

## Canlı Donörden Böbrek Transplantasyonu Yapılan Hastalarda Minör HA-1 Dağılımı

### Characterization of Minor HA-1 in Patients Who Underwent Living Donor Kidney Transplantation

Yalçın SEYHUN, Çiğdem KEKİK, Fatma SAVRAN OĞUZ, Yaşar ÇALIŞKAN,<sup>1</sup> Aydın TÜRKMEN,<sup>1</sup> Mahmut ÇARİN

*İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, <sup>1</sup>İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul*

**Başvuru tarihi / Submitted:** 23.03.2009 **Kabul tarihi / Accepted:** 28.05.2009

**Amaç:** Son dönem böbrek yetersizliği (SDBY) olan hastalar için hayat standartlarını arttıran bir tedavi yöntemi olan böbrek naklinde HLA uyumunun önemi bilinen bir gerçektir. Alıcı ve verici arasındaki İnsan Lökosit Antijenleri (Human Leukocyte Antigens, HLA) uyumunun, allojenik böbrek transplantasyonu sonrası graft sağkalımı üzerine önemli bir etkisi vardır. Ancak HLA identik kardeşler arası yapılan transplantlar da graft kaybı ile sonlanabilmektedir. Minör histokompatibilite antijenleri (mHag) HA-1, 19. kromozom üzerindeki diallelik genlerce kodlanan, 9 aminoasitlik düşük polimorfizm gösteren immünojenik bir peptiddir. Minör histokompatibilite antijenleri, HLA uyumlu solid organ transplantasyonlarının graft rejeksiyonu için potansiyel bir risk faktörüdür. Yaptığımız bu çalışmada böbrek transplantasyonunda mHA-1 uyumu veya uyumsuzluğunun, transplant sonrası graft sağkalımı ile ilişkisini araştırmayı amaçladık.

**Hastalar ve Yöntemler:** Son dönem böbrek yetersizliği tanısı konmuş 59 hasta ile onların akraba vericileri çalışmaya alındı. Minör HA-1 genotipleri ise PCR-SSP yöntemiyle ticari kitler kullanılarak yapıldı.

**Bulgular:** 59 hastada HH, RR, HR genotiplerinin sıklıkları sırası ile %17, %25 ve %58 idi. Rejeksiyon/rejeksiyon atağı saptanması ile mHA-1 uyumu açısından anlamlı bir fark saptanmadı ( $p=0.73$ ,  $Or=1.44$ , güven aralığı=0.36-5.74; Fischer's Exact Test). Kronik Allograft Nefropatisi (KAN) gelişimi ile mHA-1 uyumu açısından anlamlı bir fark saptanmadı ( $p=0.61$ ,  $Or=2.89$ , güven aralığı=0.28-29.57; Fischer's Exact Test).

**Sonuç:** Yaptığımız çalışmada canlı donörden böbrek nakillerinde rejeksiyon ile HA-1 uyumsuzluğu arasında anlamlı bir fark saptayamadık.

**Anahtar sözcükler:** Transplantasyon; minör histokompatibilite antijenleri; rejeksiyon.

**Objectives:** The importance of the Human Leukocyte Antigens (HLA) matching is well known in renal transplantation that is one of the best treatment options for end-stage solid organ deficiency. Human Leukocyte Antigens matching between recipient and donor has an influence on graft survey after the renal transplantation. However allogeneic renal transplants between HLA identical siblings might be ended with rejection. Minor histocompatibility antigen (mHag) HA-1 is a nine-amino acid peptide encoded by a diallelic gene on human chromosome 19. mHags have low polymorphisms. Minor histocompatibility antigens are likely to function as potential risks for graft rejection of HLA-matched solid organ transplantation. In our study, we aimed to investigate the effect of minor HA-1 mismatch on kidney transplant survey.

**Patients and Methods:** We examined the HA-1 locus in living donor renal transplant patients ( $n=59$ ) and their donors. We used PCR-SSP for HA-1 typing.

**Results:** The frequencies of the three possible genotypes HH, RR, HR were 17%, 25% and 58%, respectively, in recipients. No significant correlation was established between the occurrence of rejection/rejection episodes and HA-1 matching ( $p=0.73$ ,  $Or=1.44$ , Confidence intervals= 0.36-5.74; Fischer's Exact Test). In addition, no significant correlation was established between CAN (chronic allograft nephropathy) and mHA-1 matching ( $p=0.61$ ,  $Or=2.89$ , Confidence intervals=0.28-29.57; Fischer's Exact Test).

**Conclusion:** We could not find relation between graft survey and HA-1 match/mismatch in living donor kidney transplantation.

**Key words:** Transplantation; minor histocompatibility antigens; rejection.

21. Avrupa Histokompatibilite Kongresi'nde sunulmuştur, 5-8 2007, Barselona, İspanya (Presented at the 21st European Immunogenetics and Histocompatibility Conference, May 5-8, 2007, Barcelona, Spain).

İletişim adresi (Correspondence): Dr. Yalçın Seyhun. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, 34093 İstanbul. Tel: 0212 - 635 11 68 Fax (Faks): 0212 - 635 11 68 e-posta (e-mail): dryseyhun@yahoo.com

© Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. Ekin Tıbbi Yayıncılık tarafından basılmıştır. Her hakkı saklıdır.

© Medical Journal of Trakya University. Published by Ekin Medical Publishing. All rights reserved.

Son dönem böbrek yetersizliği (SDBY) olan hastalar için hayat standartlarını arttıran bir tedavi yöntemi olan böbrek naklinde HLA uyumunun önemi bilinen bir gerçektir. Alıcı ve verici arasındaki İnsan Lökosit Antijenleri (Human Leukocyte Antigens, HLA) uyumunun, allojenik böbrek transplantasyonu sonrası grafitin sağkalımı üzerine önemli bir etkisi vardır. Ancak HLA identik kardeşler arası yapılan transplantlar da graft kaybı ile sonlanabilmektedir.<sup>[1]</sup> Terasaki<sup>[2]</sup> yaptığı çalışmada graft hasarının %38'inin non-HLA faktörlere, %18'inin HLA faktörlerine ve %43'ünün ise non-immünolojik faktörlere bağlı olduğunu göstermiştir.

Minör histokompatibilite antijenleri (minör HLA antijenleri, mHag) ilk kez Snell<sup>[3]</sup> tarafından tanımlanmıştır. Bu antijenler, Major Histokompatibilite Kompleksi (MHC) molekülünü kodlayan genler dışındaki (otozomal ve cinsiyet) genler tarafından kodlanırlar. Minör HLA antijenleri seks bağımlı (Y kromozomunda kodlanan, H-Y) ve dallelilik otozomal kromozomlarca kodlanan polimorfik peptidlerdir. Proteozomlarda peptid parçalarına dönüşerek immünolojik peptidler olarak, antijen sunan hücreler ile T lenfositlerine sunulurlar.<sup>[4]</sup> Genetik sıklığı değişken olup, farklı genotipler birbirinden bağımsız olarak Mendel kuralları ile geçerler.<sup>[5,6]</sup>

Minör HLA antijenleri HLA molekülleriyle hücre yüzeyinde sunulurlar ve HLA Sınıf I sınırlı CD8+ veya HLA Sınıf II sınırlı CD4+ hücrelerce tanınırlar.<sup>[7-10]</sup> Minör histomompatibilite antijenlerinden HA-1 (mHA-1), 19. kromozom üzerindeki dallelilik genlerce kodlanan 9 aminoasitlik, immünojenik ve düşük polimorfizm gösteren bir peptiddir.<sup>[5]</sup> Minör histomompatibilite antijenlerinden HA-1 alloantijendir ve HLA Sınıf I ve Sınıf II molekülleri tarafından hücre yüzeyinde sunulur.<sup>[11]</sup> HA-1 T hücre epitopu, 504. pozisyonundaki aminoasidin Histidin (HA-1H) veya Arginin (HA-1R) olmasına göre 2 allel şeklinde gözlenir. Minör HA-1 alelleri HH, HR veya HR genotipleri olabilir. Her iki allel de HLA-A2'ye bağlanır. HA-1R, HLA-A2'nin hücre yüzeyinde ekspresye olmasını engellerken, HA-1H hücre yüzeyinde sunulur ve güçlü HLA-A2 sınırlı sitotoksik T lenfosit reaksiyonuna neden olur. HA-1H allelinin immünojenik özelliği bulunurken, HA-1R antijeni immünojenik değildir.<sup>[5,12,13]</sup>

Minör HLA antijenlerinin önemi ilk kez 1966 yılında kemik iliği transplantasyonu yapılan HLA uyumlu kardeşlerde gösterilmiştir.<sup>[14]</sup> Daha sonraki çalışmalarda ise H-Y aracılı immün reaksiyonlar bildirilmiştir.<sup>[15,16]</sup>

HLA-A2 pozitif kemik iliği alıcı ve vericisi arasındaki HA-1 uyumsuzluğu (alıcı HR/HH, donör RR ise) nakil sonrası erken dönemde akut Graft-versus-host hastalığına (aGVHD) neden olur.<sup>[17]</sup> Yapılan bir çalışmada konağa ait antijen sunan hücrelerinin (ASH) gösterdiği antijenlere karşı oluşan T hücre reaktivasyonunun deri ve epitelyal dokuların hasarına neden olduğu bildirilmiştir.<sup>[18]</sup> Minör HLA antijenlerince oluşturulan

alloimmün cevap, graft rejeksiyonu ile sonuçlanabilir. Minör HLA antijenlerinin direkt veya indirekt tanınması böbrek transplantasyonunda önemlidir. Böbrek graft rejeksiyonunda, alıcı ASH'lerince sunulan (direkt tanıma) veya donör yolcu ASH'lerince (indirekt tanıma) sunulan mHag'leri, HLA moleküllerinin tanınmasıyla mHag'lerin immünojenik özelliği ortaya çıkar. Yapılan çalışmada, HLA-A2 uyumlu alıcı/verici çiftlerinde, böbrek allograft rejeksiyonunda HA-1 uyumsuzluğunun etkisi gösterilmiştir.<sup>[19]</sup>

mHA-1 uyumsuz böbrek nakillerinde, yolcu lökositlerin fazlalığı, transplantasyon sonrası erken dönemde, donör spesifik sitotoksik ve proinflatuar efektör T hücrelerinin aktivasyonunu sağlar ve böbrek endotelinin hasarına neden olur.<sup>[11]</sup> Antijen sunumunun bu indirekt yolunun, kronik allograft nefropatisinin (KAN) belirlenmesinde önemli bir etken olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir.<sup>[20]</sup> Çalışmamızda böbrek transplantasyonunda mHA-1 uyumu veya uyumsuzluğunun transplant sonrası graft sağkalımı ve KAN ile ilişkisini, hasta-donör arasındaki cinsiyet ve mHag farklılıklarının rejeksiyona etkisini araştırmayı amaçladık.

## HASTALAR VE YÖNTEMLER

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Nefroloji Bilim Dalı tarafından SDBY tanısı konmuş 59 hasta (23 kadın, 36 erkek; ort. yaş 32.1; dağılım 16-57) ve donörleri (39 kadın, 20 erkek; ort. yaş 53.9; dağılım 33-73) çalışmaya alınmıştır. Çalışma grubuna alınan hastaların, canlı donörden transplantasyonları 2001-2004 yılları arasında ve transplantasyon öncesi cross-match testleri negatif olarak belirlendikten sonra gerçekleştirilmiştir. İki hasta donörleri ile HLA uyumu açısından tam uyumlu (full match), diğer hastalar ise donörleri ile en az bir haplotip uyumlu idi.

Çalışmaya alınan hasta hastalar iki gruba ayrılarak değerlendirilmiştir. Transplantasyon sonrası dönemde klinik olarak ve/veya biyopsi ile rejeksiyon atağı (Akut Rejeksiyon Episodu, ARE) saptanan ya da kronik rejeksiyon (KR) belirlenen grup "Rejeksiyon Grubu (RG)" (n=10, %17), diğer hastalar ise "Non-Rejeksiyon Grubu (NRG)" (n=49, %83) olarak isimlendirilmiştir. Rejeksiyon tanısı klinik izlem, idrar miktarında azalma ya da serum kreatinin düzeyinde artış değerlendirilerek ve gerektiğinde biyopsi ile doğrulanarak konulmuştur. Klinik olarak ARE tanısı konulan hastaların (n=6) ikisine allograft biyopsisi yapılmıştır. Akut Rejeksiyon Episodu tanısı konulan hastalara, birbirini izleyen üç gün süresince, günlük 500 mg dozunda intravenöz methylprednisolone tedavisi uygulanmıştır. Kronik rejeksiyon tanısı (n=4) ise biyopsi sonucunda konulmuştur. Banff sınıflamasına göre bir hastada evre 4, bir hastada evre 1, bir hastada evre 1B ve diğer hastada ise evre 3 olarak belirlenmiştir. Çalışma grubunu oluşturan hastalardan dördü (%6.8), transplante edilen

**Tablo 1. Çalışma grubunun demografik bilgileri**

	RG*	NRG**
Hasta sayısı	10	49
Kadın	4	19
Erkek	6	30
HLA tam uyumlu hasta sayısı	0	2
HLA DR tam uyumlu hasta sayısı	2	7
Cinsiyet uyumlu transplantasyon	4	27
Ortalama Klinik İzlem Süresi (Ay)	66.8 (28-98)	78.9 (19-97)
Fonksiyone grafit ile ölen hasta sayısı	1	2
Graft kaybı gözlenen hasta sayısı	2	2

\* Rejeksiyon Grubu; \*\* Non-Rejeksiyon Grubu.

böbreklerini kronik allograft nefropatisi nedeniyle kaybetmiştir. Akut rejeksiyon epizodu saptanan hastalarda organ kaybı gözlenmemiştir. Üç hasta ise, fonksiyonları normal olan grafitları ile diğer medikal nedenlerden dolayı yaşamını yitirmiştir. Hastalar 01.03.2009 tarihine kadar klinik gelişimleri açısından izlenmiştir (Tablo 1). Hastalara uygulanan immünsupresif tedaviler arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

### Tipleme Metodları

Hasta ve vericilerin DNA'ları periferik kanlarından izole edildi.<sup>[21]</sup> Tüm hasta ve vericilerinin HLA ve mHA-1 tiplendirmeleri, European Federation for Immunogenetics (EFI) tarafından akredite İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında yapıldı. HLA-A, B, DR doku tipleme testleri serolojik ve moleküler yöntemleri, HA-1 genotipleri ise moleküler yöntem kullanılarak belirlendi.<sup>[22-24]</sup>

### Minor Antijen Tiplemesi

Minör HA-1 tiplemesi için polimeraz zincir reaksiyonu (PZR; Polymerase Chain Reaction Sequence Spesific Primer, PCR-SSP) yöntemi kullanıldı. Diziyeye özgül primerleri içeren ticari kitler (One Lambda Inc, USA) ile HA-1H ve HA-1R allelleri belirlendi (Tablo 2). Her bir PZR reaksiyonu için 100 ng genomik DNA kullanıldı. PZR amplifikasyonu için test başına 2 µl primer, 1 µl DNA, 7 µl D-mix, 0.5 µl Taq Polimeraz karışımı hazırlandı. Döngü koşulları; 96°C'de 130 sn denatürasyon, 63°C'de 1 dk (1 döngü), 96°C'de 10 sn, 63°C'de 60 sn (9 döngü), 96°C'de 10 sn, 59°C'de 50 sn (20 döngü) ve 72°C'de 30 sn olarak uygulandı. Amplifiye edilen PZR ürünleri %2'lik agaroz-gel elektroforezinde analiz edilip, ethidium bromid boyama sonrası UV transiluminatörde görüntülendi. Analiz sonucunda hasta ve donörlerin HA-1 allelleri HH, HR veya HR olarak

**Tablo 2. HA-1 PCR-SSP kitinin içeriği**

Alleller	5' tanımlama bölgesi	3' tanımlama bölgesi	Büyükklük
HA-1H (Histidin)	345ACACT349	500CTGCA504	190 bp
HA-1R (Arginin)	345ACACT349	500TTGCG504	190 bp

**Tablo 3. Çalışma grubu sonuçları**

	RG (n=10)	NRG (n=49)
mHA uyumlu	6	25
HLA-A2 uyumlu	2	21
Cinsiyet uyumlu	4	27
mHA ve HLA-A2 uyumlu	2	9
mHA ve Cinsiyet uyumlu	3	13
mHA, HLA-A2 ve cinsiyet uyumlu	0	5

belirlendi. İstatistiksel analizler, Fisher's exact test ve Pearson chi-square testleri kullanılarak yapıldı.

### BULGULAR

Çalışma grubunu oluşturan hasta ve donörlerin mHA, HLA-A2 ve cinsiyet uyumları gruplar arasında değerlendirilmiştir. Çalışmaya alınan 59 hastanın HH, RR, HR genotiplerinin sıklıkları sırası ile %17, %25 ve %58, donörlerin ise %17, %14 ve %69 olarak bulundu. Hastaların %53'ü (n=31) HA-1 açısından donörleri ile uyumlu bulundu. Rejeksiyon grubunda 6 (%40), Non-rejeksiyon grubunda ise 25 (%51) hasta donörleri ile uyumlu idi ve mHA-1 uyumu ile gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı (p>0.05). mHA ve HLA-A2 uyumlu hasta-donör çiftleri ile gruplar arasında, ayrıca mHA ve cinsiyet uyumlu transplantasyonlar ile gruplar arasında anlamlı bir farklılık belirlenmedi (p>0.05). Her üç parametre açısından uyumlu hasta sayısı NRG'da 5 iken, RG'da uyumlu hasta bulunmakta idi (p>0.05) (Tablo 3).

HA-1 uyumsuz hasta-donör çiftleri (n=28) genotip özelliklerine göre incelendiğinde, rejeksiyonla ilişkili olmadığı saptandı (p>0.05). HA-1 uyumsuz hasta-donör çiftlerinin genotip sonuçları; hasta HH-donör HR/RR (n=8; 2 RG, 6 NRG), hasta RR-donör HH/HR (n=3; 0 RG, 3 NRG), hasta HR- donör HH/RR (n=17; 2 RG, 15 NRG) olarak bulundu.

Çalışma grubunda yer alan 6 hastada (%10.1; 4 RG, 2 NRG) kronik allograft nefropatisi (KAN) ve bu hastaların dördünde ise graft kaybı gözlemlendi. Graft kaybı gözlenen hastaların ikisi RG, diğer ikisi ise NRG'da yer almaktaydı. KAN saptanan hastaların 5'inde (%83.3) mHA uyumu bulundu ancak rejeksiyonla ilişkili sonuç elde edilmedi (p>0.05). Rejeksiyon grubunda yer alan 10 hastanın 6'sında ARE, dördünde ise KR saptanmıştı. Rejeksiyon tipi ile mHA uyumu arasında da anlamlı bir farklılık gözlenmedi (p>0.05). Akut rejeksiyon epizodu, kronik rejeksiyon ya da kronik allograft nefropatisi saptanan hastaların mHA, HLA-A2 ve cinsiyet uyumları ile ilgili dökümler Tablo 4'te verilmiştir. Bu

**Tablo 4. Rejeksiyon ve KAN saptanan hastaların sonuçları**

Hasta No	Hasta Grubu	Hasta-Donör Cinsiyet Uyumu	Hasta-Donör HLA-A2 uyumu	Hasta-Donör mHag uyumu	Akut Rejeksiyon	Kronik Rejeksiyon	Kronik Allograft Nefropatisi (KAN)
1	RG	Var	Yok	Var	Yok	Var	Var
2	RG	Var	Yok	Var	Yok	Var	Var
3	RG	Var	Yok	Var	Yok	Var	Var
4	RG	Var	Yok	Yok	Yok	Var	Var
5	NRG	Yok	Var	Var	Yok	Yok	Var
6	NRG	Yok	Yok	Var	Yok	Yok	Var
7	RG	Yok	Var	Var	Var	Yok	Yok
8	RG	Yok	Yok	Var	Var	Yok	Yok
9	RG	Yok	Var	Var	Var	Yok	Yok
10	RG	Yok	Yok	Yok	Var	Yok	Yok
11	RG	Yok	Yok	Yok	Var	Yok	Yok
12	RG	Yok	Yok	Yok	Var	Yok	Yok

hastaların özellikleri ile mHA uyumsuzluğu ve diğer parametrelerle birlikteliği arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ).

### TARTIŞMA

Transplantasyonlarda HLA uyumunun önemi artık bilinen bir gerçektir. Fakat HLA identik nakiller sonrası hastaların rejeksiyon episodları sonucu graftlarını kaybetmesi HLA antijenlerinin dışında başka immünolojik faktörlerin de etkili olabileceğini düşündürmüştür.<sup>[25]</sup> Graft-versus-host hastalığı gelişimi üzerine mHAg uyumsuzluğunun etkisi en iyi, HLA tam uyumlu kardeş çiftleriyle yapılan çalışmalarla anlaşılmıştır.<sup>[4]</sup> HA-1 lokusundaki uyumsuzluğun, aGVHH gelişimi için potansiyel bir risk faktörü olduğu Goulmy ve ark.nın<sup>[26]</sup> yaptığı çalışmada belirtilmiş ve ayrıca aGVHH'li hastaların periferik kanlarında, HA-1 spesifik sitotoksik T lenfositlerinin yükseldiği de bildirilmiştir.

Non-HLA immünitesi, böbrek transplantasyonu sonrası kronik graft kaybına neden olur.<sup>[1,2]</sup> Minör HLA antijenler, non-HLA etki için aday immünojenlerdir. Hematopoetik kök hücre transplantasyon çalışmalarında mHag'lerin etkisi çalışılmışken, böbrek transplantasyonunda mHag'lerin etkisi üzerine çalışmalar daha az sayıdadır.<sup>[4,26-30]</sup> HLA-identik kardeşlerden yapılan böbrek nakiller ile HLA uyumsuz nakiller karşılaştırıldığında başarının daha iyi olduğu ve daha az immünsüpresif ilaca ihtiyaç duyulduğu gösterilmiştir.<sup>[31]</sup> Minör HLA antijenlerinin böbrek transplantasyonundaki rolü üzerine farklı sonuçlar bildirilen çalışmalar sunulmuştur. Cai ve ark.,<sup>[32]</sup> graft toleransı gelişen böbrek transplant alıcılarında HA-1 için spesifik CD8+ memory regülatör ve efektör T hücreleri tanımlamışlardır. Krishnan ve ark.<sup>[19]</sup> ise HA-1 uyumsuzluğu ile kronik böbrek rejeksiyonu arasında anlamlı bir ilişki saptamışlardır. HLA ve HA-1 uyumsuz böbrek nakillerinin KAN ile, HLA uyumlu ancak HA-1 uyumsuz nakillerinin ise grafta tolerans ile sonuçlandığını bildirmişlerdir. Her iki çalışmada da çalışılan hasta sayısı, yaptığımız çalışmaya göre daha azdır (sırası ile n=3, n=36). Heinold ve ark.<sup>[33]</sup> ise Collaborative

Transplant Study (CTS) verilerini ve birbirleri ile HLA tam uyumlu çiftlerin DNA örneklerini kullanarak yaptıkları çalışmada, mHag uyumsuzluğunun etkisinin transplantasyon sonrası 5 yıllık dönemde görülmediğini ve 10 yıllık graft survisi üzerine etkili olmayacağını bildirmişlerdir. Bu çalışmaya 159'u (%22.6) canlı donörden, 543'ü ise kadavra donörden olmak üzere 702 hasta alınmıştır. Bu hastalarda HLA uyumunun tam olması nedeniyle, mHA'nın rejeksiyon üzerine etkisi daha net olarak incelenmiştir. Yaptığımız çalışmada ise HLA uyumu açısından en az bir haplotip uyumlu, canlı donörden transplantasyon yapılmış 59 hasta-donör çifti incelendi. Sonuçlarımız Heinold ve ark.<sup>[33]</sup> tarafından yapılan çalışma ile uyumlu olarak bulunmuştur.

Yapılan çalışmalarda böbrek transplantasyonunda toleransın gelişiminde, HA-1 spesifik regülatör T hücrelerinin indirekt rolü olduğu belirtilmiştir. Ancak yaptığımız çalışmada rejeksiyon gelişimi ile HA-1 uyumsuzluğu arasında anlamlı bir fark saptayamadık. Çalışmamız, canlı donörden böbrek transplantasyonlarında rejeksiyon gelişimi ile mHA antijenleri uyumsuzluğu arasındaki ilişkiyi, ülkemizde inceleyen ilk araştırmadır.

### KAYNAKLAR

1. Opelz G; Collaborative Transplant Study. Non-HLA transplantation immunity revealed by lymphocytotoxic antibodies. *Lancet* 2005;365:1570-6.
2. Terasaki PI. Deduction of the fraction of immunologic and non-immunologic failure in cadaver donor transplants. In: Cecka JM, Terasaki PI, editors. *Clinal transplants*. Los Angeles, CA: UCLA Immunogenetics Center; 2002. p. 449-52.
3. Snell GD. Methods for the study of histocompatibility genes. *J Genet* 1948;49:87-108.
4. Tseng LH, Lin MT, Hansen JA, Gooley T, Pei J, Smith AG, et al. Correlation between disparity for the minor histocompatibility antigen HA-1 and the development of acute graft-versus-host disease after allogeneic marrow transplantation. *Blood* 1999;94:2911-4.
5. den Haan JM, Meadows LM, Wang W, Pool J, Blokland E, Bishop TL, et al. The minor histocompatibility antigen HA-1: a diallelic gene with a single amino acid polymorphism. *Science* 1998;279:1054-7.
6. Goulmy E. Human minor histocompatibility antigens: new

- concepts for marrow transplantation and adoptive immunotherapy. *Immunol Rev* 1997;157:125-40.
7. Wallny HJ, Rammensee HG. Identification of classical minor histocompatibility antigen as cell-derived peptide. *Nature* 1990;343:275-8.
  8. Loveland B, Wang CR, Yonekawa H, Hermel E, Lindahl KF. Maternally transmitted histocompatibility antigen of mice: a hydrophobic peptide of a mitochondrially encoded protein. *Cell* 1990;60:971-80.
  9. Röttschke O, Falk K, Wallny HJ, Faath S, Rammensee HG. Characterization of naturally occurring minor histocompatibility peptides including H-4 and H-Y. *Science* 1990;249:283-7.
  10. Falk K, Röttschke O, Rammensee HG. Cellular peptide composition governed by major histocompatibility complex class I molecules. *Nature* 1990;348:248-51.
  11. Goulmy E. Minor histocompatibility antigens: from transplantation problems to therapy of cancer. *Hum Immunol* 2006;67:433-8.
  12. Goulmy E, Gratama JW, Blokland E, Zwaan FE, van Rood JJ. A minor transplantation antigen detected by MHC-restricted cytotoxic T lymphocytes during graft-versus-host disease. *Nature* 1983;302:159-61.
  13. Mutis T, Verdijk R, Schrama E, Esendam B, Brand A, Goulmy E. Feasibility of immunotherapy of relapsed leukemia with ex vivo-generated cytotoxic T lymphocytes specific for hematopoietic system-restricted minor histocompatibility antigens. *Blood* 1999;93:2336-41.
  14. Graff RJ, Hildemann WH, Snell GD. Histocompatibility genes of mice. VI. Allografts in mice congenic at various non-H-2 histocompatibility loci. *Transplantation* 1966;4:425-37.
  15. Goulmy E, Termijtelen A, Bradley BA, van Rood JJ. Alloimmunity to human H-Y. *Lancet* 1976;2:1206.
  16. Goulmy E, Termijtelen A, Bradley BA, van Rood JJ. Y-antigen killing by T cells of women is restricted by HLA. *Nature* 1977;266:544-5.
  17. Mutis T, Gillespie G, Schrama E, Falkenburg JH, Moss P, Goulmy E. Tetrameric HLA class I-minor histocompatibility antigen peptide complexes demonstrate minor histocompatibility antigen-specific cytotoxic T lymphocytes in patients with graft-versus-host disease. *Nat Med* 1999;5:839-42.
  18. Dickinson AM, Wang XN, Sviland L, Vyth-Dreese FA, Jackson GH, Schumacher TN, et al. In situ dissection of the graft-versus-host activities of cytotoxic T cells specific for minor histocompatibility antigens. *Nat Med* 2002;8:410-4.
  19. Krishnan NS, Higgins RM, Lam FT, Kashi H, Jobson S, Ramaiyan K, et al. HA-1 mismatch has significant effect in chronic allograft nephropathy in clinical renal transplantation. *Transplant Proc* 2007;39:1439-45.
  20. Yang J, Jaramillo A, Liu W, Olack B, Yoshimura Y, Joyce S, et al. Chronic rejection of murine cardiac allografts discordant at the H13 minor histocompatibility antigen correlates with the generation of the H13-specific CD8+ cytotoxic T cells. *Transplantation* 2003;76:84-91.
  21. Gustinich S, Manfioletti G, Del Sal G, Schneider C, Carninci P. A fast method for high-quality genomic DNA extraction from whole human blood. *Biotechniques* 1991;11:298-300.
  22. Middleton D, Nelson SD, Martin J. Sources of HLA typing sera. *Ulster Med J* 1978;47:162-4.
  23. Olerup O, Zetterquist H. DR "low-resolution" PCR-SSP typing--a correction and an up-date. *Tissue Antigens* 1993;41:55-6.
  24. Jordan F, McWhinnie AJ, Turner S, Gavira N, Calvert AA, Cleaver SA, et al. Comparison of HLA-DRB1 typing by DNA-RFLP, PCR-SSO and PCR-SSP methods and their application in providing matched unrelated donors for bone marrow transplantation. *Tissue Antigens* 1995;45:103-10.
  25. Rodríguez PC, Arroyave IH, Mejía G, García LF. Detection of alloantibodies against non-HLA antigens in kidney transplantation by flow cytometry. *Clin Transplant* 2000;14:472-8.
  26. Goulmy E, Schipper R, Pool J, Blokland E, Falkenburg JH, Vossen J, et al. Mismatches of minor histocompatibility antigens between HLA-identical donors and recipients and the development of graft-versus-host disease after bone marrow transplantation. *N Engl J Med* 1996;334:281-5.
  27. Nishida T, Akatsuka Y, Morishima Y, Hamajima N, Tsujimura K, Kuzushima K, et al. Clinical relevance of a newly identified HLA-A24-restricted minor histocompatibility antigen epitope derived from BCL2A1, ACC-1, in patients receiving HLA genotypically matched unrelated bone marrow transplant. *Br J Haematol* 2004;124:629-35.
  28. Akatsuka Y, Warren EH, Gooley TA, Brickner AG, Lin MT, Hansen JA, et al. Disparity for a newly identified minor histocompatibility antigen, HA-8, correlates with acute graft-versus-host disease after haematopoietic stem cell transplantation from an HLA-identical sibling. *Br J Haematol* 2003;123:671-5.
  29. Pérez-García A, De la Cámara R, Torres A, González M, Jiménez A, Gallardo D. Minor histocompatibility antigen HA-8 mismatch and clinical outcome after HLA-identical sibling donor allogeneic stem cell transplantation. *Haematologica* 2005;90:1723-4.
  30. Gallardo D, Aróstegui JJ, Balas A, Torres A, Caballero D, Carreras E, et al. Disparity for the minor histocompatibility antigen HA-1 is associated with an increased risk of acute graft-versus-host disease (GvHD) but it does not affect chronic GvHD incidence, disease-free survival or overall survival after allogeneic human leucocyte antigen-identical sibling donor transplantation. *Br J Haematol* 2001;114:931-6.
  31. Simpson E, Scott D, James E, Lombardi G, Cwynarski K, Dazzi F, et al. Minor H antigens: genes and peptides. *Eur J Immunogenet* 2001;28:505-13.
  32. Cai J, Lee J, Jankowska-Gan E, Derks R, Pool J, Mutis T, et al. Minor H antigen HA-1-specific regulator and effector CD8+ T cells, and HA-1 microchimerism, in allograft tolerance. *J Exp Med* 2004;199:1017-23.
  33. Heinold A, Opelz G, Scherer S, Ruhenstroth A, Laux G, Doehler B, et al. Role of minor histocompatibility antigens in renal transplantation. *Am J Transplant* 2008;8:95-102.