direkt olarak uyarabilme özelliğine sahiptirler. Bu "Profesyonel APC ler" tam bir T hücre aktivasyonu için gerekli olan kostimülatör sinyalleri sağlar. MHC antijeni eksprese eden parankimal hücreler sıklıkla kostimülatör moleküllerden yoksundur ve T hücreleri tam olarak aktive edemezler("Profesyonel olmayan APC ler") Ancak genetiği değiştirilmiş hayvanlar üzerinde yapılan bazı çalışmalarda kanıtlar vasküler endotelyal hücreler gibi bazı "Profesyonel olmayan APC lerin T hücre aktivasyonu için yeterli olduğunu desteklemektedir (21).

Alıcıdaki CD4 ve CD8 T lenfositler bu yolakta rol oynayan temel hücrelerdir.CD8 T lenfositler HLA class 1 antijenlerini tanır ve sitotoksik T lenfositlere dönüşerek greft dokusunun öldüren mekanizmaları devreye sokar. CD 4 T lenfositler ise allojenik class 2 molekülleri ile karşılaştıktan sonra aktive olarak greft hasarı ile sonuçlanan vasküler permeabilite artışı, mononüleer hücre birikimi, makrofaj aktivasyonu gibi gecikmiş tip hipersensitivite reaksiyonlarına yol açar.

Genel olarak bu hipotezin sonucu transplantasyon sonrasında zamanla donör kaynaklı APC ' lerin sayısı azaldıkça direkt yol üzerinden olan immün yanıtın da azaldığı yönündedir.

2.2.2.2. İndirekt Yolak

Çok yakın bir zamana kadar transplantasyon çalışmalarında alloantijen tanınmasında sadece direkt yolakların varlığı bilinip, rejeksiyonda indirekt yolakların katkısı hakkında çok az şey biliniyordu. Alloantijen tanınmasında indirekt yolakların varlığı ilk olarak 1980lerin başında Lechler ve Batchelor un yaptığı çalışmalarda bahsedilmiştir (22,23).

Daha sonrasında yapılan birçok çalışmada indirekt yolakların CD4 T lenfositlerin sitokin üretimi, gecikmiş tip hipersensitivite yanıtı, sitotoksik T lenfosit üretimi, B hücreler tarafından anti-donör IgG oluşumu gibi alloantijen yanıtlarının tümünde etkili olduğu kanıtlandı (24,25). Ayrıca farelerde tüm alloimmün yanıtın %10-15 i gibi önemli bir kısmından indirekt yolakların sorumlu olduğu gösterildi (26).

Bu yolakta alloantijen tanınmasındaki temel faktör, greftten salınan MHC moleküllerinin alıcı APC hücreleri tarafından alınıp T hücrelerine sunulmasıdır (27).

Transplant hastaları gibi normal insanlarda da intakt MHC moleküllerinin salındığı gösterilmiş ancak donör hücre antijenleri apoptozise uğrayıp dendritik hücreler tarafından fagosite edildikten sonra T hücrelerine sunulmaktadır(28). Yani indirekt yolakta direkt yolaktan farklı olarak T hücreler self APC ler tarafından sunulan alloantijenleri peptid olarak işlenmiş formda tanımaktadırlar.

Greft rejeksiyonuna, direkt ve indirekt yolakların katkısını açıklayan bir teoriye göre; direkt alloimmün yanıtın akut rejeksiyona intakt MHC molekülleri yayan greftin taşıdığı yüksek miktarda hemotolenfoid hücreler(passenger lökosit) aracılığı ile neden olduğu yönündedir. Zamanla bu hücrelerin yerlerini self APC lere bırakması ile bu yol önemini kaybedecek ve kronik rejeksiyonda indirekt yolak ön plana çıkacaktır (29).Son dönemlerde yapılan klinik ve deneysel çalışmalar da kronik rejeksiyonda indirekt yolakların rolünü desteklemektedir (30,31).

Deneysel olarak APC leri yok edilmiş fare allogreftinde akut rejeksiyon olmadığı ancak kronik rejeksiyon varlığı gösterilmiş (22).

Son çalışmalarda indirekt alloimmün yanıt ile kronik rejeksiyondaki morfolojik değişikler arasındaki bağlantı fare kardiyak allogreft modeli üzerinden donör kaynaklı MHC allopeptidlerine T hücre yanıtının vaskülit gelişimine neden olduğu gösterilerek desteklenmiştir (32).Bu sonuçlar indirekt alloimmün yanıtın vaskülarize organlardaki kronik rejeksiyonun önemli bir göstergesi olan transplant vaskülopatisi gelişiminde ciddi bir rolü olduğunu desteklemektedir.

İndirekt olarak aktive olan T hücreler sitokin üretimine, makrojaj aktivasyonuna ve antikor üretimi için B hücre uyarımına neden olmaktadır. İntraparankimal greft damar duvarlarının bu düşük dereceli inflamasyona maruziyeti intimal proliferasyona ve transplant vaskülopatisine neden olmaktadır. Transplant vaskülopatisi ise greft fibrozisi ve yıkımına yol açmaktadır.

2.2.3. T Hücre Aktivasyonu

Allogreft rejeksiyonunu anahtar noktası T hücre aktivasyonudur. T hücresinin antijeni tanıması immün yanıtın etkili mekanizmalarını başlatan primer olaydır. Bu anahtar basamak iki farklı sinyali gerektirir.

Birici sinyal APC tarafından peptit olarak sunulan antijenle T hücre reseptörleri ile etkileşimi sonrası ikincisi ise T hücre / APC yüzeyindeki kostimilatör reseptör/ ligand etkileşimi sonrası oluşturulur. Etkileşim bir kez başladığında, T hücreleri sitokinlerin etkisi altında klonal olarak çoğalır ve aktive olur. Aktive olmuş T lenfositler CD 8 T hücre ilişkili sitotoksisiteyi indükler, B hücelerine antikor üretimi için yardım eder ve gecikmiş tipte hipersensitivite yanıtı indüklemek için makrofajlara yardım eder (33).

2.2.3.1. Kostimülasyon

T hücrelerin bir antijeni tanıyabilmesi için 2 sinyale ihtiyacı vardır. Birici sinyal MHC molekülü tarafından sunulan antijenin T hücre reseptörleri ile etkileşimi sonrası ikincisi ise T hücre / APC yüzeyindeki kostimilatör reseptör/ ligand etkileşimi sonrası oluşturulur. Kostimulasyon denilen ikinci sinyal antijen spesifik değildir ve olmaması durumunda immün yanıt gerçekleşememektedir. İki sinyal de olduğunda T hücreleri aktive olarak prolifere olup IL-2 gibi sitokin üretimini gerçekleştirmektedir.

Sayısız kostimilatör yolakların arasında T hücre yüzeyindeki CD 28 ile APC yüzeyindeki B7-1 ya da B7-2 ligandları arasındaki etkileşim en fazla çalışılanlar arasında yer almaktadır. Ayrıca T hücreleri yapısal olarak CD28 e benzeyen CTLA-4 eksprese ederler ki CTLA-4 ün B7-1 ve B7-2 ile etkileşime girmesi ile immün yanıtın sonlanması için inhibitör sinyaller üretilir. Bunun da T hücre yanıtı sonlanmasında kritik bir feedback mekanizması olduğu düşünülür.

Son dönemlerde yapılan çalışmalarda aktive CD4 T hücresindeki CD40 ligandı ile APC s üzerindeki CD40 arasındaki etkileşimin B7 ekspresyonunun indüklendiği ve CD28 kostimülatör yolağını güçlendirdiği gösterilmiştir. Ayrıca CD40-CD40 ligand etkileşimi B hücre aktivasyonu ve antikor üretimi ile de ilişkilidir.

CD 28 in ligandları ile etkileşimi sonrasında T hücre proliferasyonu, IL 2 sentezi, antiapoptotik proteinlerin ekspresyonu gerçekleşmektedir.

Tüm bu nedenlerden ötürü bu reseptör ligand sistemleri greft rejeksiyonunda büyük bir potansiyel öneme sahiptir.

Bu yolakların dışında T hücre kostimülasyonunda rol oynayan ancak transplantasyon immünolojisinde görevler tam olarak tanımlanamamış birçok yolak keşfedilmiştir (34,35).

2.2.3.2. T Hücre Aktivasyonunun Hücre İçi Mekanizması

T hücre aktivasyonu takiben saniyeler içerisinde membran bağımlı fosfotidil inozitol 4,5 bifosfat(PIP) ,diaçilgliserol (DAG) ve inositoltrifosfata (IP3) hidrolize olur.IP3 ün artması endoplazmik retikulumdan kalsiyum salınımına ve stoplazmik kalsiyum düzeyi artışına neden olur. Kalsiyum artışı, kalsinörin fosfotazı da içeren birçok kinazı aktive eden kalsiyum kalmodulin kompleks oluşumunu sağlar. Kalsinörin aktive olmuş T hücrelerdeki sitoplazmik nükleer faktörü(NFAT) defosforile ederek IL2 m-RNA transkripsiyonunu stimule eder. Bunun dışında DAG ilişkili protein kinaz C aktivasyonu ve NFkB (nükleer faktör kappa B) aktivasyonunu da içeren moleküler düzeyde sayısız hücre içi olay gerçekleşmektedir. PKC aktivasyonu kostimulasyon yolakları ilişkili genlerin transkrisiyonel aktivasyonu ve ekspresyonunda rol oynamaktadır. NFkB çeşitli sinyallerin aktivasyonundan sorumlu diğer bir önemli nükleer transkripsiyon faktörüdür (36).

2.2.4. Sitokin ve Kemokinlerin Rolü

Transplante organa immün yanıt kavramsal olarak; sensitizasyon fazı, efektör faz ve düzenleyici faz olarak ayrılabilir. Sensitizasyon aşamasında alıcı T lenfositleri alloantijenleri tanır ve aktive olur. Sonrasında efektör fazda bu hücreler prolifere olur ve aktive lenfositlere dönüşerek allogrefte hasar veren diğer hücreleri uyarırlar. Düzenleyici fazda feedback mekanizmaları T lenfositleri down regule ederek immün yanıtları kontrol altında tutarak allogreft toleransına katkıda bulunurlar. Sitokin ve kemokinler ise immün yanıtın değişik fazlarını düzenleyen otokrin ye da parakrin etki gösteren küçük protein yapıda hormonlardır (37).

2.2.4.1. Sitokinler

Sitokinler, immün yanıtta rol oynayan lenfosit, monosit, dendritik hücre ve stromal hücreleri gibi çeşitli hücreler tarafından üretilmektedir.

Sitokinlerin transplantasyondaki önemi; akut rejeksiyondaki rolleri ve immünolojik toleransın gelişmesinde alloimmün yanıtın down regulasyonundaki işlevleri olmak üzere 2 ana alandan oluşmaktadır.

2.2.4.2. Sitokinlerin Allogreft Rejeksiyonundaki Rolü

APC ler T lenfositleri T hücre reseptör ve kostimülatör aracılığı ile aktive ederler. T lenfositler bir kere aktive olduktan sonra çoğalıp efektör ve yardımcı hücrelere farklılaşırlar. Yardımcı hücrelerin çoğunu (Th) CD4 fenotipi oluştururken sitotoksik T lenfosit gibi efektör

T lenfositler CD 8 hücrelerdir. Bu farklılaşma ise dendritik hücrelerden salınan sitokinler aracılığı ile olmaktadır.

Aktive dendritik hücreler tarafından sentezlenen IL 12,CD8 T lenfositlerin sitotoksik T lenfositlere CD 4 T lenfositlerin de proinflamatuar Th1 fenotipine farklılaşmasında önemli rol oynamaktadır (38).

IL2 ,interferon gama ve lenfotoksini içeren Th 1 den sentezlenen sitokinlerin organ hasarını kolaylaştırarak rejeksiyon gelişimine katkıda bulundukları öne sürülmektedir (37).

Fareler üzerinde sitokin genleri yok edilerek yapılan çalışmalarda her bir sitokinin rejeksiyon gelişimine katkıda bulunduğu fakat tek bir sitokinin rejeksiyon gelişmesi için yeterli olmadığı gösterilmiştir (39,40).

2.2.4.3. Sitokinlerin Tolerans Gelişmesindeki Rolü

Tolerans transplante organın sürekli bir immünsupresif tedavi olmaksızın yaşamını sürdürebilmesi, alıcının donör antijenlerine yanıtsız olup diğer antijenlere immün yanıtı devam ettirebilmesi anlamına gelmektedir (41).

Fareler ve insanlar üzerinde yapılan çalışmalara göre Th1 lenfositler IL-2, IFNγ ve lenfotoksin üretirken Th2 lenfositler IL-4,IL-5,IL-6,IL9,IL10 ve IL13 üretmektedir. Her iki hücre de aynı prekürsör lenfositten(Th 0)orijin almakta ve antijen tanınması sırasında salınan sitokinlerin etkisi ile farklılaşmaktadır. IL 12 ve IFNγ etkisi Th1 fenotipine, IL-4 ise Th2 lenfosit fenotipine farklılaşmayı sağlamaktadır (42).

Th1den salınan sitokinlerin gecikmiş tip hipersensitivite reaksiyonları, sitotoksik T lenfosit üretimi, makrofaj aktivasyonu ve antikor üretimi aracılığı ile allogreft rejeksiyonuna katkıda bulundukları, Th2 den salınan sitokinlerin ise gecikmiş tip hipersensitivite reaksiyonlarını baskılayarak ve IFNγ nın makrofajlar üzerindeki etkisini engelleyerek rejeksiyondan koruduğu öne sürülmektedir (43).Bu hipoteze göre Th1 ve Th2 lenfosit arasındaki denge transplante organın kaderini belirlemektedir. Bu hipotezi destekleyen kanıtların çoğu greftten eksprese olan sitokinlerin ters trankripsiyon PCR ya da immünhistokimya ile değerlendirilmesi yöntemine dayanmaktadır (44,45).Ancak son dönemde yapılan çalışmalarda Th2 hücre fonksiyonu ve tolerans gelişimi arasındaki ilişkinin geçerliliği yönünde hala kesin kanıtlar bulunmamaktadır.

2.2.4.4. Kemokinler

Kemokinler, inflamasyonda ve homeostazda lökositlere ve stem hücrelere kemotaksi yaptıran 8-12 kD moleküler ağırlığa sahip, multiple domainleri bulunan protein yapısında moleküllerdir. Lökosit migrasyonunu yanında anjiyogenez ve lökosit degranülasyonu gibi süreçlerin de gerçeklemesine yardımcı olmaktadır.

Birçok çalışmada transplante allogreftte kemokin proteinleri ve m RNA ekspresyonu gösterilmiştir. Bu kemokinlerin bir kısmı transplantasyonun erken aşamalarında operasyon süresince doku hasarına doğal bağışıklık yanıtı olarak eksprese edilmektedir. Farelerde erken dönem eksprese edilen kemokinler arasında makrofaj inflamatuar proteinleri (MIP 1A ve MIP 1B),IL-8 ve KC yer almaktadır (46).

Allogreftte geç dönem salgılanan kemokinler arasında IP-10(IFNγ inducible protein),MIG(monokine induced by IFNγ),RANTES(regulated upon activation normal T cell expressed and secreted)yer almaktadır (47).

Greft rejeksiyonu süresince kemokin genleri ve protein ekspresyona ait birçok bilgi olsa da rejeksiyonda kemokin fonksiyonu direkt olarak gösteren çalışmalar hala çok kısıtlıdır.

2.2.5. Efektör Mekanizmalar

Alloantijen bağımlı ve bağımsız faktörler allogreft rejeksiyon ilişkili efektör mekanizmaları etkilemektedir. Başlangıçta immunolojik olmayan yara cevabı nonspesifik inflamatuar yanıta sebep olmaktadır. Buna bağlı olarak adezyon molekülleri ,sınıf 2 MHC, kemokinler ve sitokinlerin ekspresyonundaki artışla T hücrelere antijen sunumunda artış olmaktadır (48).

CD4 T hücreleri bir kere aktive olduğunda makrofaj aracılı gecikmiş tip hipersensitivite yanıtı başlar ve antikor üretimi için B hücrelerini uyarır. CD 8 hücreler ise hücre aracılı sitotoksik reaksiyonlar aracılığı ile "ölümcül vuruş" ya da apoptozisi indükleyerek hücreleri öldürürler. Antijen sunan sınıf 1 MHC molekülleri ile karşılaştıktan sonra T hücreleri delik oluşumunu sağlayan perforin ve ICE (İntelökin -1-beta converting enzyme)yolağını aktifleyen bir serin proteaz olan granzim B salgılar ve birlikte hücre ölümünü uyarırlar. Hücre aracılı sitotoksitenin akut allogreft rejeksiyonunda önemli bir rolü olduğu gösterilmiştir (49).

Rejeksiyona uğramış allogreftler üzerinde yapılan detaylı immunohistolojik ve ters transkripsiyon PCR çalışmalarına göre transplantasyon sonrası erken dönemde T hücreleri ve T hücrelerinden üretilen IL-2 ve IFNγ gibi sitokinlerin gen ekspresyonları artmaktadır. Daha

sonrasında RANTES ,IP 10 ve MCP-1 gibi allogreftte yoğun makrofaj infiltrasyonunu tetikleyen kemokinlerin ekspresyonunda da artış olduğu gösterilmiştir (50).Düz kas ve mezengiyal hücre mitojeni IL-6 ,inflamatuar sitokin TNF-a, iNOS (indüklenebilir nitrik oksit sentaz)ve büyüme faktörleri de yaklaşık olarak eş zamanlı eksprese olmaktadır (51,52).TGF-β ve endotelin gibi büyüme faktörleri düz kas proliferasyonuna,intimal kalınlığa ve intertsiyel fibrozise yol açmaktadır.

T hücrelerden üretilen sitokinler aracılığı ile aktive olan endotel hücreleri ve makrofajlar sınıf 2 MHC ,adezyon molekülleri ve kostimulatör moleküller üretip daha fazla T hücresini aktive eder ve rejeksiyonu hızlandırırlar.

2.2.6. Rejeksiyonun Klinik Evreleri

2.2.6.1. Hiperakut Rejeksiyon

Hiperakut rejeksiyon daha önceden vericinin spesifik antijenlerine karşı oluşan antikorların varlığına bağlı olarak gerçekleşir. Bu antikorlar daha önce yapılmış kan transfüzyonları ve organ nakillerine veya çoklu gebeliklere bağlı oluşabilmektedir.

Hiperakut rejeksiyonda, vaskülarizasyon sistemi hızlı bir şekilde yıkıldığı için transplante doku dakikalar ve saatler içerisinde rejeksiyona uğrar.

Antijen antikor kompleksi greft endoteline bağlanıp kompleman ve prokoagulan kaskadı aktive ederek kapiller damarlarda masif trombüsler oluşturur ve greft damarlanmasını engelleyerek kısa sürede organ kaybına neden olabilir. Böbrek hiperakut rejeksiyona en duyarlı organ olup karaciğer ikili kanlanma sistemi ve tam anlaşılamamış immünolojik üstünlükleri nedeni ile göreceli olarak daha dayanıklıdır.

2.2.6.2. Akut Rejeksiyon

T hücre ve antikor aracılı vasküler ve parankimal hasar, immün süpresif tedavi yokluğunda transplantasyon sonrası 1. haftada başlar. Erken akut hücresel rejeksiyon,sıklıkla karaciğer transplantasyonunu takiben 90 gün içerisinde gelişir ve sonuçları hepatit C nedeni ile transplantasyon olan hastalar dışında grefti olumsuz yönde etkilemez. Geç hücresel rejeksiyon ise genelde kanda immünsüpresif ilaçların düzeyinin düşüklüğü ile ilişkili olup greft sağ kalımını olumsuz yönde etkileyebilmektedir (53).

2 ana immün yanıt akut rejeksiyona katkıda bulunur.

-Hücresel yanıt

Donör APC ler tarafından sunulan antijenler T hücrelerini aktive ettikten sonra greft hasarı ile sonuçlanan vasküler permeabilite artışı,mononüleer hücre birikimi,makrofaj aktivasyonu gibi gecikmiş tip hipersensitivite reaksiyonlarına yol açar.

-Humoral Yanıt

Greftteki alloantijenlere karşı gelişen antikorlar aracılığı ile kompleman bağımlı ya da antikora bağımlı hücresel sitotoksisite yolu ile hasarlanmaya neden olur. Bu antikorların ilk hedefleri greft damarları olup,endotel hücre hasarı,duvarda nötrofil infiltrasyonu ve lümende trombüs oluşumu ile karakterize nekrotizan vaskülit tablosuna yol açar.

Portal inflamasyon, portal ve hepatik venüllerin subendotelyal inflmamasyonu, safra kanalı iflamasyonu ve hasarı karaciğer dokusunda akut rejeksiyon sonrası görülen bulgulardır.

Erken ve hafif dereceli akut rejeksiyon ataklarında klinik bulgu olmayacağı gibi geç ve şiddetli ataklarda ateş, allogreftin şişmesine bağlı karın ağrısı ve hassasiyet, biliyer kateterlerden safra akımı azalması ve nadiren asit gelişebilir.

Akut rejeksiyon sonrasında laboratuarda karaciğer fonksiyon testlerinde yükseklik, immünolojik olarak lökositoz ve eozinofili çeşitli IL seviyeleri veya IL reseptörlerinde artış, neopterin, amyloid A protein, anti-donör sınıf I MHC antikorlarında artış görülebilir (54,55).

2.2.6.3. Kronik Rejeksiyon

İmmünsupresif tedavi ile akut rejeksiyonun önemli oranda kontrol altına alınması ile kronik rejeksiyon ciddi bir sorun olarak ön plana çıkmıştır. Kronik rejeksiyon akut rejeksiyon episodlarından sonra aylar ya da yıllar içerisinde gelişebilmektedir. Kronik rejeksiyonda greft hasarı çok daha yavaş gelişir. Ekstrasellüler matriks inflamatuar proteazlar tarafından yıkıma uğrar ve debris makrofaj ve granülositler tarafından fagosite edilir. Fibroblastlar;kollojen, fibronektin ve proteoglikanların yeni oluşacak ekstraselüler matrikste organize olmalarını sağlayarak morfolojik değişimden ve skar formasyonu oluşumundan sorumludur. PDGF (Platelet derived growth factor) ve bFGF(basic fibroblast growth factör) gibi makrofaj ve lenfositler tarafından üretilen sitokinler düz kas proliferasyonu ve kan damarlarının daralmasına neden olmaktadır. Tüm bu değişimler organ hasarına, greft disfonksiyonuna ve son olarak da organın kaybedilmesine yol açabilmektedir.

2.3. Amiloidoz

Amiloid, çeşitli klinik bozukluklarda vücudun birçok doku ve organında hücreler arasında depolanan ve çözünmeyen protein agregatlarıdır. Katı, dallanma göstermeyen ve belirli bir uzunluğu olmayan fibrillerden oluşan amiloid, proteolitik sindirime dirençli ve kolay çözülemeyen bir yapıdır.

Amiloidoz, organlarda farklı amiloid proteinlerinin ekstraselüler olarak birikmesi ile oluşan heterojen hastalıklar topluluğudur. Amiloid proteinleri biriktikleri doku ve organların yapısı ve bütünlüğünü bozarak ilerleyici fonksiyon bozukluğu yapabilir. Bu proteinlerin artışı, kronik enfeksiyonlar, romatolojik hastalıklar, gibi kronik inflamatuar durumlar ile ilişkili olabildiği gibi plazma hücre patolojileri ile birlikte görülebilir. Ayrıca, amiloidozların bir kısmı genetik mutasyonlar sonucu dokularda amiloid proteinlerinin birikimine yatkınlık yaratması ile de ortaya çıkabilmektedir.

Amiloid tipleri, yapı itibariyle birbirine benzese de öncül proteinleri birbirinden farklıdır. Öncül proteinin birikimi amiloid oluşumunu başlatan ilk basamaktır.

Amiloid öncülü proteinlerin konsantrasyonu arttığında veya bu proteinleri kodlayan genlerdeki bir mutasyon ya da polimorfizm sonucunda sentezlenen öncül proteinlerin proteazlar tarafından yeterince yıkılamaması sonucunda amiloid yapısını oluşturacak olan amiloid proteinleri meydana gelmektedir (56).

Aynı amiloid öncül proteinleri bir araya gelerek amiloid fibrillerini oluşturur. Bu sebeple fibrillerin kütlece büyük kısmını amiloid öncülü proteinler oluşturur. Tüm amiloidoz türlerinde, fibriller dışında serum amiloid P proteini,başta heparan sülfat olmak üzere glikozaminoglikanlar ve apolipoproteinlerin birikimi de söz konusudur (57).

Amiloid birikimi, sistemik veya lokalize olarak iki gruba ayrılır. Sistemik amiloidlerle lokalize amiloidler arasındaki temel farklılık, öncül proteinin eksprese edildiği dokudan kaynaklanmaktadır. Lokalize amiloidlerin öncül proteinleri amiloidin geliştiği dokudan sentezlenirken, sistemik amiloidlerde öncül protein farklı bir dokudan sentezlenir. Öncül protein plazma aracılığıyla taşındığından sistemik amiloidler vücudun herhangi bir dokusunda (beyin hariç) görülebilir (58). Sistemik amiloidlere verilebilecek en iyi örnek AA tipi amiloiddir. Karaciğerde sentezlenen SAA'nın inflamasyon sırasında plazmadaki konsantrasyonu 1,000 kat artmaktadır. Plazma aracılığıyla bütün vücudu dolaşan SAA, çeşitli dokularda (böbrek, gastrointestinal sistem, tiroid, testis, kalp gibi), dokunun içinde bulunduğu

çevre şartları sebebiyle yeterince yıkılamaz ve AA (Amyloid Associated) peptidi şeklinde birikir; AA peptidleri de biraraya gelerek amiloid fibrillerinin oluşumuna sebep olur (59).

2.3.1. AA Amiloidoz

Sekonder amiloidoz olarak da bilinen AA tipi amiloidoz akut faz reaktanı olan SAA protein parçalarından oluşan fibirillerin hücre dışında birikmesi sonucu oluşur. Ailevi akdeniz ateşi, romatoid artrit, ankilozan spondilit, inflamatuar barsak hastalıkları, renal hücreli karsinom, hodgkin lenfoma, tübeküloz,osteomyelit gibi kronik inflamasyon, lokal veya sistemik enfeksiyonlar ve malignitelere ikincil olarak gelişebilir.

Ülkemizde en sık rastlanılan amilodoz tipi AA amiloidoz olup en sık nedeni ailevi akdeniz ateşidir.

2.3.2. Serum Amiod A

AA fibirillerinin dolaşımdaki öncüsü olan serum amiloid A HDL'ye apoprotein olarak bağlanan oldukça duyarlı bir akut faz proteinidir. Molekül ağırlığı 11.4-12.5 kDa'dur (60) . SAA ailesi, akut faz SAA'ları (A-SAA) ve yapısal SAA'lar (C-SAA) olmak üzere 2 farklı grup apolipoproteinlerden oluşur. A-SAA'lar inflamasyon sırasında in vivo konsantrasyonları ~1000 kat artan major bir akut faz reaktanıdır. Karaciğer A-SAA ve C-SAA'larn primer sentez bölgesi olmasına karşın, ekstrahepatik üretim de bildirilmiştir. İnterlökin- ,interlökin-6 gibi çeşitli sitokinler ve tümör nekroz faktörü SAA sentezinin başlatılmasında rol oynarlar (61).

A-SAA'nın yağ metabolizması ve transportu, ekstraselüler matriksi parçalayan enzimlerin uyarılması, inflamatuar hücrelerin inflamasyon bölgesine kemotaksisinin sağlanması gibi klinik önemi olan birçok fonksiyonu belirlenmiştir. A-SAA birçok kronik inflamatuar hastalığın patogenezinde de rol oynamaktadır. Amiloidozda depolanan amiloid A proteinin prekürsürüdür (60).

A-SAA'nın bildirilen 2 immünolojik fonksiyonu mevcuttur. Birincisi, A-SAA, doku hasarı sonrasındaki onarımda önemli olan kollagenaz, stromelisin, matriks metalloproteinazlar 2 ve 3 gibi enzimleri indükler (61). İkincisi, in vitro çalışmalar A-SAA'nın, monositler, PNL'ler, mast hücreleri ve T lenfositler gibi immün hücreler için kemoatraktan olarak rol oynadığını kanıtlamıştır. İki çalışmada A-SAA'nın proinflamatuar sitokinleri indüklediği bildirilmiştir (62,63). Bu da A-SAA'nın sitokin-benzeri özellikleri olduğunu desteklemektedir.

Enfeksiyöz ve nonenfeksiyöz inflamasyona yanıt olarak SAA konsantrasyonları 6-8 saat içinde normal değerlerinin 1000 katına çıkabilmektedir. Yarı ömrü kısa ve bazal değerleri çok düşük olduğundan minör hastalık değişikliklerine duyarlıdır (61). SAA düzeyinin yüksekliği altta yatan inflamatuar reaksiyonun yaygınlığına bağlıdır. Bakteriyel ve viral infeksiyonlar SAA sentezinde dramatik artışa neden olurlar. Enfeksiyon gerilediğinde SAA konsantrasyonunda hızlı bir düşüş gözlenir (64).Ayrıca, romatoid artrit,psöriazis,ailevi akdeniz ateşi,castelman hastalığı,renal hücreli karsinom,behçet hastalığı,hogking lenfoma gibi non infeksiyöz kronik inflamatuar hastalıklarda da hastalığın aktivitesi ile yakından ilişkili olarak, SAA'nın uzun süre serumda yüksek düzeylerde seyretmesi AA amiloidoz gelişimi için risk faktörü oluşturmaktadır.

SAA düzeyi ölçümleri inflamatuar olayların aktivite ve yaygınlığını belirlemek, inflamatuar ve noninflamatuar hastalıkların ayrımını yapmak ve bu hastalıkların seyrini izlemek, tedavi başarısını değerlendirmek ve inflamatuar hastalıkların sistemik amiloidoz gelişim riskini belirlemek amacıyla kullanılabilir.

Bakteriyeminin erken tespitinde SAA, CRP'den daha duyarlı bulunmuştur. Gerçek bakteriyemisi olan grupta hiç normal SAA düzeyi saptanamazken, %32 oranında normal CRP düzeyi saptanması; bu hasta grubunda enfeksiyon göstergesi olarak SAA'nın daha duyarlı bir parametre olduğunu göstermektedir (65).

Erişkin hastalar üzerinde yapılan çalışmalarda; SAA viral enfeksiyonlarda ve renal allograft rejeksiyonunda tanısal gösterge olarak CRP' den daha yararlı bulunmuştur (66).

İnflamasyonda SAA konsantrasyonundaki artışın CRP düzeyindeki artıştan 5-11 kat daha fazla olduğu ve viral enfeksiyonların akut fazında %98 oranında yükseldiği gözlenmiştir. Ayrıca bakteriyel enfeksiyon göstergesi olarak da SAA'nın karaciğer tarafından üretilen en duyarlı akut faz reaktanı olduğu ve CRP'den daha hızlı kaybolduğu da belirlenmiştir (67).

3. HASTA VE YÖNTEMLER

3.1. Etik Kurul Onayı

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulundan onay alınmış olup, tüm katılımcılar ve aileleri çalışma hakkında bilgilendirildi ve ailelerden imzalı bilgilendirilmiş onam formu alındı.

3.2. Hasta Grubu

İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Bilim Dalı Polikliniğinden takip edilen 1-20 yaş arasındaki karaciğer nakil sonrası takip edilen 51 çocuk çalışmaya alındı. Hastaların klinik ve laboratuar bilgileri poliklinik dosya kayıtları ile hastanemiz otomasyon sistemindeki verilere bakılarak değerlendirildi. Ayrıca çalışma için hazırlanan kayıt formunda belirlendiği şekilde araştırmaya katılan çocuklara ve ailelerine sorular sorularak eksik bilgiler tamamlandı. Karaciğer nakil sonrası takipli 44 hastanın çalışmanın başlangıcında 1 kez serum amiloid A düzeyi ölçüldü. Çalışma başladıktan sonra nakil olan 7 hastanın nakil öncesi, nakil sonrası 1. hafta, 1. ay ve 6. aylarda serum amiloid A düzeyleri ölçüldü. Enfeksiyon grubu ile prospektif olarak değerlendirilen grubun 6. aydaki sonuçları ve post transplantasyon 6. ayını doldurduktan sonra herhangi bir zamanda SAA değeri bakılan grubun ölçümleri birlikte değerlendirildi. Örnekler nefelometrik metodla ölçülüp referans aralığı 0-10 mg/L alındı (68). Çalışmaya katılan çalışma grubu hastalarının kronolojik yaşı, cinsiyeti, nakil nedeni, nakil tarihi, rejeksiyon gelişimi, serum örneği verilen tarihteki şikayetleri, kullanmakta olduğu ilaçlar, antibiyotik kullanım öyküsü bilgileri alındı. Beyaz küre, C-reaktif protein, prokalsitonin değerleri, ateşi, alınmış ise hemokültür ve rektal sürüntü kültürü sonuçları hasta takip formuna poliklinik dosyalarından ve hastane otomasyon sisteminden elde edilen verilere uygun şekilde kaydedildi. Veriler Microsoft Excel 2010 aracılığı ile bilgisayarda kayıt altına alındı. Ateş timpanik yoldan ölçülüp, vücut ısısı 37,8°C üzeri değerler ateş olarak kabul edildi. Tüm yaş gruplarında lökosit sayısı $4,0x10^3$ /µl altındaki değerler lökopeni; 6 ay 2 yaş arası $17,0x10^3$ /µl ,2 yaş 6 yaş arası $15,0x10^3$ /µl , 6 yaş sonrası $13,0x10^3$ /µl üzeri değerler lökositoz olarak kabul edildi.C-reaktif protein normal aralığı 0-5 mg/L olarak belirlendi (69).

Çalışma grubunun çalışmaya dahil edilme kriterleri:

- Karaciğer nakli olması ya da karaciğer nakli planlanması
- Gönüllü olarak araştırmaya katılmaya onam vermesi

Çalışma grubunda çalışmaya dahil edilmeme kriterleri:

- Gönüllülerin ve/veya ailenin çalışmadan ayrılmak istemesi
- Kayıtlı yeterli veriye ulaşılamaması

Hastaların nakil öncesi, nakil sonrası 1.hafta,1.ay ve 6.ay takipleri arasındaki SAA değerlerindeki değişimler incelendi. Nakilden sonra geçen süre ve rejeksiyon ile SAA değeri arasındaki ilişki incelendi. SAA düzeyine etki etmesi beklenebilecek faktörlerin SAA düzeyleri ile ilişkisi araştırıldı.

3.3. Enfeksiyon Grubu

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Acil Polikliniğine 2015-2016 tarihleri arası kronik hastalığı olmayan akut enfeksiyöz nedenler ile başvuran 1-20 yaş arası 50 çocuktan oluşmaktadır.

Enfeksiyon grubunun çalışmaya dahil edilme kriterleri:

- 1-20 yaş arasında olmak
- Akut enfeksiyon hastalık bulgularının olması
- Gönüllü olarak araştırmaya katılmaya onam vermek

Enfeksiyon grubunun çalışmaya dahil edilmeme kriterleri:

- Kronik hastalığının olması

Çalışmaya katılan enfeksiyon grubu hastalarının kronolojik yaşı, cinsiyeti, şikayetleri, antibiyotik kullanım öyküsü, aynı tarihte bakılmış olan beyaz küre, C-reaktif protein değerleri, alınmış ise kültür sonuçları hasta takip formuna poliklinik dosyalarından ve hastane otomasyon sisteminden elde edilen verilere uygun şekilde kaydedildi.

3.4. Serum örneklerinin alınması ve saklanması

Serum amiloid A ölçümü için çalışma ve enfeksiyon grubundaki çocuklardan 2 cc kadar kan örneği alındı, santrifüj edildikten sonra elde edilen serum eppendorf tüplerine aktarıldı. Örnekler İstanbul Tıp Fakültesi Temel Bilimler Çocuk Gastroenteroloji Eser Element Laboratuvarı'nda analiz edilene kadar dondurulup -40°C'de saklandı.

3.5. Serum amiloid A ölçümü

Serum Amyloid A Protein, Düzen Laboratuvar'ında nefelometrik metot ile BN Prospec (Siemens) cihaz ile çalışılmıştır.

3.6. İstatistiksel Yöntem

İstatistiksel analizler için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007 Statistical Software (Utah, USA) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (Ortalama, Standart sapma, medyan, sıklık, oran) yanı sıra normal dağılım göstermeyen parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Mann Whitney U test kullanıldı. Grup içi karşılaştırmalarında ise Friedman test ve Wilcoxon işaret test kullanıldı. Değişkenler arası ilişkilerin değerlendirilmesinde Spearman korelasyon analizi kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Pearson Ki-Kare testi, Yates Continuity Correction test, Fisher's Exact test ve Fisher –Freeman Halton test kullanıldı. Sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık $p<0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

Çalışma tek merkezli bir araştırma olup İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'na başvuran %45.5'i (n=46) kız, %54.4'ü (n=56) erkek olmak üzere toplam 101 çocuk ile yapılmıştır. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Bilim Dalı tarafından karaciğer nakil sonrası takip edilen 51 kişi hasta grubunu oluşturmakta olup, diğer 50 kişi ise İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Acil Polikliniğine kronik hastalığı olmayan akut enfeksiyöz nedenler ile başvuran enfeksiyon grubudur. Olguların yaşları 0,54 ile 20,56 yıl arasında değişmekte olup, ortalama 8,97±5,41 yıl olarak saptanmıştır.

4.1. Nakil olgularının tanımlayıcı ve klinik özelliklerine göre değerlendirmeler

Tablo 1a: Nakil Olgularının Tanımlayıcı ve Klinik Özelliklerin Dağılımı

n=51	Min-Maks	Ort±Ss (medyan)
Geliş Yaşı (yıl)	1,16-20,56	11.39±5,31 (10,6)
Nakil – Serum Arası Geçen Süre (ay)	6.27 – 190,40	60,72±42,32 (61,90)

Nakil olguların geliş yaşları 1,16 yıl ile 20,56 yıl arasında değişmekte olup ortalaması 11,39±5,31 yıldır. Nakil olguların %49,0 (n=25) kadın iken %51'i (n=26) erkektir. Olguların nakil olma ile serum verilme tarihleri arasında geçen süre 6.27 ile 190.40 ay arasında değişmekte olup, ortalama 60.72±42.32 ay olarak saptanmıştır.

Tablo 1b: Nakil Olguların Tanımlayıcı ve Klinik Özelliklerin Dağılımı

n=51		N	%
Cinsiyet	**Kadın**	25	49,0
	Erkek	26	51,0
Başvuru Şikayetleri	**Şikayeti Yok**	51	100
Nakil Nedeni	**Post Nekrotik/ İdiyopatik Siroz**	8	15,7
	Akut Karaciğer Yetmezliği	10	19,6
	Metabolik Karaciğer Hastalığı	7	13,7
	Kolestatik Karaciğer Hastalığı	15	29,4
	Malignite	4	7,8
	Non Sirotik Karaciğer Hastalığı	6	11,8
	Diğer	1	2,0
Rejeksiyon	**Yok**	44	86,3
	Var	7	13,7
	Akut	4	7,8
	Kronik	3	5,9
Akut Rejeksiyon Atak Sayısı	**Yok**	47	92,2
	Tek Atak	4	7,8
Ateş	**Yok**	51	100
Antibiyotik Kullanımı	**Yok**	49	96,1
	Var	2	3,9
Kullandığı İlaçlar	**Takrolimus**	43	84,3
	Everolimus	2	3,9
	Takrolimus+Everolimus	1	2,0
	MikofenolatMofetil+ Takrolimus	4	7,8
	Kortikosteroid+ Takrolimus	1	2,0

Olguların tamamının aktif şikayeti olmadığı saptanmıştır.

Olguların %13.7'sinde (n=7) rejeksiyon gözlenmiştir. Olguların %7.8'inde (n=4) akut, %5.9'unda (n=3) kronik rejeksiyon gözlenmiştir. Akut rejeksiyon gözlenenlerin tamamında %7.8'inde (n=4) tek atak gözlenmiştir.

Kullanmakta oldukları ilaçlar ve nakil nedenlerinin dağılımına da tablo 1b'de yer verilmiştir.

Tablo 2: Nakil Olguların Laboratuvar Bulguları Dağılımı

Parametre	**n=51**	
C Reaktif Protein (mg/L) (n=48)	*Min-Maks*	0,20 – 35,40
	Ort±Ss (medyan)	3,73±5,67 (1,70)
<5	*n(%)*	36 (78,3)
>5	*n(%)*	10 (21,7)
CRP Katı (n=47)	*Min-Maks*	0 – 7,08
	Ort±Ss (medyan)	0,74±1,13 (0,34)
Serum Amiloid A (mg/L)	*Min-Maks*	0,69 – 71,80
	Ort±Ss (medyan)	7,46±10,81 (4,15)
<10	*n(%)*	44 (86,3)
>10	*n(%)*	7 (13,7)
SAA Katı	*Min-Maks*	0,07 – 7,18
	Ort±Ss (medyan)	0,74±1,08 (0,42)
WBC (x10^3)	*Min-Maks*	1,60-14,00
	Ort±Ss (medyan)	7,01±2,37 (7,0)
Normal	*n(%)*	47 (92,2)
Lökopeni	*n(%)*	4 (7,8)
Kültür Sonuçları, *n(%)*	**Kültür Alınmamış**	50 (98,0)
	Üremesi Yok	0
	Üremesi Var	1 (2,0)
Rektal Kolonizasyon, *n(%)*	**Rektal Sürüntü Alınmamış**	50 (98,0)
	Rektal Sürüntü Üremesi Var	1 (2,0)

Nakil olguların Serum Amiloid A ölçümleri 0,69 ile 71,80 arasında değişmekte olup, ortalama 7.46±10.81; medyan değeri 4,15 olarak saptanmıştır. Diğer laboratuvar bulgularına da tablo 2' de yer verilmiştir.

4.2. Enfeksiyon olgularının tanımlayıcı ve klinik özelliklerine göre değerlendirmeler

Tablo 3: Enfeksiyon Grubu Olguların Tanımlayıcı ve Klinik Özelliklerin Dağılımı

n=50		**N**	**%**
Cinsiyet	**Kadın**	21	42,0
	Erkek	29	58,0
Başvuru Şikayetleri	**Ateş**	16	32,0
	Solunum yolu	2	4,0
	Ateş&solunum yolu	31	62,0
	Karın ağrısı	1	2,0
Ateş	**Ateş Var**	50	100
Antibiyotik Kullanımı	**Yok**	43	86,0
	Var	7	14,0

Enfeksiyon grubu olguların geliş yaşları 0,54 yıl ile 17,25 yıl arasında değişmekte olup ortalaması 6,49±4,30 yıldır.

Tablo 4: Enfeksiyon Grubu Olguların Laboratuvar Bulguları Dağılımı

n=50		
C Reaktif Protein (mg/L)	*Min-Maks*	1,15-226
	Ort±Ss (medyan)	51,18±48,15 (36,10)
<5	*n(%)*	2 (4,0)
>5	*n(%)*	48 (96,0)
CRP Katı	*Min-Maks*	0,23-45,20
	Ort±Ss (medyan)	10,24±9,63 (7,22)
Serum Amiloid A (mg/L)	*Min-Maks*	1,50-961
	Ort±Ss (medyan)	269,75±249,91 (172)
<10	*n(%)*	1 (2,0)
>10	*n(%)*	48 (98,0)
SAA Katı	*Min-Maks*	0,15-96,1
	Ort±Ss (medyan)	26,97±24,99 (17,2)
WBC (x10^3)	*Min-Maks*	4,70-28,8
	Ort±Ss (medyan)	12,89±6,17 (11,30)
WBC; *n(%)*	*Normal*	34 (68,0)
	Lokositoz	14 (28,0)
	Lökopeni	1 (2,0)

Olguların Serum Amiloid A ölçümleri 1,50 ile 961 arasında değişmekte olup, ortalama 269,75±249,91 olarak saptanmıştır. SAA 10'un altında olan %2 olgu görülürken, 10'nun üzerinde %98 olgu vardır. Olguların SAA katı ölçümleri 0,15 ile 96,1 arasında değişmekte olup, ortalama 26,97±24,99 olarak saptanmıştır. Diğer laboratuvar bulguları tablo 4 de gösterilmiştir.

4.3. Nakil ve enfeksiyon gruplarının karşılaştırılması

Tablo 5: Gruplara Göre Tanımlayıcı Özelliklerin Karşılaştırılması

n=101		**Nakil**		**Enfeksiyon**		**P**
		Ort±Ss (median)		**Ort±Ss (median)**		
Geliş Yaşı (yıl)		11.39±5,31 (10,694)		6,49±4,30 (6,60)		***[a]0,001****
		N	**%**	**N**	**%**	***P***
Cinsiyet	**Kadın**	25	49,0	21	42,0	***[b]0,479***
	Erkek	26	51,0	29	48,0	
Antibiyotik Kullanımı	**Yok**	49	96,1	43	86,0	***[d]0,092***
	Var	2	3,9	7	14,0	

[a]Mann Whitney U test *[b]Pearson ki kare test* *[d]Fisher exact test* ***p<0,01*

Karaciğer nakli yapılan olguların yaş ortalaması enfeksiyon grubu olgulardan anlamlı düzeyde yüksek olarak saptanmıştır (p>0,05).

Gruplara göre cinsiyet dağılımları ve antibiyotik kullanım oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p>0,05).

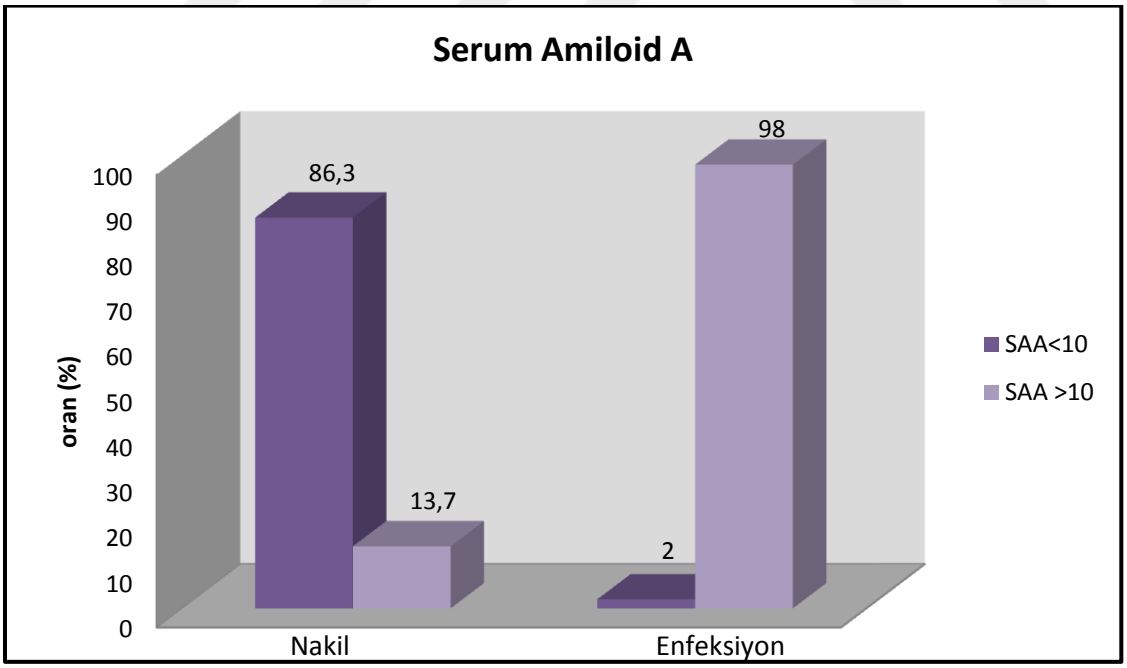
Tablo 6: Gruplara Göre Serum Amiloid A Değerlendirinin Karşılaştırılması

n=101	Nakil	Enfeksiyon	[a]p
	Ort±Ss (median)	Ort±Ss (median)	
Serum Amiloid A (mg/L)	7,46±10,81 (4,15)	269,75±249,91 (172)	***0,001***
SAA Katı (mg/L)	0,75±1,08 (0,42)	26,97±24,99 (17,2)	***0,001***
	n (%)	**n (%)**	[b]p
SAA<10	44 (86,3)	1 (%2,0)	***0,001***
SAA >10	7 (13,7)	48 (98,0)	

[a]*Mann Whitney U test* [b]*Pearson ki kare test* ***p<0,01*

Serum amiloid A ve SAA katı ölçümleri de nakil olgularda enfeksiyon grubuna göre anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p<0,01).

SAA 10 ve üzeri değerlere göre yapılan değerlendirmelerde; nakil yapılan grupta %13,7 oranında görülürken enfeksiyon grubunda %98 oranında saptanmıştır, bu da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,01). Relatif risk oranı 7,683 (%95 CI:3,840-15,370) olup enfeksiyon grubunda nakil olgulardan 7,7 kat daha fazla riske sahip bulunmuştur.



Şekil 1: Serum Amiloid A düzeylerinin dağılımı

Tablo 7: Nakil Hastalarında Serum Amiloid A Gruplarına Göre C Reaktif Protein Değerlendirmeleri

Serum Amiloid A (mg/L)	C reaktif Protein		[a]p
	Ort±Ss	Median (min-mak)	
SAA<10 (n=41)	3,25±5,64	1,70 (0,20-35,4)	***0,012****
SAA >10 (n=5)	7,74±4,04	7,80 (1,52-12,40)	

[a]*Mann Whitney U test* **p<0,05*

Serum amiloid A sınıflamasına göre C reaktif protein ölçümleri arasında anlamlı farklılık vardır (p<0,05); SAA 10'un üzerinde olan grupta C reaktif protein de yüksek bulunmuştur.

Tablo 8: Serum Amiloid A Gruplarına Göre C Reaktif Protein Sınıflamalarının Değerlendirmeleri

	Serum Amiloid A (mg/L)	C reaktif Protein		[d]p
		<5	*>5*	
6 ayını doldurmuş Nakil Olgularda	**SAA<10 (n=41)**	35(85,4)	6 (14,6)	***0,006****
	SAA >10 (n=5)	1 (20)	4(80)	
Nakil öncesi	**SAA<10 (n=7)**	3 (42,8)	4 (57,2)	-
Nakil sonrası 1.hf	**SAA<10 (n=7)**	2 (28,6)	5 (71,4)	-
Nakil sonrası 1.ay	**SAA<10 (n=2)**	1 (50)	1 (50)	***1,000***
	SAA >10 (n=5)	1 (20)	4 (80)	
Nakil sonrası 6.ay	**SAA<10 (n=6)**	5 (83,3)	1 (16,7)	***0,286***
	SAA >10 (n=1)	0	1 (100)	
Enfeksiyon Grubu	**SAA<10 (n=1)**	1 (100)	0	***0,041****
	SAA >10 (n=48)	1 (2,1)	47 (97,9)	

[d]*Fisher exact test* **p<0,05*

Nakil olgularda; serum amiloid A ile C reaktif protein arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (p<0,01). SAA 10 üzerinde olan grupta C reaktif protein 5'in üzerinde olma oranı % 80 olarak saptanmıştır. Nakil öncesinde ve nakil sonrası 1.hf da tüm olgularda SAA 10'nun altındadır. Nakil sonrası 1.ay ve 6.ayda ise aralarında anlamlı ilişki görülmemektedir (p>0,05).

Enfeksiyon grubu olgularda; serum amiloid A ile C reaktif protein arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (p<0,05). SAA 10 üzerinde olan grupta C reaktif protein 5'in üzerinde olma oranı % 97,9 olarak saptanmıştır.

Tablo 9: Serum Amiloid A İle C Reaktif Protein Nümerik Değerlerinin İlişkisi

Takipler	**Serum Amiloid A - C Reaktif protein İlişkisi**	
	r	**P**
Nakil öncesi[1] (n=7)	0,607	***0,148***
1. Hafta[2] (n=7)	0,571	***0,180***
1. Ay[3] (n=7)	0,561	***0,180***
6. ay[4] (n=7)	0,847	***0,016****

Spearman korelasyon analizi **p<0,05*

Nakil öncesinde serum amiloid A ile C reaktif protein arasında pozitif yönde %60,7 düzeyinde ilişki saptanmış ancak olgu sayısını 7 olması sebebiyle bu ilişki anlamlı bulunmamıştır (r=0,607; p=0,148; p>0,05).

Nakil sonrası 1.hf da da serum amiloid A ile C reaktif protein arasında pozitif yönde %57,1 düzeyinde saptanan ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (r=0,571; p=0,180; p>0,05).

Nakil sonrası 1.ay da yine serum amiloid A ile C reaktif protein arasında pozitif yönde %56,1 düzeyinde saptanan ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (r=0,561; p=0,180; p>0,05).

Nakil sonrası 6 ayda ise serum amiloid A ile C reaktif protein arasında pozitif yönde %84,7 düzeyinde saptanan ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (r=0,847; p=0,016; p<0,05).

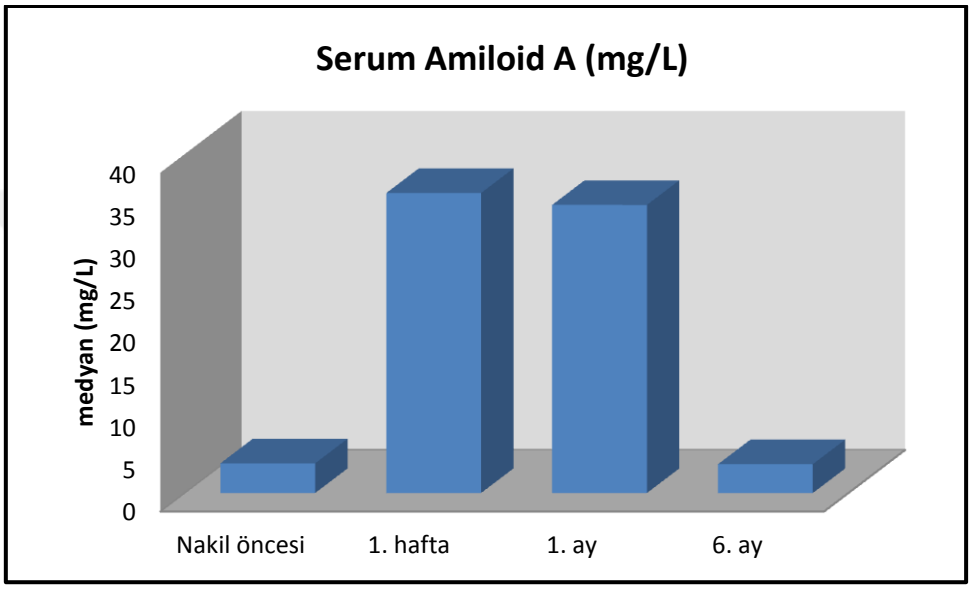
4.4. Nakil olgularının takiplerine göre değerlendirmeler

Tablo 10: Karaciğer Nakli Yapılan Olgularda; Nakil Sonrası 1. hafta, 1. ay ve 6. ay Ölçümlerinin Değerlendirilmesi

Takipler		Serum Amiloid A (mg/L)	C Reaktif Protein (mg/L)	Prokalsitonin (ug/L)	WBC (x10^3/µl)
Nakil öncesi[1] (n=7)	*Min-Maks (median)*	0,77 – 4,96 (3,5)	3,10 – 16,80 (5,30)	-	3,20-10 (6)
	Ort±Ss	3,06±1,62	7,10±4,91		6,38±2,25
1. Hafta[2] (n=7)	*Min-Maks (median)*	15,2 – 198,0 (35,4)	2,95 – 64,80 (14,30)	0,01 – 3,20 (1,42)	3,20-21,5 (9,1)
	Ort±Ss	60,74±65,76	21,36±23,74	1,38±1,19	10.20±5,68
1. Ay[3] (n=7)	*Min-Maks (median)*	3,00 – 190,00 (34)	2,83 – 81,30 (14,30)	0,01 – 5,20 (0,10)	1,30-18,6 (3,0)
	Ort±Ss	51,12±66,63	23,06 ± 27,49	1,35±2,56	6,60±6,21
6. ay[4] (n=7)	*Min-Maks (median)*	0,69 – 71,80 (3,4)	0,20 – 9,90 (1,52)	0,01 – 0,01 (0,01)	2,70-14 (4,7)
	Ort±Ss	13,07±25,99	3,57±4,22	0,01±0,00	5,75±3,80
[a] p		***0,014****	*[a]0,159*	***[b]0,715***	0,050*
[b]p		***[1-2]p=0,018**** ***[1-3]p=0,028**** ***[1-4]p=0,499***	*AD*	*AD*	***[1-2]p=0,050****

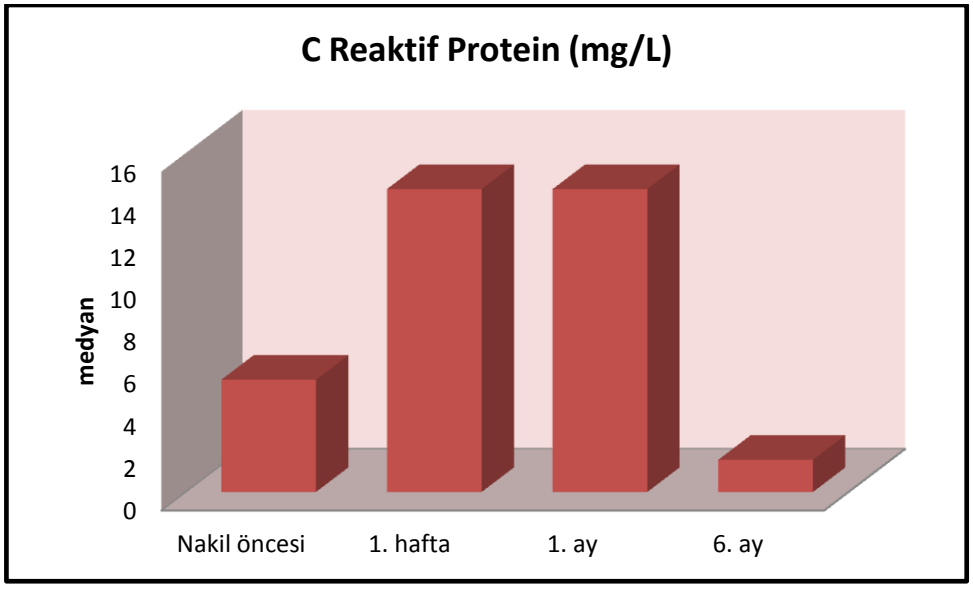
[a]Friedman Test *[b]Wilcoxon Signed Ranks Test* **p<0,05* ***p<0,01* *AD:Anlamlı değil*

Nakil yapılan olgularda, takiplere göre Serum Amiloid A düzeyleri arasındaki değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Anlamlılıklar incelendiğinde; nakil öncesine göre 1.hf da görülen yükseliş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,018$; $p<0,05$). Nakil öncesine göre 1.ay da alınan ölçümlerdeki yükseliş de istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,028$; $p<0,05$). Nakil öncesine göre nakil sonrası 6.ay ölçümlerindeki değişim ise istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).



Şekil 2: Nakil olguların Serum Amiloid A takipleri dağılımı

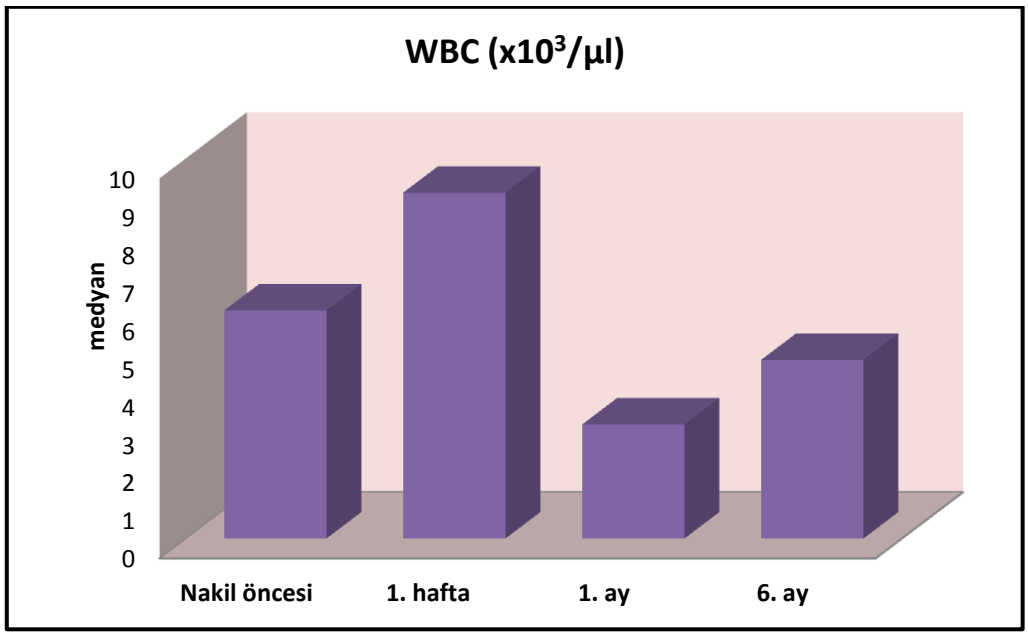
Nakil yapılan olgularda, takiplere göre C reaktif protein düzeyleri arasındaki değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Birinci hafta ve 1.ayda görülen yükseliş dikkat çekmektedir.



Şekil 3: Nakil olguların C Reaktif Protein takipleri dağılımı

Nakil yapılan olgularda, takiplere göre prokalsitonin düzeyleri arasındaki değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p>0,05).

Nakil yapılan olgularda, takiplere göre WBC düzeyleri arasındaki değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,05). Anlamlılıklar incelendiğinde; nakil öncesine göre 1.hf da görülen yükseliş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,050; p<0,05). Nakil öncesine göre nakil sonrası 1.ay ve 6.ay ölçümlerindeki değişim ise istatistiksel olarak anlamlı değildir (p>0,05).



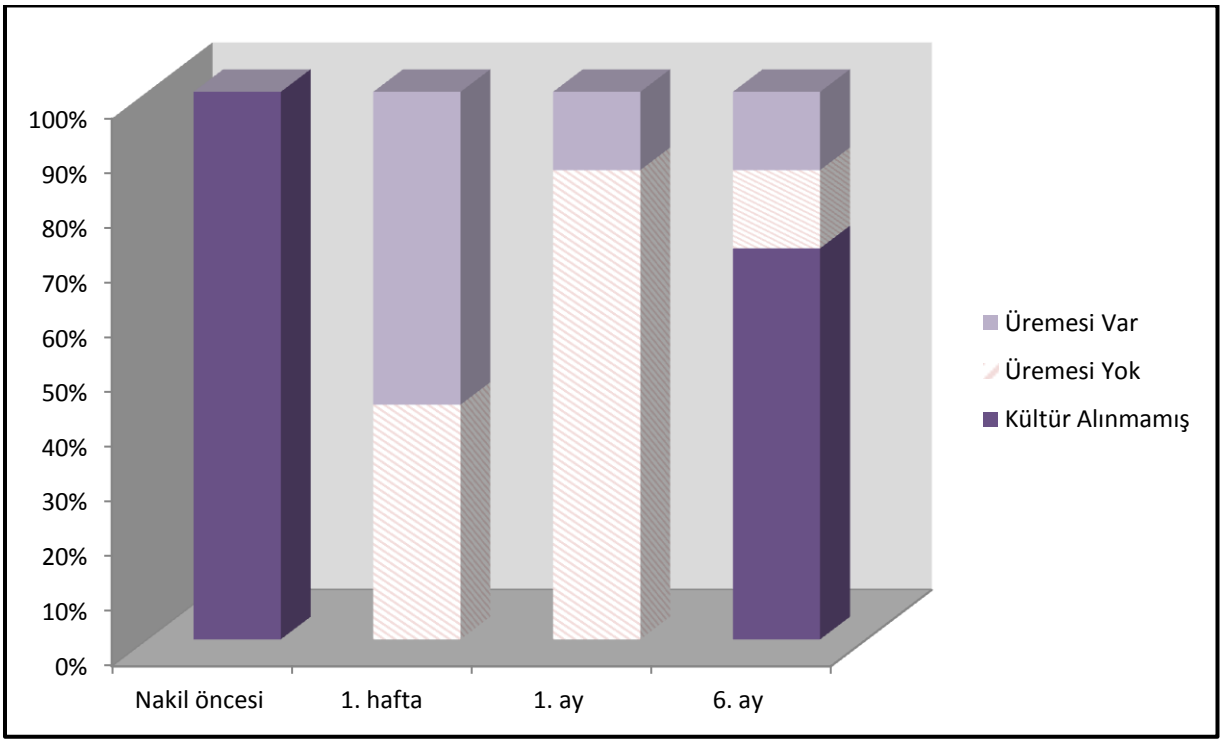
Şekil 4: Nakil olguların WBC takipleri dağılımı

Tablo 11: **Karaciğer Nakli Yapılan Olgularda; Nakil Öncesi, Nakil Sonrası 1. Hafta, 1. Ay ve 6. Ay Kültür Sonuçlarının Değerlendirilmesi**

	Kültür Sonuçları				
	Kültür Alınmamış	Üremesi Yok	Üremesi Var	[a]p	[b]p
	n (%)	n (%)	n (%)		
[1]Nakil Öncesi	7 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)		[1-2]p=0,015*
[2]1. Hafta	0 (0,0)	3 (42,9)	4 (57,1)	0,002**	[1-3]p=0,011*
[3]1. Ay	0 (0,0)	6 (85,7)	1 (14,3)		[1-4]p=0,180
[4]6. Ay	5 (71,4)	1 (14,3)	1 (14,3)		

[a]*Friedman Test* [b]*Wilcoxon Signed Ranks Test* **p<0,05* ***p<0,01*

Nakil yapılan olgularda, takiplere göre kültür sonuçları arasındaki değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,01). Anlamlılıklar incelendiğinde; nakil öncesine göre 1.hf da görülen üreme pozitiflik oranındaki yükseliş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,015; p<0,05). Nakil öncesine göre 1.ay da üreme pozitiflik oranındaki yükseliş de istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,011; p<0,05). Nakil öncesine göre nakil sonrası 6.ay ölçümlerindeki değişim ise istatistiksel olarak anlamlı değildir (p>0,05).



Şekil 5: Kültür sonuçları dağılımı

Tablo 12: Karaciğer Nakli Yapılan Olgularda; Karaciğer Nakli Yapılan Olgularda; Nakil Öncesi, Nakil Sonrası 1. Hafta, 1. Ay ve 6. Ay Rektal Sürüntü Kolonizasyonlarının Değerlendirilmesi

	Rektal Sürüntü Kolonizasyonları			
	Sürüntü Alınmamış	**Üreme Yok**	**Üreme Var**	***[a]p***
	n (%)	**n (%)**	**n (%)**	
Nakil Öncesi	0 (0,0)	7 (100,0)	0 (0,0)	***0,875***
1. Hafta	0 (0,0)	7 (100,0)	0 (0,0)	
1. Ay	0 (0,0)	6 (85,7)	1 (14,3)	
6. Ay	2 (28,6)	3 (42,9)	2 (28,6)	

[a]Friedman Test

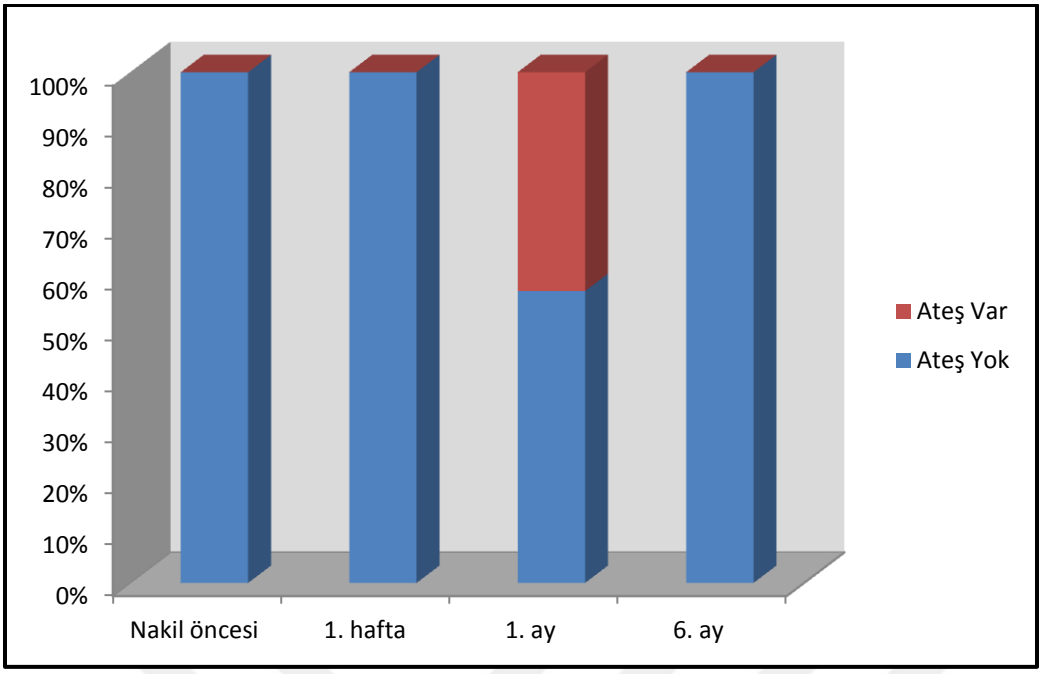
Nakil yapılan olgularda, takiplere göre rektal sürüntü kolonizasyon oranları arasındaki değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p>0,05).

Tablo 13: Karaciğer Nakli Yapılan Olgularda; Nakil Öncesi, Nakil Sonrası 1. Hafta, 1. Ay ve 6. Ay Ateş Düzeylerinin Değerlendirilmesi

	Ateş			
	Ateş Yok	**Ateş Var**	***[a]p***	***[b]p***
	n (%)	**n (%)**		
Nakil Öncesi	7 (100,0)	0 (0,0)	***0,029****	***[1-2]p=1,000***
1. Hafta	7 (100,0)	0 (0,0)		***[1-3]p=0,043****
1. Ay	4 (57,1)	3 (42,9)		***[1-4]p=1,000***
6. Ay	7 (100,0)	0 (0,0)		

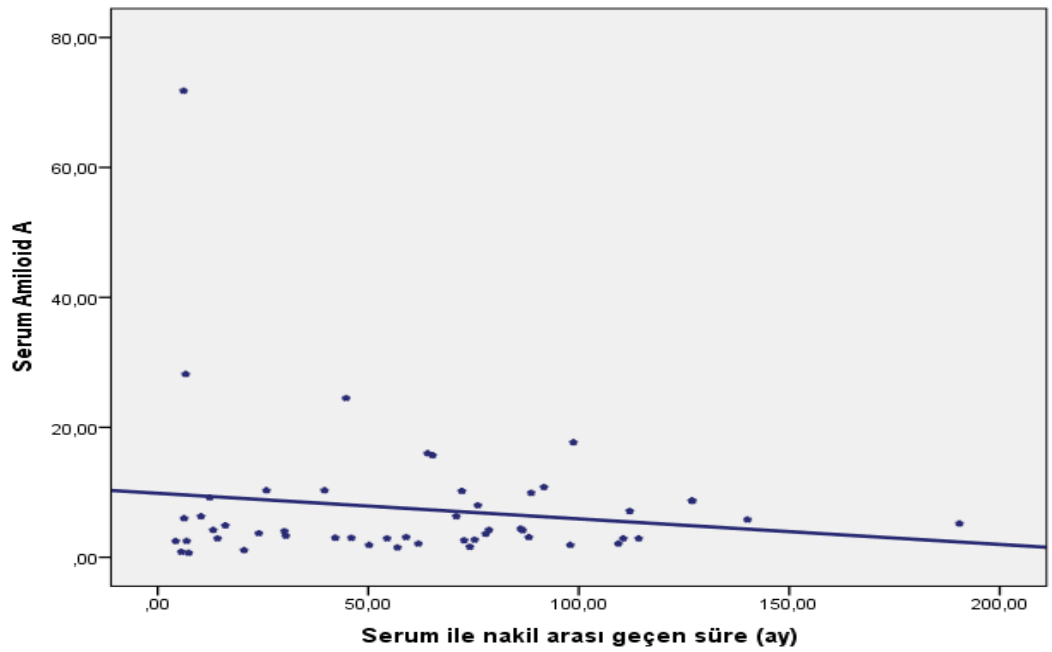
[a]Friedman Test *[b]Wilcoxon Signed Ranks Test* **p<0,05*

Nakil yapılan olgularda, takiplere göre ateş sonuçları arasındaki değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,05). Anlamlılıklar incelendiğinde; nakil öncesine göre 1.hf da istatistiksel olarak anlamlı değişim saptanmazken (p>0,05). Nakil öncesine göre 1.ay da febril de görülen yükseliş de istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,043; p<0,05). Nakil öncesine göre nakil sonrası 6.ay ölçümlerindeki değişim ise istatistiksel olarak anlamlı değildir (p>0,05).



Şekil 6: Ateş dağılımları

Serum ile nakil arası geçen süre ile Serum Amiloid A ölçümleri arasında negatif yönde (süre arttıkça SAA azalmakta) zayıf düzeyde ilişki saptanmış ancak bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (r=-0.100; p:0.485; p>0,05).



Şekil 7: Serum ile nakil arası geçen süre ile Serum Amiloid A ölçümleri ilişkisi

Tablo 14: Rejeksiyona göre CRP ve Serum Amiloid A Değerlendirmeleri

	Rejeksiyon (+)	**Rejeksiyon (-)**	
	n (%)	**n (%)**	***P***
CRP<5	6 (75,0)	30 (76,9)	***1,000***
CRP >5	2 (25,0)	9 (23,1)	
SAA<10	7 (100,0)	34 (77,3	***0,320***
SAA >10	0	10 (22,7)	

Fisher's exact test

Nakil olgularında rejeksiyon ile CRP ve SAA dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.(p>0,05)

5. TARTIŞMA

Karaciğer transplantasyonu, günümüzde diğer tedavi yöntemleriyle tedavi edilemeyen ve yaşamı tehdit eden son dönem karaciğer yetmezliğindeki hastalara önerilen yaşam kurtarıcı bir tedavi yöntemidir. Karaciğer nakli operasyonu sırasında greftin yerleştirilmesini izleyen saniyelerden itibaren bir seri hücresel ve moleküler etkileşim başlar. Karaciğer transplantasyonunun başarısında en önemli belirleyici, bu immünolojik olaylar dizisidir. İmmünsüpresif tedavilerdeki gelişmelere rağmen geç dönem greft kaybı önemli bir sorun olmaya devam etmektedir. Ayrıca, immüsüpresif ilaçların uzun süreli kullanımı ile ilişkili renal, hematolojik, infeksiyöz komplikasyonların uzun dönem sağkalım üzerinde olumsuz etkileri iyi bilinmektedir. Karaciğer nakil hastalarında greft ile konak arasındaki immün etkileşimin kronik subklinik bir inflamatuar durum yaratarak morbidite ve mortalite üzerinde etkili olması beklenebilir. Kliniğimizde, metabolik karaciğer hastalığı nedeni ile nakil olup, post transplantasyon 11. yılında sistemik amiloidoz gelişen bir hastadan yola çıkarak karaciğer nakil sonrası ortaya çıkan immünolojik olayların amiloidoz gelişim riski açısından değerlendirimeyi amaçladık.

AA amilodioz klinikte sıklıkla kronik enfeksiyon, inflamasyon ve malign neoplazilerle ilişkili olarak karşımıza çıkmaktadır (70).AA tipi amiloidoz akut faz reaktanı olan SAA protein parçalarından oluşan fibirillerin hücre dışında birikmesi sonucu oluşur. Bu proteinin serum konsantrasyonu sağlıklı insanlarda 10 mg/L altında seyrettiği gibi aktif inflamasyon sırasında 1000 mg/L in üzerine çıkabilmektedir (71). SAA serum konsantrasyonu kronik inflamatuar hastalıkların aktivitesi ile yakından ilişkili olup, uzun süre yüksek konsantrasyonlarda seyretmesi AA amiloidoz gelişimi için risk faktörü oluşturmaktadır. Klinikte amiloidoz gelişimin erken dönemde öngörmeyi sağlayacak anamnez ve fizik muayene ile saptanabilir uyarıcı bir özelliğinin olmaması amiloidoz tanısının hastalık ilerledikten sonra konmasına sebep olmaktadır. AA amiloid birikimi çoğu zaman asemptomatik seyredip, Avrupa'da romatiod artriti olan erişkinlerin %5 inde görülmektedir ve juvenil romatiod artritli hastalardaki ölümlerin yarısı ile ilişkilidir (72). Antiinflamatuar tedavi sonrası SAA konsantrasyonu referans aralığına düşen hastaların, amiloid depositlerinde gerileme ve amiloidik organ fonksiyonlarında düzelme görülmüştür. Ayrıca AA amiloid ilişkili inflamatuar hastalık kontrol altına alındığında organ fonksiyonunda gelişmeyi gösteren vaka bildirimleri vardır (68). Bu bilgiler ışığında amiloidoz riskinin erkenden öngörülüp bu konuda önlem alıması hasta sağkalımı açısından önemli faydalar sağlayabilir. Gillmore ve

arkadaşlarının yaptığı çalışmada bazı vakalarda inflamatuar hastalığın relapsında kısa süre içerisinde yeni amiloid birikimleri görülmüş. Hatta inflamatuar stimulusun bitiminden aylar sonra belirgin olarak tam histolojik regresyonu olan hastalarda herhangi yeni bir inflamasyonun tetiklediği geniş yeni amiloid birikimleri görülmüş. İnflamasyonun kontrol altına alınması ile klinik sonuçlarda belirgin düzelme görülse de AA amiloidozis fatal bir hastalık olamaya devam etmektedir. İnflamasyon ve amiloid birikimi arasındaki net ilişki, hastalığın başlangıcını, progresyonunu ve amiloid birikiminin anatomik yerleşimini kontrol eden faktörler, amiloid birikimlerinin mobilize olup temizlenmesine ilişkin mekanizmalar hala belirsizliğini korumaktadır (68).

Çalışmamızda, kliniğimizde karaciğer nakli sonrasında takip edilen a)posttransplantasyon 6. ayını doldurmuş 51 hastanın anlık SAA ölçümleri ve b) nakilden itibaren takip edilen 7 hastanın ardışık SAA ölçümlerleri ile amiloidoz gelişim riskini öngörmeyi hedefledik. Kesitsel olarak değerlendirilen posttransplantasyon 6. ayını doldurmuş (ortalama 60,7±42,3 ay medyan 61,9 ay)51 olgunun anlık SAA ölçümleri 0,69 ile 71,80 mg/L arasında değişmekte olup, ortalama 7.46±10.81 mg/L(medyan 4,1mg/L) olarak saptandı. SAA değeri 10 mg/L üzerinde olma oranı %13,7 (n=7) olarak saptandı. SAA değerleri nakil olgularında enfeksiyon grubuna göre düşük bulundu ($p<0,01$). Çalışma başladıktan sonra nakil olan 7 hastanın serum amiloid A düzeyleri arasındaki değişimler incelendiğinde nakil öncesine göre 1.hafta ve 1. ayda görülen yükseliş istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). Ancak bu yüksek değerler persiste etmiyordu, nakil öncesine göre nakil sonrası 6.ay ölçümleri anlamı farklılık göstermiyordu($p>0,05$).

Solid organ nakli sırasında konağın grefte karşı gösterdiği immünolojik yanıtta SAA'nın tanısal değerinin araştırıldığı çalışmalar mevcuttur. Renal transplantasyon yapılan hastalarda, akut rejeksiyon tanısında akut faz reaktanlarının tanısal değerleri ile ilgili yoğun olarak yürütülen çalışmalar arasında SAA'nın yeri araştırılmıştır (73,74,54). SAA değerlerinin yükselişi akut allogreft rejeksiyonunun erken habercisi olabileceği ortaya konmuş ve rejeksiyonun başlangıcından 1 ya da 2 gün öncesinde hızlı bir şekilde yükselmeye başladığı bildirilmiştir (75).Çalışmamızda nakilden itibaren takip edilen 7 hastada rejeksiyon atağı gözlenmemiştir. Yapılan çalışmalarda renal allogreft rejeksiyonu ile SAA reaksiyonu arasındaki ilişki gösterilmiş olsa da SAA uzun dönem izlemine yer verilmemiştir. Solid organ nakillerinde SAA artışının amiloid birikimi açısından risk yaratıp yaratmadığı konusunda yayınlanmış bir çalışma yoktur. Çalışmamızda post transplantasyon 6. ayını doldurmuş 51

hastadan 3'ü kronik rejeksiyon 4'ü ise daha önceden akut rejeksiyon atağı geçirmiş olup rejeksiyon ve SAA dağılımları arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

CRP enfeksiyöz ya da non enfeksiyöz inflamatura yanıt ile ilişkili olarak iyi tanımlanmış bir seroreaktif göstergedir. SAA da CRP gibi inflamasyonla ilişkili bir akut faz proteinidir. Çeşitli uyarılara SAA'nın verdiği cevabın kinetiği CRP'ye benzerlik gösterir; ancak inflamasyondaki SAA cevabının CRP'ye göre daha hassas ve daha hızlı olduğu gösterilmiştir (76).Transplantasyon sonrası cerrahi travmaya bağlı olarak CRP'nin yükseldiği bu yükselmenin ilk günlerde pik yaptığı, daha sonra belirgin bir düşme olup, 5-10 gün içerisinde transplantasyon öncesi seviyelerine indiği gözlenmiştir (77).Their ve arkadaşlarının pediatrik grupta 63 karaciğer 83 böbrek transplantasyonu hastasının nakil sonrası günlük CRP ölçümleri analizinde; CRP yüksekliklerinin yarısının akut rejeksiyon, enfeksiyon ya da trombotik olaylar gibi komplikasyonlarla ilişkili olduğunu saptamış. Yüksek CRP değerleri rejeksiyon episodlarında %68 bakteriyel enfeksiyonlarda %88 oranında olup en yüksek değerler bakteriyel enfeksiyonlarda görülmüş. Bizim çalışmamızda çalışma başladıktan sonra nakil olan 7 hastanın izleminde akut rejeksiyon görülmemiş olup 1. hafta ve 1. ayda görülen CRP yükseklikleri bakteriyel enfeksiyon ile ilişkilendirilmiştir. Bu veriler ışığında pratikte CRP artışı inatçı seyreden kişilerde amiloidoz gelişim riski açısından SAA ölçümlerinin değerlendirilmesi akıllıca bir yaklaşım olabilir.

Miwata ve ark., enfeksiyon geçiren çocuklarda inflamasyon yanıtında SAA değerlerindeki artışın, CRP düzeylerindeki artıştan 5-11 kat daha fazla olduğunu ve SAA'nın viral enfeksiyonların akut fazında %98 oranında belirgin olarak yükseldiğini bildirmiştir. Ayrıca bakteriyel enfeksiyon göstergesi olarak SAA'nın karaciğer tarafından üretilen en duyarlı akut faz reaktanı olduğu ve CRP'den daha hızlı kaybolduğu kaydedilmiştir. (67).Bizim çalışmamızda enfeksiyon grubunda olguların SAA ölçümleri 1,50 ile 961 mg/L arasında değişmekte olup, ortalama 269,75±249,91 mg/L(medyan 172 mg/L) olarak saptanmıştır. C reaktif protein ölçümleri ise 1,15 ile 226 mg/L arasında değişmekte olup, ortalama 51,18±48,15 mg/L(medyan 36,1 mg/L)olarak saptanmıştır SAA değeri 10 mg/L üzerinde olan hastaların %97,9 unda CRP değeri 5 mg/L nin üzerinde saptanmıştır.

Enfeksiyöz ve nonenfeksiyöz inflamasyona yanıt olarak yükselen SAA'nın serumda uzun süre yüksek düzeylerde seyretmesinin AA amiloidoz gelişim açısından risk faktörü oluşturduğu bilinmektedir. Karaciğer nakli sonrasında greft ile konak arasındaki immün etkileşimin kronik subklinik bir inflamatuar durum yaratması amiloidoz gelişim riskini

arttırabilir. Bu riski SAA düzeyleri üzerinden değerlendirmeyi amaçladığımız çalışmamızda; posttransplantasyon 6. ayını doldurmuş hastaların anlık bakılan SAA değerlerinde anlamlı yükseklik saptanmadı. Bütünde rejeksiyon ve SAA düzeylerinin dağılımı arasında anlamlı ilişki saptanmadı. Ancak kesitsel olarak değerlendirilen 51 hastanın sadece 3'ünde kronik rejeksiyon gelişmiş olduğundan bu sayı genel bir yorum yapmak için yeterli değildir. Rejeksiyonun yarattığı immün etkileşimler göz önüne alındığında, SAA değerlerini ardışık olarak izlediğimiz 7 hastanın hiçbirinde rejeksiyon gelişmemiş olması çalışmamızın başlangıçta planlanan hedefine ulaşmasına sınırlandıran bir etken olmuştur. Bu konuda net sonuçlara varılabilmesi için daha fazla vaka içeren prospektif çalışmaya gereksinim vardır.

6. SONUÇLAR

1) Karaciğer nakli sonrasında greft ile konak arasındaki immün etkileşimin kronik subklinik bir inflamamasyona neden olmasından yola çıkarak nakil hastalarında amiloidoz gelişim riskini SAA düzeyleri üzerinden değerlendirdik

2)Kesitsel olarak değerlendirilen posttransplant 6. ayını doldurmuş 51 olgunun anlık SAA ölçümleri 0,69 ile 71,80 mg/L arasında değişmekte olup, ortalama 7.46±10.81 mg/L(medyan 4,1mg/L) olarak saptandı. Hastaların 7'sinde SAA değeri normal değeri üstünde olan 10 mg/L 'nin üzerinde saptandı(%13,7). Kan örneklerinin alındığı dönemde hastaların hiçbirinde aktif enfeksiyon yoktu. Bu hastaların öykülerinde klinikte saptanmış rejeksiyon atağı da bulunmuyordu.

3)Enfeksiyon grubunda olguların SAA ölçümleri 1,50 ile 961 mg/L arasında değişmekte olup, ortalama 269,75±249,91 mg/L(medyan 172 mg/L) olarak saptandı. SAA değerleri nakil olgularında enfeksiyon grubuna göre düşük bulundu ($p<0,01$).

4)Çalışma başladıktan sonra nakil olan 7 hastanın ardışık olarak bakılan serum amiloid A düzeyleri arasındaki değişimler incelendiğinde nakil öncesine göre 1.hafta ve 1. ayda görülen yükseliş istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). Ancak bu yüksek değerlerin persiste etmediği, nakil öncesine göre nakil sonrası 6.ay ölçümlerindeki değişimin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($p>0,05$).

5)Aynı grupta, SAA' nın 1. hafta ve 1. ayda yükseldiği dönemde CRP değerlerinde de yükseklik olması ve kültür üremeleri bu yüksekliğin enfeksiyon ilişkili olabileceğini düşündürdü.

5)Çalışmamızda posttransplant 6. ayını doldurmuş 51 hastadan 3' ü kronik rejeksiyon 4'ü ise daha önceden akut rejeksiyon atağı geçirmiş olup rejeksiyon ve SAA dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı. Çalışma başladıktan sonra nakil olan 7 hastanın izleminde ise rejeksiyon atağı gözlenmedi.

6)Serum ile nakil arası geçen süre ile SAA ölçümleri arasında negatif yönde (süre arttıkça SAA azalmakta) zayıf düzeyde ilişki saptandı ancak bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı($p>0,05$). Zaman geçtikçe karaciğer allogreftinin konakta immünolojik açıdan belli bir dengeye ulaşması durumunda bu etkileşimin azalmasıyla birlikte amiloid A proteini

üretiminin persiste etmediğini düşündürmektedir. Nakil sonrası ilk dönemlerde gözlenen artmış SAA düzeyleri, amiloidoz gelişimi açısından risk yaratacak değerlere ulaşmıyor izlenimi vermiştir. Ayrıca yüksek değerlerin sınırlı bir dönemde olması amiloidoz gelişimi açısından genel bir risk oluşturmadığının düşündürmektedir.

7. KAYNAKÇA

1. Adam R, Karam V, Delvart V, Grandy J, Mirza D, Klempnauer J et al. Evolution of indications and results of liver transplantation in Europe. A report from the European Liver Transplant Registry (ELTR). J Hepatol 2012; 57: 675–688.

2. Watt KDS, Pedersen RA, Kremers WK, Heimbach JK, Sanchez W, Gores GJ. Long-term probability of and mortality from de novo malignancy after liver transplantation. Gastroenterology 2009;137: 2010–2017.

3. Watt KDS, Pedersen RA, Kremers WK, Heimbach JK. Evolution of causes and risk factors formortality post livertransplant: Resultsof the NIDDK long term follow-up study. Am J Transplant 2010; 10: 1420–1427.

4. Lerut J, Sanchez-Fueyo A. An appraisal of tolerance in liver transplantation. Am J Transplant 2006; 6: 1774–1780.

5. Pratt, JR, Basheer, SA, Sacks, SH. Local synthesis of complement component C3.

6. Abbas KA, Andrew HL, Pillai S: Cellular and Molecular Immunology: 6'ncı baskı. Philadelphia, Saunders Elsevier, 2007; 97-111.

7. Snell GD. Studies in histocompatibility. Science 1981;213;172-8.

8. Snell GD. The Nobel Lectures in immunology. Lecture fort he Nobel Price for Physiology or Medicine, 1980: Studies in histocompatibility. Scand J Immunol 1992;36:513-26.

9. Roberts SC: Complexity and context of MHC-correlated mating preferences in wild populations. Mol Ecol 2009;18:3121-3.

10. Rothbard JB, Gefter ML: Interactions between immunogenic peptides and MHC proteins. Annu Rev Immunol 1991;9:527-65.

11. Van den Elsen PJ: Expression regulation of major histocompatibility complex class II encoding genes. Front Immunol 2011;2:48.

12. Morris A, Hewitt C, Young S: The major histocompatibility complex: its genes and roles in antigen presentation. Mol Aspects Med 1994;15:377503.

13. Campbell EC, Antoniou AN, Powis SJ: The multi-faceted natüre of HLA class I dimer molecules. Immunol 2012;136:380-4.

14. De Almeida DE, Holoshitz J: MHC molecules in health and disease: At the cusp of a paradigm shift. Self Nonself 2011;2:43-8.

15. Abbas KA, Andrew HL, Pillai S: Cellular and Molecular Immunology: 6'ncı baskı. Philadelphia, Saunders Elsevier, 2007;189-214.

16. Klein L, Hinterberger M, Wirnsberger G: Antigen presentation in the thymus for positive selection and central tolerance induction. Nat Rev Immunol 2009;9:833-44.

17. Sieker F, May A, Zacharias M: Predicting affinity and specificity of antigenic peptide binding to major histocompatibility class I molecules. Curr Protein Pept Sci 2009;10:286-96.

18. Nagy ZA: Alloreactivity: an old puzzle revisited. Scand J Immunol 2012;75:463-70.

19. Starzl TE., Zinkernagel RM. Transplantation tolerance from a historical perspective. Nat. Rev. Immunol., 1(3),233-239.

20. Sherman LA,Chattopadhyay S.The molecular basis of allorecognition. Annu Rev Immunol 1993;11:385.

21. Kreisel D, Krupnick AS, Gelman AE: Non Kreisel D, Krupnick AS, Gelman AE: Non hematopoetic allograft cells directly activate CD 8 Tcells and trigger acute rejection: an alternative mechanizsm of allorecognition. Nat Med 2002;8:233.

22. Lechler RI,Batchelor JR.Restoration of immunogenecity to passenger cell depleted kidney allografts by the addition of donor strain dendritic cells. J Exp Med 1982;155:31-41.

23. Lechler RI, Batchelor JR. Immunogenecity of retransplanted rat kidney allografts. Effect of inducing chimerizm in the first recipient and quantitative studies on immunosuppressin of the second recipient. J Exp Med 1982;156:1835-41.

24. Benichou G, Takizawa PA, Olson CA, Mc Millian A, Sercarz EE. MHC peptides are presented by recipient MHC molecules during graft rejection. J Exp Med 1992;175:305-8.

25. Waaga AM, Chandraker A, Spadafora-Ferreira M, Iyengar AR: Mechanisms of indirect allorecognition:characterization of MHC class 2 allopeptide-spesific T helper cell clones from animals undergoing acute allograft rejection.Transplantation 1998;65:876-83.

26. Benichou G, Valujskikh A, Heeger PS.Contributions of direct and indirect T cell alloreaktivity during allograft rejection in mice.J Immunol 1999;162:352-8.

27. Sayegh MH.Why do we reject a graft?Role of indirect allorecognition in graft recection Kidney Int 1999;56:1967-79.

28. Inaba K, Turley S,Yamaide F:Efficient presentation of phagocyosed cellular franments on the MHC class 2 products of dendritic cells. J Exp Med 1998;188:2163-73.

29. Vella JP, Knoflach A, Waaga AM, Sayegh MH. T cell mediated immune responses in chronic rejection: Role of indirect allorecognation and costimulation. Graft 1998;1(Suppl 2):11-7.

30. Cramer DV, Shirvan H. The importance of humoral immune responses in chronic rejection. Transplantation Reviews 1998;12:166-76.

31. Rose EA, Smith CR, Petrossian GA, Barr ML, Reemtsma K. Humoral immune responses after cardiac transplantation: correlation with fatal rejection and graft atherosclerosis. Surgery 1989;106:203-7.

32. Vella JP, Magee J, Vos L: Cellular and humoral mechanisms of vaskularized allograft rejection induced by indirect of donor MHC allopeptides. Transplantation 1999;67:1523-32.

33. Sayegh MH, Turka LA. The role of T cell costimularity activation pathways in transplant rejection. N Engl J Med 1998;338:1813.

34. Lenschow DJ, Walunas TL, Bluestone JA. CD28/B7 system of T cell costimulation. Ann Immunol 1996;14:233-58.

35. Chambers CA, Allison JP. Costimularity regulation of T cell function. Curr Opin Cell Biol 1999;11:203-10.

36. Nishizuka Y. Intracellular signaling by hydrolysis of phosholipids and activation of protein kinase C.Science 1992;258:607-14.

37. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Cytokines. In:Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS, eds. Cellular and Molecular Immunology. Philadelphia: W.B. Saunders, 1997:249-78.

38. Lane PL, Brocker T.Developmental regulation of dendritic cell function. Curr Opin Immunol 1999;11:308-13.

39. Steiger B, Nickerson PW, Steurer W, Moscovitch Lopatin M, Strom JB:IL 2 knockout mice reject islet cell allografts. J Immunol 1995;155:489-98.

40. Dai Z, Konieczny BT, Baddoura FK, Lakkis FG: Impaired alloantigen-mediated T cell apoptosis and failure to ınduce long term allograft survival in IL 2 deficent mice.J Immunol 1998;161:1659-63.

41. Kruisbeek AK, Amsen D. Mechanisms underlying T cell tolerance. Curr Opin Immunol 1996;8:233-44.

42. O'Garra A .Cytokines induce the develepment of functionally heterogeneus T helper cell subsets. Immunity 1998;8:275-83.

43. Dallman MJ. Citokines and transplantation: Th1/Th2 regulation of the immune response to solid organ transplants in the adult. Curr Opin Immunol 1995;7:632-8.

44. Field EH, Qinglin G, Naixi C, Rouse TM:Balancing the immune system for tolerance. A case for regulatory CD4 cells. Transplant 1997;64:1-7.

45. Picotti JR, Chan SY, Vanbuskirk AM, Eichwald EJ, Bishop DK. Are Th2 helper T lymphocytes benefical, deleterious or irrevelant in promoting allograft survival? Transplantation 1997;63:619-24.

46. Kraukauer T, Vilcek j, Oppenheim JJ. Proinflammatory Cytokines. In:Paul WE, ed. Fundemental Immunology. Philadelphia: Lippicott-Raven, 1999:775-811.

47. Faichild RL. Chemokines: Mediators of T cell recruiment and effector fuction during allograft rejection? Graft 1998;1:91-5.

48. Halloran PF, Homik J, Goes N. The "injury response": a consept linking nonspesific injury, acute rejection and long term transplant outcomes. Transplant Proc 1997;29:79.

49. Forbes RD, Zheng SX, Gomersall M. Evidence that recipient CD8 T cell depletion does not alter develepment of chronic vascular rejection in a rat heart allograft model. Transplantation 1994;57:1238.

50. Nadeau KC, Azuma H, Tilney NL. Squential cytokine dynamics in chronic rejection of rat renal allografts: roles for cytokines RANTES and MCP-1. Proc Natl Acad Sci USA 1995;92:8729.

51. Watschinger B, Sayegh MH. Endothelin in organ transplantation. Am J Kidney Dis 1996;27:151.

52. Suthathiran M.Molecular analyses of human renal allografts:differential intragraft gene expression during rejection. Kidney Int Suppl 1997;58 S15.

53. Klintmalm GB, Nery JR, Husberg BS,Gonwa TA, Tillery GW. Rejection in liver transplantation. Heoatology 1989;10:978.

54. Hartmann A, Eide TC, Fauchald P, Bentdal O, Herbert J, Gallimore JR et al. Serum amyloid A protein n is a clinically useful indicator of acute renal allograft rejection.

55. Casl MT, Bulatovic G, Orlic P, Sabljar- Matovinovic M . The diagnostic capacity of serum amyloid A protein for early recognition of kidney allograft.

56. Merlini G, Bellotti V. Molecular mechanisms of amyloidosis. N Engl J Med 2003; 349:583-96.

57. Jahn TR, Radford SE. The yin and yang of protein folding. FEBS J 2005; 272:5962-70.

58. Makin OS, Serpell LC. Structures for amyloid fibrils. FEBS J 2005; 272:5950-61.

59. Lachmann HJ, Hawkins PN. Systemic amyloidosis. Curr Opin Pharmacol 2006; 6:214-20.

60. Marhaug G, Dowton SB. Serum amyloid A: An acute-phase apolipoprotein and precursor of AA amyloid. Bailliere's Clinical Rheumatology 1994; 8: 545-66.

61. Uhlar CM, Whitehead AS. Serum amyloid A, the majorvertebrate acute-phase reactant. Eur J Biochem 1999; 265: 501-23.

62. Patel H, Fellowes R, Coade S, Woo P. Human serum amyloid A has cytokine-like properties. Scand J Immunol 1998; 48: 410-8.

63. Pregiado PL, Cahalon L, Hershkowitz R. Serum amyloidA complexed with extracellular matrix induces the secretion of tumornecrosis factor-a by human T-lymphocytes. Lett Peptide Sci 1998; 5:349-55.

64. Nakayama T, Sonoda S, Urano T, Okada M. Monitoring both serum amyloid protein A and C-reactive protein as inflammatory markers in infectious diseases. Clin Chem 1993; 39: 293-7.

65. Riikonen P, Saarinen UM, Teppo AM, Metsarinne K, Fyhrquist F, Jalanko H. Cytokine and acute-phase reactant levels in serum of children with cancer admitted for fever and neutropenia. J Infect Dis 1992; 166: 432-6.

66. Yamada T. Serum amyloid A (SAA): A concise review of biology, assay methods and clinical usefulness. Clin Chem Lab Med 1999; 37: 381-8.

67. Miwata H, Yamada T, Okada M, Kudo T, Kimura H, Morishima T. Serum amyloid A protein in acute viral infections. Arch Dis Childhood 1993; 68: 210-4.

68. Gillmore JD, Lovat LB, Persey MR, Mark B Pepys, Philip N Hawkins. Amyloid load and clinical outcome in AA amyloidosis in relation to circulating concentration of serum amyloid A protein. Lancet. 2001;358:24-29.

69. Neyzi O. Pediatri. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi. 2010; 2029-2044.

70. Pepys MB. Amyloidosis: some recent developments. Q J Med 1988; 67: 283-98.

71. Wilkins J, Gallimore JR, Tennent GA, Hawkins PN, Limburg PC, van Rijswijk et al. Rapid automated enzyme immunoassay of serum amyloid A. Clin Chem 1994; 40: 1284–90.

72. Hawkins PN, Richardson S, Vigushin DM, David J, Kelsey JR, Gray RE et al. Serum amyloid P component scintigraphy and turnover studies for diagnosis and quantitative monitoring of AA amyloidosis in juvenile rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 1993; 36: 842–51.

73. Oyen O, Wergeland R, Bentdal O, Hartmann A, Brekke IB, Stokke O. Serial ultrasensitive CRP measurement may be useful in rejection diagnosis after kidney transplantation. Transplant Proc 2001; 33(4): 2481-3.

74. Their M, Ronnholm K, Sairanen H,Holmberg J, Jalanko H . Serum C-reactive protein in pediatric kidney and liver transplant patients. Pediatr Transplant 2002; 6(2): 153-60.

75. Maury CP, Teppo A, Eklund B, Ahonen J. Serum amyloid A protein: a sensitive indicator of renal allograft rejection in humans. Transplantation 1983; 36(5): 501-4. .

76. Fukuda Y, Kanbe M, Sumimoto R. Examination of serum amyloid A and C-reactive protein for monitoring the occurrence of renal-allograft-related complications. Hiroshima J Med Sci 1998; 47(2): 63-7.

8. EKLER

Bilgilendirilmiş Onam Formu Örneği

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ ONAM FORMU

"Karaciğer Nakil Sonrası Çocuklarda İmmunolojik Yanıtın Amiloidoz Gelişimi Yönünden Değerlendirilmesi" isimli çalışma tek merkezli bir araştırma olup İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Gastroenteroloji,Hepatoloji ve Beslenme Bilim Dalı Polikliniğinden Karaciğer Nakil sonrası takip edilen ve yeni karaciğer nakli olacak olan hastalar ile kronik hastalığı olmayan akut enfeksiyöz nedenler ile başvuran çocuklardan oluşan enfeksiyon grubu ile araştırma yürütülecektir.

Araştırmanın Amacı ;

'Karaciğer Nakil Sonrası Çocuklarda İmmunolojik Yanıtın Amiloidoz Gelişimi Yönünden Değerlendirilmesi'isimli çalışma gözlemsel bir araştırmadır. Vaka grubu ve enfeksiyon grubu olmak üzere 2 grup bulunmaktadır. İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Gastroenteroloji,Hepatoloji ve Beslenme Bilim Dalı Polikliniğinden Karaciğer Nakil sonrası takip edilen ve yeni karaciğer nakli olacak olan hastalar ile ile kronik hastalığı olmayan akut enfeksiyöz nedenler ile başvuran çocuklardan oluşan enfeksiyon grubu çalışmaya dahil edilecektir. Araştırmaya katılan hastaların poliklinik dosya kayıtları ile laboratuar geçmiş sonuçlarından faydalanılacaktır. Karaciğer nakil sonrası takipli hastalardan ve enfeksiyon grubundaki çocuklardan, çalışmanın başlangıcında 1 kez serum amiloid A düzeyi; yeni nakil olacak olan hastalardan nakil öncesi, post transplantasyon 1. hafta 1. ay ve 6. aylarda serum amiloid A düzeyleri ölçülecektir.Kuru tüpe alınacak olan 2 cc serum örneği analiz edilene kadar (-40℃)de Temel Bilimler Çocuk Gastro Eser Element Laboratuarında saklanacaktır.Örnekler nefelometri sistemi ile ölçülecek olup referans aralığı 0-10 mg/L alınacaktır. Antibiyotik kullanım öyküsü, kullanmakta olduğu immunsupresif ajanlar dosyasında kayıtlı laboratuar sonuçlarından beyaz küre, sedimentasyon, C-reaktif protein, oluşturulmuş hasta takip formuna ve poliklinik dosyalarından elde edilen verilere uygun şekilde bilgisayar ortamında kayıt altına alınacaktır.

Gönüllünün araştırmaya katılımı isteğe bağlıdır ve gönüllü istediği zaman, herhangi bir cezaya veya yaptırıma maruz kalmaksızın, hiçbir hakkını kaybetmeksizin araştırmaya katılmayı reddedebilir veya araştırmadan çekilebilir.

- İzleyiciler, yoklama yapan kişiler, Etik Kurul, Kurum ve diğer ilgili sağlık otoritelerinin gönüllünün orijinal tıbbi kayıtlarına doğrudan erişimleri bulunabilir, ancak bu bilgiler gizli tutulacaktır, yazılı bilgilendirilmiş gönüllü olur formunun imzalanmasıyla gönüllü veya yasal temsilcisi söz konusu erişime izin vermiş olacaktır.
- İlgili mevzuat gereğince gönüllünün kimliğini ortaya çıkaracak kayıtlar gizli tutulacak, kamuoyuna açıklanamayacak; araştırma sonuçlarının yayımlanması halinde dahi gönüllünün kimliğinin gizli kalacaktır.
- Araştırma konusuyla ilgili ve gönüllünün araştırmaya katılmaya devam etme isteğini etkileyebilecek yeni bilgiler elde edildiğinde gönüllü veya yasal temsilcisinin zamanında bilgilendirilecektir.
- Gönüllünün araştırma hakkında, kendi hakları hakkında veya araştırmayla ilgili daha fazla bilgi temin edebilmesi için İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'ndan Dr.Sezin Kısabacak ile günün 24 saatinde (0212)414 20 00 -31681/ (0506) 505 24 42 telefon numarasından erişebilir.
- Gönüllünün araştırmaya devam etmesi için öngörülen süre 6 aydır.Hastaya ve ailesine sorular sorularak bilgi alınacak ayrıca hastanın geçmiş laboratuar sonuçlarından ve poliklinik dosyalarından alınan veriler kaydedilecektir.

- Araştırmaya katılması beklenen tahmini gönüllü sayısı 50 hasta ve 50 enfeksiyon olmak üzere toplam 100 kişidir.
- Gönüllünün araştırmayı kabul etmemesi durumunda veya herhangi bir nedenle çalışma programından çıkarılması veya çıkması halinde, hastalığı ile ilgili tedavisinde bir aksama olmayacaktır.
- Araştırmadan makül ölçüde beklenen yararlarla ilgili olarak gönüllü açısından hedeflenen herhangi bir klinik yarar olmadığında gönüllü bu durum hakkında bilgilendirilecektir.
- Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmeyecek ayrıca kendisine de bir ödeme yapılmayacaktır. Ulaşım masrafı ve sigorta gibi ödenekler yoktur.
- Gönüllüden alınacak numuneler yalnızca adı geçen 'Karaciğer Nakil Sonrası Çocuklarda İmmunolojik Yanıtın Amiloidoz Gelişim Yönünden Değerlendirilmesi'isimli çalışmada kullanılacaktır.
- Araştırmaya katılan gönüllülerin kimlik bilgilerinin gizli tutulacaktır.
- Biyolojik materyallerin analizleri yurtdışında yapılmayacaktır.

"Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi biliyorum."

‘‘Karaciğer Nakil Sonrası Çocuklarda İmmunolojik Yanıtın Amiloidoz Gelişim Yönünden Değerlendirilmesi’’’ kapsamında alınan biyolojik örneklerimin (serum);

“Sadece yukarıda bahsi geçen araştırmada kullanılmasına izin veriyorum”

İsim/soyadı İmza

“İleride yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum”
İsim/soyadı İmza

“Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum”
İsim/soyadı İmza

Katılımcının/Hastanın Beyanı

Sayın Dr. Sezin Kısabacak tarafından İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Pediatrik Gastroenteroloji ,Hepatoloji ve Beslenme Bilim 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 olacağının 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 sorunumun 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, Dr.Sezin Kısabacak’ı İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı’nda 0212 4142000 - 31681 /(0506)505 24 42 nolu numaradan arayabileceğimi biliyorum. Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımıma ve hekim ile olan ilişkime 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.

GÖNÜLLÜ ONAY FORMU

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/Tarih/ Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

Araştırma ekibinde yer alan ve yetkin bir araştırmacının
Adı-soyadı/ İmzası/ Tarih
Dr.Sezin Kısabacak /

Gerekiyorsa olur işlemine tanık olan kişinin Adı-soyadı/ İmzası/Tarih/ Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

Gerekiyorsa yasal temsilcisinin Adı-soyadı/ İmzası/Tarih/ Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

Hasta Takip Formu Örneği

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ÇOCUK GASTROENTEROHEPATOLOJİ VE BESLENME BİLİM DALI

TAKİP FORMU

' Karaciğer Nakil Sonrası Çocuklarda İmmunolojik Yanıtın Amiloidoz Gelişimi YönündenDeğerlendirilmesi'

Adı Soyadı:

Protokol No:

Doğum Tarihi:

Nakil nedeni:

Nakil Tarihi:

Serum örneğinin verildiği tarih:

Cinsiyet: Kız / Erkek

Etnik Köken:

Şikayet:

Laboratuvar:

- C-reaktif protein: …….
- Sedimentasyon: …….
- WBC: …….
- Kültür sonuçları : ……
- Serum amiloid A(daha önce nakil olmuş hastalar için 1 defa) :

- Yeni nakil olacak hastalar için:
    - Nakil öncesi
    - Nakil sonrası 1 hafta
    - Nakil sonrası 1. Ay
    - Nakil sonrası 6. ay

Antibiyotik kullanımı öyküsü:

Kullanmakta olduğu ilaçlar:

***İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar* Formu**

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

Sayı : 2018 Tarih : 14.12.2015
Konu : Prof. Dr. Özlem DURMAZ UĞURCAN

Sayın Prof. Dr. Özlem DURMAZ UĞURCAN
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

İlgi : Çocuk Sağlığı Anabilim Dalının 09/12/2015 gün ve 388816 sayılı yazısı

Sorumlu araştırıcılığını üstlendiğiniz ve Dr. Sezin KISABACAK' ın yürüteceği 2015/2005 dosya numaralı "Karaciğer Nakil Sonrası Çocuklarda İmmunolojik Yanıtın Amiloidoz Gelişimi Yönünden Değerlendirilmesi" başlıklı çalışma kurulumuzun 11/12/2015 tarih ve 21 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 Fakultesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu

9. ÖZGEÇMİŞ VE İLETİŞİM BİLGİLERİ

SEZİN AYDEMİR

T.C. KİMLİK NO	57781055378		
DOĞUM YERİ VE YILI	Batman- 17.11.1988		
GÖREV YERİ	İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı		
GÖREV UNVANI	Doktor		
YABANCI DİL	İngilizce		
YAZIŞMA ADRESİ	İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı		
TEL	(0212)4142000	**GSM**	(0506) 505 24 42
E-POSTA	sezinksbck.72@gmail.com	**FAX**	-

MEZUNİYET TARİHİ	**ÜNİVERSİTE-FAKÜLTE-BÖLÜM/ANABİLİM DALI**
2002-2006	Ankara Süleyman Demirel Anadolu Lisesi
2006-2012	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi - Tıp
2013-	İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi - Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı