

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İstanbul Tıp Fakültesi
Patoloji Anabilim Dalı



**Böbrek Transplantı İndikasyon Biyopsilerinde
Antikor Aracılı Rejeksiyon Tanısında İnflamatuvar
Hücre Alt Tiplerinin Klinik ve Elektron Mikroskopik
Bulgularla Korelasyonu**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Özge HÜRDOĞAN

Tez Danışmanı
Prof. Dr. M. Yasemin ÖZLÜK

İSTANBUL

2020

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İstanbul Tıp Fakóltesi
Patoloji Anabilim Dalı

Böbrek Transplantı İndikasyon Biyopsilerinde
Antikor Aracılı Rejeksiyon Tanısında İnflamatuvar
Hücre Alt Tiplerinin Klinik ve Elektron Mikroskopik
Bulgularla Korelasyonu

UZMANLIK TEZİ

Dr. Özge HÜRDOĞAN

Tez Danışmanı
Prof. Dr. M. Yasemin ÖZLÜK

İSTANBUL
2020

Bu tez çalışması İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.
(Proje No: 36289)

TEŞEKKÜR

İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'ndaki eğitim sürecimde bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, başta Anabilim Dalı Başkanı Sn. Prof. Dr. Bilge BİLGİÇ olmak üzere, tüm hocalarım ve uzmanlarıma,

Tezimin ve eğitimimin her aşamasında sonsuz yardım ve desteğini esirgemeyen, kendisiyle çalıştığım için çok şanslı olduğum ve örnek almaya çalıştığım değerli hocam, mentörüm ve tez danışmanım Sn. Prof. Dr. Yasemin ÖZLÜK'e,

Eğitim süresince değerli desteğini hissettiğim, patoloji alanını sevmemde ve seçmemde büyük katkısı olan Sn. Prof. Dr. Işın KILIÇASLAN'a,

Entelektüel birikimi ve karakteriyle bana ışık tutup destek olan, elektron mikroskopi alanındaki birikimimi borçlu olduğum Sn. Prof. Dr. Seyhun SOLAKOĞLU'na,

Klinik bilgilere ulaşmamda bana yol gösteren İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'ndan Sn. Uzm. Dr. Ahmet Burak DİRİM'e, İstanbul Tıp Fakültesi Pediatrik Nefroloji Bilim Dalı'ndan Sn. Dr Öğretim Üyesi. Bağdagül AKSU'ya, İstanbul Tıp Fakültesi Pediatrik Nefroloji Bilim Dalı'ndan Sn. Doç. Dr. Nur CANPOLAT ve Sn. Uzm. Dr. Seha SAYGILI'ya,

Elektron mikroskopik incelemelerdeki desteği nedeniyle Sn. Uzm. Dr. Fatmanur KARAKUŞ'a,

Teknik çalışmalardaki yardımlarından ötürü Sn. Mehmet Ali DOĞAN ve Sn. Jülide HOCAOĞLU ile arşiv çalışmalarındaki katkılarından dolayı Sn. Balabey KALAÇAY ve Sn. Necati ÜZÜM'e,

Beraber çalışmaktan her zaman keyif aldığım tüm çalışma arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca bana her konuda sonsuz destek olan anneme ve babama çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
KISALTMALAR.....	v
TABLO LİSTESİ.....	vi
ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
RESİM LİSTESİ.....	viii
BÖLÜM I.....	1
I.ÖZET.....	1
II.ABSTRACT.....	4
BÖLÜM II.....	7
I.GİRİŞ.....	7
II.GENEL BİLGİLER.....	9
BÖBREK TRANSPLANTASYONU.....	9
A. Temel Bilgiler.....	9
B. Tarihçe.....	9
C. Cerrahi Prosedür.....	10
D. Standart İmmünsüpresif Tedavi.....	10
E. Böbrek Transplantasyonunda Klinik Seyir.....	10
F. Böbrek Transplantasyonda İmmünoloji.....	10
G. Böbrek Transplantasyonunda Canlı ve Kadavra Donörler.....	11
H. Graft Sağ kalımını Etkileyen Faktörler.....	11
RENAL ALLOGRAFT BİYOPSİSİ.....	12
A. Tanısal Değer.....	12
B. Yeterlilik.....	12
C. Renal Allograft Biyopsilerine Yaklaşım.....	12
D. Banff Sınıflaması Kriterleri ve Lezyon Skorlama Sistemi.....	13
E. Rejeksiyon.....	17
F. Araştırmada Kullanılan Belirleyiciler ile İlgili Genel Bilgiler.....	20
G. Böbrek Transplantasyonu Rejeksiyon Tanısında İmmünhistokimyasal İncelemenin Yeri.....	20
H. Böbrek Allograft Biyopsi Değerlendirmesinde Elektron Mikroskopinin Yeri.....	20
BÖLÜM III.....	22

GEREÇ VE YÖNTEM.....	22
I.Çalışma Olgularının Belirlenmesi ve Hazırlanması.....	22
II.Dual İmmünohistokimyasal Yöntem.....	22
II.A.CD34/CD163 ile immünohistokimyasal boyama.....	23
II.B. II.B. CD34/CD56 ile immünohistokimyasal boyama.....	23
III.Dual İmmünohistokimyasal Değerlendirme.....	24
III.A. CD34/163.....	24
III.B. CD34/56.....	24
IV.Elektron Mikroskopik Yöntem.....	25
V.Biyostatistiksel Analiz.....	26
BÖLÜM IV.....	27
BULGULAR.....	27
I.Çalışma Grubuna Ait Genel Özellikler ve Histopatolojik Değerlendirme.....	27
II.İmmünohistokimyasal İnceleme Sonuçları.....	34
II.A. CD163 ile İmmünohistokimyasal İnceleme Sonuçları.....	34
II.B. CD56 ile İmmünohistokimyasal İnceleme Sonuçları.....	40
III.Elektron Mikroskopik İnceleme Sonuçları.....	43
IV.Olguların Klinik Seyri ve Prognoz Özellikleri.....	56
BÖLÜM V.....	61
TARTIŞMA.....	61
BÖLÜM VI.....	70
SONUÇLAR.....	70
BÖLÜM VII.....	72
KAYNAKLAR.....	72
ÖZGEÇMİŞ.....	77

KISALTMALAR

AAR: Antikor aracılı rejeksiyon

AZA: Azatioprin

BBA: Büyük büyütme alanı

CNI: Kalsinörin inhibitörü

DSA: Donör spesifik antikor

HE: Hematoksilen-Eozin

MHC: Major histokompatibilite kompleksi

MMF: Mikofenolat mofetil

mTORi: mTOR inhibitörü

NK: Doğal öldürücü

SV40: Simian virüs-40

THAR: T hücre aracılı rejeksiyon

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Banff Lezyon Skoru Değerlendirilmesi.....	16
Tablo 2: Banff Sınıflamasına Göre Rejeksiyon Tanı Kategorileri.....	19
Tablo 3: Çalışmada kullanılan immünohistokimyasal belirteçlere ait bilgiler.....	24
Tablo 4: Biyopsilerin elektron mikroskopik incelemesinde değerlendirilen parametreler.....	25
Tablo 5: Olguların genel özellikleri.....	27
Tablo 6: Banff lezyon skorlarının rejeksiyon alt tiplerine göre ortalamaları ve ortalamalarının karşılaştırılması.....	30
Tablo 7: Banff lezyon skorları arasında korelasyon analizi.....	33
Tablo 8: CD163 antikoru ile pozitif reaksiyon gösteren interstisyel inflamatuvar hücre skorlarının Banff lezyon skorları ile karşılaştırılması.....	36
Tablo 9: Elektron mikroskopik incelemede değerlendirilen diğer parametrelere ait değerler.....	44
Tablo 10: Işık mikroskopide değerlendirilen Banff lezyon skorları ile elektron mikroskopik parametrelerin karşılaştırılması.....	47
Tablo 11: Işık mikroskopide değerlendirilen Banff lezyon skorları ile elektron mikroskopik parametreler arası korelasyon	49
Tablo 12. Elektron mikroskopik erken transplant glomerülopatisi saptanan olgulara ait özellikler.....	52
Tablo 13. Biyopsi tanı grupları arasında EM bulguları farklılıklarının sorgulanma sonuçları.....	55
Tablo 14. Banff lezyon skorları <i>i</i> , <i>ah</i> ve <i>mm</i> ile graft kaybı ilişkisi.....	57
Tablo 15. Prognoz üzerine etkili parametrelerin Cox orantılı tehlikeler modeline göre graft kaybı üzerine etkisi.....	60

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Banff lezyon skorlarının ortalamaları	28
Şekil 2: Banff lezyon skorlarının dağılımı.....	28
Şekil 3: Antikor aracılı ve T hücre aracılı rejeksiyon olgularının tanı alt gruplarına göre dağılımı.....	29
Şekil 4: T hücre aracılı rejeksiyon alt tiplerine göre anlamlı farklılık gösteren Banff lezyonlarının ortalamaları.....	31
Şekil 5: Antikor aracılı rejeksiyon alt tiplerine göre anlamlı farklılık gösteren Banff lezyonlarının ortalamaları.....	32
Şekil 6: CD163 immünohistokimyası ile elde edilen hücre sayımlarına ait ortalamalar	34
Şekil 7: Rejeksiyon alt tipleri arasında glomerül başına düşen toplam CD163 pozitif hücre sayısının karşılaştırması.....	39
Şekil 8: Rejeksiyon alt tipleri arasında glomerül başına düşen mezengiyal CD163 pozitif hücre sayısının karşılaştırması.....	39
Şekil 9: İnterstisyel CD56 pozitifliği gösteren ve göstermeyen vakalar arasında Banff lezyon skorları <i>i</i> ve <i>mm</i> 'nin karşılaştırılması.....	41
Şekil 10: Peritubuler kapillerlerde maksimum CD56 pozitif hücre sayısına göre oluşturulan alt gruplar arasında <i>ti</i> , <i>ah</i> ve interstisyel CD163 boyanma skorlarının karşılaştırılması.....	43
Şekil 11: CD163 pozitif hücre sayıları ile elektron mikroskopik parametrelerin korelasyonu.....	51
Şekil 12: CD163 pozitif makrofaj sayısının <i>cg0</i> , <i>cg1a</i> ve <i>cg1b</i> grupları arasında karşılaştırılması.....	53
Şekil 13: Tanı alt gruplarına göre anlamlı farklılık gösteren elektron mikroskopik parametreler.....	56
Şekil 14: Banff lezyon skoru <i>ah</i> 'nin graft sağ kalımı ile ilişkisi.....	57
Şekil 15: Banff lezyon skoru <i>mm</i> 'nin graft sağ kalımı ile ilişkisi.....	58
Şekil 16: Banff lezyon skoru <i>i</i> 'nin graft sağ kalımı ile ilişkisi.....	58
Şekil 17: CD163 pozitif interstisyel inflamatuvar hücre skoru'nun graft sağ kalımı ile ilişkisi ..	59

RESİM LİSTESİ

Resim 1: A: İnterstisyel inflamatuvar hücreler (x400, H&E), B: CD163 ile interstisyel alanda <i>skor 1</i> düzeyinde inflamasyon (x400, CD163) (İTF Patoloji AD 31115-18).....	35
Resim 2: A: İnterstisyel inflamatuvar hücreler (x400, H&E), B: CD163 ile interstisyel alanda <i>skor 2</i> düzeyinde inflamasyon (x400, CD163) (İTF Patoloji AD 35254-16).....	35
Resim 3: A: İnterstisyel inflamatuvar hücreler (x400, H&E), B: CD163 ile interstisyel alanda <i>skor 3</i> düzeyinde inflamasyon (x400, CD163) (İTF Patoloji AD 21323-15).....	36
Resim 4: A: Glomerül mezengiyumunda CD163 pozitif makrofajlar (x400, CD163) (İTF Patoloji AD 4181-15), B: Glomerül kapiller lümeninde CD163 pozitif makrofajlar (x400, CD163) (İTF Patoloji AD 39652-17), C: Arter intimasında inflamatuvar hücreler (x400, HE) (İTF Patoloji AD 21076-15), D: İntimit oluşturan inflamatuvar hücrelerin CD163 ile pozitif boyanması (x400, CD163) (İTF Patoloji AD 21076-15). (A, B ve D Dual immünohistokimya: endotel kırmızı, CD163-pozitif inflamatuvar hücreler kahverengi kromojen ile işaretleme).....	37
Resim 5: A: Peritubuler kapiller lümenlerde yoğun inflamatuvar hücreler (x400, HE) (İTF Patoloji AD 24179-15), B: Peritubuler kapiller lümenlerdeki inflamatuvar hücrelerde CD163 pozitifliği (x400, CD163) (İTF Patoloji AD 24179-15), C: Skor 3 düzeyinde peritubuler kapillerit içeren biyopside kapiller lümenlerde yoğun CD163 pozitif hücre infiltrasyonu (x400, CD163) (İTF Patoloji AD 25781-15), D: Maksimum 4 adet CD163 pozitif intrakapiller makrofaj içeren bir biyopsi (x400, CD163) (İTF Patoloji AD 25781-15). (B, C ve D Dual immünohistokimya: endotelde kırmızı, CD163-pozitif inflamatuvar hücrelerde kahverengi kromojen ile işaretleme).....	38
Resim 6: A: İnterstisyumda pozitif boyanma gösteren inflamatuvar hücreler (x1000, CD56) İTF Patoloji AD 8580-14), B: Peritubuler kapiller lümenlerdeki inflamatuvar hücrelerde CD56 pozitifliği (x1000, CD56) İTF Patoloji AD 17824-17).....	42
Resim 7: Glomerülit (Glomerüler kapiller lümen içerisinde izlenen inflamatuvar hücreler) (x5000, uranil sitrat-kurşun asetat) (İTF Histoloji ve Embriyoloji AD 23529).....	45
Resim 8: Glomerül bazal membranında duplikasyon (x5000, uranil sitrat-kurşun asetat) (İTF Histoloji ve Embriyoloji AD 22094).....	45
Resim 9: Peritubuler kapiller bazal membranında >10 tabaka oluşturan multilamellasyon. (x10.000, uranil sitrat-kurşun asetat) (İTF Histoloji ve Embriyoloji AD 24157).....	46

BÖLÜM I

I. ÖZET

Amaç: Böbrek transplantasyonunda T hücre aracılı rejeksiyon (THAR) ve antikor aracılı rejeksiyon (AAR) olmak üzere iki tip rejeksiyon görülür. Rejeksiyon tanısı Banff sınıflandırma sistemine göre belirlenir. Doğal immünitenin bir parçası olan doğal öldürücü (NK) hücreler ve makrofajların graft disfonksiyonu ve rejeksiyon patogenezindeki rolü çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Değerlendirmede ışık mikroskopiye yansımayan erken lezyonların tanısında elektron mikroskopik inceleme önemli rol oynamaktadır. Banff sınıflamasında elektron mikroskopi transplant glomerülopatisinde *cgla* gibi erken lezyonların skorlanmasında ve peritubuler bazal membran multilamellasyonun (*ptcml*) belirlenmesinde yer alır.

Bu çalışmada amacımız CD163 ekspresyonu gösteren monosit/makrofajlar ile CD56 ekspresyonu gösteren NK hücrelerin böbrek transplant biyopsilerinde, AAR olgularında glomerüler kapillerler ve peritubuler kapiller lümenleri içinde yer alan inflamatuvar hücre infiltrasyonundaki oranının/miktarının rejeksiyon, histolojik parametreler ve prognoz ile ilişkisini araştırmak ve elektron mikroskopik olarak belirlenen glomerülit, *cgla* ve *ptcml* varlığını değerlendirmek ve bu verileri histopatolojik ve prognostik veriler ile karşılaştırmaktır.

Gereç ve yöntem: 2013-2018 yılları arasında İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda AAR ve/veya THAR tanısı almış 85 hastaya ait 161 transplante böbrek indikasyon biyopsisinde intraluminal ve interstisyel inflamatuvar hücre infiltrasyonu immünhistokimyasal olarak CD56/CD34 ve CD163/CD34 dual belirteçleri ile araştırıldı. Elektron mikroskopik olarak glomerülit, *cg*, *ptcml* ve bu lezyonlarla ilişkili parametrelerin varlığı ve derecesi değerlendirilerek bu veriler histopatolojik ve prognostik verilerle karşılaştırıldı. Tüm biyopsiler yeniden değerlendirilerek lezyonlar güncel Banff 2019 sınıflamasına göre yeniden skorlandı.

Bulgular: Hastaların 53'ü (%62,3) erkek, 32'si (%37,6) kadındı. Transplantasyonların 69'u (%80,2) canlı donörlerden gerçekleştirilmiş olup biyopsilerin %83'ü transplantasyon sonrası ≥ 12 . ayda yapılmıştı. Biyopsi sonrası takip süresi 25 (0-93) aydı (medyan). Otuz üç (%48,5) hastada graft kaybı görüldü. Banff lezyon skorlarının ortalamaları 0,16 ile 1,78 arasındaydı. Olguların %61,6'sında DSA, %60,7'sinde PRA pozitif. Olguların 31'inde

(%19,7) rejeksiyon saptanmadı. Rejeksiyon tanısı alan 126 olgunun 56'sı (%35,7) AAR ve AAR şüphesi, 38'i (%24,2) THAR, 32'si (%20,4) mikst rejeksiyon tanısı aldı.

CD163 immünohistokimyasal incelemesi 131 (%18,6) biyopsiye uygulandı. CD163 antikoru ile interstisyel boyanma skoru 30 vakada (%22,9) skor 0, 58 vakada (%44,3) skor 1, 29 vakada (%22,1) skor 2, 14 vakada (%10,7) skor 3 olarak değerlendirildi. CD163 ile interstisyel boyanma skoru ≥ 2 olan olgularda skor <2 olanlara göre *i*, *ti*, *ct*, *ci* ve *t-IFTA* skorları daha yüksek bulundu ($p < 0,05$). Glomerüllerde izlenen CD163 pozitif hücrelerin sayısı rejeksiyon izlenmeyen grup ile AAR grubu, rejeksiyon izlenmeyen grup ile mikst rejeksiyon grubu ve AAR grubu ile THAR grubu arasında anlamlı derecede farklı bulundu ($p < 0,05$). AAR ve mikst rejeksiyon gruplarında glomerüllerin tümünde ve mezengiyumda daha yüksek CD163 pozitif hücre saptandı ($p < 0,001$). Büyük büyütme alanı (BBA) başına düşen peritubuler kapiller intrakapiller CD163 pozitif hücre sayısı ve lümen içindeki maksimum pozitif hücre sayısı akut AAR'de kronik AAR'ye kıyasla yüksek bulundu ($p < 0,05$). Glomerülde saptanan toplam ve mezengiyal CD163 pozitif hücre sayısı ile *g*, *ptc* ve *cg* arasında korelasyon saptandı ($\rho > 0,3$ ve $p < 0,005$).

CD56 immünohistokimyasal incelemesi 117 olguda gerçekleştirildi. İnterstisyel alanda CD56 pozitivitesi 16 (%13,4) biyopside saptandı. *i* skoru ≥ 2 olan biyopsilerde interstisyel hücrelerde CD56 pozitifliği saptanırken, $\text{mm} \geq 1$ olan grupta CD56 pozitifliği düşük oranlarda izlendi ($p < 0,05$). CD163 ile saptanan sonuçlar ile CD56 ile interstisyel alanda pozitif hücre varlığı arasında herhangi bir ilişki saptanmadı ($p > 0,05$).

Elektron mikroskopide 33 hastaya ait 53 adet (%32,9) biyopsi değerlendirildi. Otuz iki (%71,1) biyopside glomerülit, bunların 26'sında kapiller lümenlerde oklüzyon görüldü. 29 (%64,4) biyopside endotelde şişme, 35 (%77,8) biyopside lamina rara internada lusensi artışı, 21 (%46,7) biyopside subendotelyal tüyümsü materyal varlığı, 38 (%84,4) biyopside fenestrasyon kaybı, 22 (%28,8) mezengiyal interpozisyon, 10 (%22,2) biyopside ≥ 1 peritubuler kapillerde ≥ 7 multilamellasyon, 18 (%40) biyopside ≥ 1 peritubuler kapillerde ≥ 5 multilamellasyon saptandı. Banff lezyon skorları *g*, *cg*, *ptc* ve CD163 pozitif glomerüler hücreler ile elektron mikroskopik bulgular arasında anlamlı ilişki bulundu ($p < 0,05$). Banff lezyon skorları *cg0*, *cg1a* ve $\geq \text{cg1b}$ olan olguların CD163 immünohistokimyası ile glomerül başına mezengiyal, intrakapiller ve toplam makrofaj sayısı, peritubuler kapillerlerde BBA başına intrakapiller CD163 pozitif makrofaj sayısı gruplar arasında anlamlı ölçüde farklı bulundu ($p < 0,05$). DSA sonucu ile en şiddetli multilamellasyon gösteren peritubuler

kapillerdeki lamel sayısı ve *ptcml* skoru arasında korelasyon bulundu (ρ ve p değerleri sırasıyla: 0,658 ve 0,010; 0,523 ve 0,055).

Banff lezyon skorları *ah*, *mm* ve *i* graft kaybı izlenen hastalarda daha yüksek saptandı ($p<0,05$). CD163 immünohistokimyası ile interstisyel inflamasyon skoru 2-3 olan olgularda graft kaybı, skor 0-1 olan olgulara kıyasla daha yüksek bulundu ($p=0,04$) (Odds oranı: 7,08 [1,68-29,76]).

Sonuç: Sonuç olarak, çalışmamızda rejeksiyon alt gruplarının histopatolojik olarak farklı grupları oluşturduğu gösterildi ve CD163 antikorunun bu alanda farklı amaçlar ile kullanımı açısından yeni bir bakış açısı ortaya atıldı. CD56 antikor pozitifliğinin rejeksiyonlarda dokuda beklendiği kadar yüksek sayılarda olmadığı, bu verinin serilere göre değişkenlik gösterebileceği görüldü. Rejeksiyon gelişiminde tüm kompartmanlardaki inflamatuvar reaksiyonun fibrotik süreçleri tetiklediği ve graft kaybına yol açtığı görüldü. Bu nokta tedavi kararı verirken kar-zarar dengesi gözetilerek dikkate alınmalıdır.

II. ABSTRACT

Aim: Renal transplant rejection develops in two different pathways: T cell mediated rejection (TCMR) and antibody mediated rejection (AMR). The diagnosis is rendered based on the Banff classification system. Various studies demonstrated the role of natural killer (NK) cells, part of the innate immune system, and macrophages in graft dysfunction and rejection pathogenesis. Electron microscopic examination poses an essential role in detecting early lesions, otherwise absent in light microscopy. Banff classification system recognizes the use of electron microscopy in determining early lesions of transplant glomerulopathy, such as *cgl*, and peritubular capillary basement membrane multilamellation (*ptcml*).

In this study, we aim to investigate the relationship between the density of CD163 expressing monocyte/macrophages and CD56 expressing NK cells in the inflammatory infiltration localised within the glomerular and peritubular capillary lumina in renal transplant biopsies diagnosed as AMR, and histological parameters and prognosis; and to evaluate electron microscopic glomerulitis, *cgl* and *ptcml* lesions and their correlations with histopathologic and prognostic data.

Materials and Methods: Intraluminal and interstitial inflammatory cell infiltration was investigated by immunohistochemistry for CD56/CD34 and CD163/CD34 dual markers in 161 renal transplant indication biopsies of 85 patients, diagnosed as AMR and/or TCMR at Istanbul Faculty of Medicine between 2013-2018. The presence and severity of glomerulitis, *cg*, *ptcml*, and related lesions were examined under electron microscopy and compared to histopathological and prognostic data. All biopsies were reevaluated and the lesion scores were updated according to the current 2019 Banff classification.

Results: Fifty-three (62.3%) patients were male and 32 (37.6%), female. Sixty-nine (80.2%) transplantations were from living donors, and 83% of biopsies were performed ≥ 12 months posttransplant. Follow-up time was 25 months (0-93) (median). Thirty-three patients showed graft loss (48,5%). Averages of Banff lesion scores ranged between 0.16 and 1.78. DSA was positive in 61.6% and PRA was positive in 60.7% patients. No rejection was detected in 31 (19.7%) biopsies. In 126 biopsies with a diagnoses of rejection, 56 (35.7%) was diagnosed as AMR/suspicious for AMR, 38 (24.2%) as TCMR, and 32 (20.4%) as mixed rejection.

CD163 immunohistochemical analysis was applied on 131 (18,6%) biopsies. Interstitial CD163 antibody positivity was evaluated as score 0 in 30 (22.9%) cases, score 1 in 58 (44.3%), score 2 in 29 (22.1%), and score 3 in 14 (10.7%). Lesion scores *i*, *ti*, *ct*, *ci*, and *t-*

IFTA were higher in biopsies with an interstitial CD163 positivity score ≥ 2 , compared to the group with score < 2 ($p < 0.05$). The number of CD163 positive cells in glomeruli was significantly different between no rejection and AMR groups, no rejection and mixed rejection groups, and AMR and TCMR groups ($p < 0.05$). The numbers of total and mesengial CD163 positive cells were higher in AMR and mixed rejection groups ($p < 0.001$). The number of CD163 positive intracapillary cells within peritubular capillary lumina per high-power field (HPF) and the maximum number of CD163 positive intraluminal cells were higher in acute AMR, compared to chronic AMR ($p < 0.05$). The numbers of total and mesengial CD163 positive cells in glomeruli were correlated with *g*, *ptc* and *cg* lesions ($\rho > 0,3$ and $p < 0.005$).

CD56 immunohistochemistry was applied on 117 biopsies. Sixteen (13.4%) biopsies showed interstitial positivity for CD56. Whereas biopsies with an *i* score ≥ 2 showed more CD56 positive cells in the interstitium, the group with *mm* score ≥ 1 showed lower CD56 positivity ($p < 0.05$). No relationship between CD163 immunohistochemistry results and the presence of interstitial CD56 positivity was found ($p > 0.05$).

Fifty-three biopsies (32.9%) of 33 patients were evaluated under electron microscopy. Glomerulitis was detected in 32 biopsies (71.1%), out of which, 26 also showed occlusion in capillary lumina. Endothelial swelling was detected in 29 (64.4%) biopsies, increased lucency of lamina rara interna in 35 (77.8%), subendothelial fluffy material in 21 (46.7%), loss of fenestration in 38 (84.4%), mesengial interposition in 22 (28.8%), ≥ 7 layers of multilamellation in ≥ 1 peritubular capillaries in 10 (22.2%), and ≥ 5 layers of multilamellation in ≥ 1 peritubular capillaries in 18 (40%). Banff lesion scores *g*, *cg*, *ptc* and CD163 positive glomerular cells showed significant correlation with electron microscopic findings ($p < 0.05$). The numbers of CD163 positive mesengial, intracapillary and total macrophages per glomerule and the number of CD163 positive macrophages within peritubular capillary lumina per HPF were significantly different within groups of Banff lesion scores *cg0*, *cg1a* and $\geq cg1b$ ($p < 0.05$). DSA scores were correlated with the number of layers in the most severely affected peritubular capillary and the *ptcml* score (ρ and p values, respectively: 0.658 and 0.010, 0.523 and 0.055).

Banff lesion scores *ah*, *mm* and *i* were higher in patients with graft loss ($p < 0.05$). Graft loss was higher in patients with an interstitial inflammation score 2-3 on CD163 immunohistochemical examination, compared to patients with a score of 0-1 ($p = 0.04$) (Odds ratio: 7.08 [1.68-29.76]).

Conclusion: To conclude, our study showed that rejection subcategories correspond to distinct histopathological groups and postulated a novel perspective for an alternative utility of the CD163 antibody. CD56 antibody positivity in tissues was lower than expected in rejection and this parameter may yield different results in other series. It was demonstrated that inflammatory reaction in all compartments may trigger a fibrotic response and result in graft loss. This should be considered in profit and loss balance in therapy decisions.



BÖLÜM II

I. GİRİŞ

Böbrek transplantasyonu, son dönem böbrek yetmezliği hastalarında önde gelen tedavi yöntemidir. İmmünsüpresif tedaviye rağmen hastaların yaklaşık %10'unda rejeksiyon görülmektedir. Hastaların klinik izleminde rejeksiyon şüphesi uyandıran durumların varlığında (serum kreatinin düzeyinde açıklanamayan yükselik, yeni başlayan veya artan proteinüri gibi) indikasyon biyopsileri uygulanır (1). Böbrek transplantı indikasyon biyopsilerinin histopatolojik değerlendirilmesi ışık mikroskopi, immünfloresan mikroskopi ve mümkünse elektron mikroskopi altında gerçekleştirilir. Rutin histokimya ve immünhistokimya yöntemlerinden de yararlanılır.

Rejeksiyon tanısında Banff sınıflandırma sistemi adı verilen bir derecelendirme sisteminden yararlanılmaktadır. Bu sınıflandırma sisteminde yer alan lezyonların bir kısmı aktivite, bir kısmı ise kronisite göstergesi olarak kullanılmaktadır. İnterstisyel inflamasyon, tubulit, intimal arterit, glomerülit ve peritubuler kapillarit aktif lezyonlar arasında sayılabilirken; interstisyel fibrozis, tubuler atrofi, mezengiyal matriks artışı, transplant glomerülopatisi ve peritubuler kapiller bazal membran multilamellasyonu kronik lezyonlar arasında yer alır (2). Banff sınıflaması bu lezyonların dağılımı, birliktelik ve şiddetine dayanan bir sınıflama olup rejeksiyon tanısında standardizasyon sağlamayı amaçlamaktadır (3).

Rejeksiyon, altta yatan patogenetik mekanizmaya göre T hücre aracılı rejeksiyon (THAR) ve antikor aracılı rejeksiyon (AAR) olarak ikiye ayrılır (4). İnterstisyel inflamasyon, tubulit ve intimal arterit gibi lezyonlar akut THAR için uyarıcı olurken, endotel hasarını yansıtan glomerülit ve peritubuler kapillarit gibi bulgular AAR'ye işaret etmektedir (5). Ancak lezyonların rejeksiyon tiplerine spesifik olmaması ve örtüşmesi nedeni ile ayırıcı tanıda güçlükler yaşanmaktadır.

Rejeksiyon araştırmalarında doğal ve kazanılmış immünite arasındaki ilişki önemli rol oynamaktadır. Doğal öldürücü (NK) hücreler ve makrofajlar doğal immünitinin önemli bir parçasıdır. Çeşitli çalışmalarda NK/T hücreleri ve makrofajların graft disfonksiyonu ve rejeksiyonda rolü olabileceği öne sürülmüştür, ancak bu konudaki araştırmalar sınırlıdır (6,7). NK hücreler ve NK/T hücreler CD56 ekspresyonu gösterirken, CD163 ekspresyonu monosit/makrofaj differansiasyonunun bir göstergesi olarak kullanılır (8). Bu çalışmamızda böbrek transplant biyopsilerinde, AAR olgularında glomerüler kapillerler ve peritubuler kapillerler lümenleri içinde yer alan inflamatuvar hücre infiltrasyonunda CD56 ve CD163+

hücre oranının/miktarının rejeksiyon, histolojik parametreler ve prognoz ile ilişkisini araştırmayı amaçladık. İnflamatuvar hücrelerin kapiller lümenler içi yerleşimini net olarak ortaya koymak amacıyla inflamatuvar hücre alt tip belirteçleri (CD56, CD163) yanısıra aynı kesitte endotel hücre belirtecinin (CD34) de uygulanabildiği dual boyanma yöntemi planladık.

Elektron mikroskopik inceleme ise henüz ışık mikroskopiye yansımayan erken lezyonların saptanmasında tanıda yardımcı bir yöntemdir. Banff sınıflaması 2013 güncellemesinde, transplant glomerülopatisi skorlamasında, elektron mikroskopik incelemenin erken lezyonların (*cg1a*) saptanmasındaki yeri tanımlanmıştır (9). Banff raporunun 2019 güncellemesinde ise rejeksiyon tanısında elektron mikroskopik incelemenin önemi daha çok vurgulanmış, raporlamada yer alması gerektiği belirtilmiştir (2). Kronik histomorfolojik lezyonlar arasında yer alan peritubuler kapiller bazal membran multilamellasyonu da elektron mikroskopi ile değerlendirilebilen başka bir lezyondur. Bu çalışmamızda ayrıca elektron mikroskopik incelemenin mümkün olduğu olgularda elektron mikroskopik olarak belirlenen glomerülit, erken transplant glomerülopatisi ve peritubuler kapiller bazal membran multilamellasyonu varlığını ve yoğunluğunu değerlendirmeyi ve bu verileri histopatolojik ve prognostik veriler ile karşılaştırmayı amaçladık. Rejeksiyon için tanımlanan mikroskopik lezyonların her iki rejeksiyon tipinde örtüşmesi nedeni ile THAR olguları da karşılaştırma grubu olarak çalışmaya dahil edildi.

Çalışmamızda amacımız 2013-2018 yılları arasında İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda AAR ve/veya THAR tanısı almış yaklaşık 161 olguda intraluminal ve interstisyel inflamatuvar hücre infiltrasyonunu immünohistokimyasal olarak CD56/CD34 ve CD163/CD34 dual belirteçleri ile araştırmak ve inflamatuvar hücre infiltrasyon ve yoğunluğunu histopatolojik ve prognostik verilerle karşılaştırmaktır. Ayrıca elektron mikroskopik incelemenin mümkün olduğu olgularda elektron mikroskopik olarak belirlenen transplant glomerülopatisi ve peritubuler kapiller bazal membran multilamellasyonu varlığını ve derecesini değerlendirerek bu verileri histopatolojik ve prognostik verilerle karşılaştırarak elde edilen sonuçlarla literatüre katkı sağlamaktır.

II. GENEL BİLGİLER

BÖBREK TRANSPLANTASYONU

A. Temel Bilgiler

Böbrek transplantasyonu son dönem böbrek hastalığında yaşam kalitesi ve sağ kalımı önemli ölçüde artıran maliyet etkin bir tedavi yöntemidir (10). Her yıl tüm Dünya’da binlerce böbrek transplantasyon operasyonu yapılmakta, buna karşın halen binlerce hasta donör beklemektedir (11). Genel sağ kalım mükemmel olmasına rağmen hastaların bir kısmında graft disfonksiyonu görülebilir ve tedavisi temel olarak transplant böbrek biyopsisi bulgularına dayanmaktadır (12). Bu biyopsilere sınırlı bir zaman içinde yanıt verilmesi gerekliliği ve tedavi seçeneklerinin etkin ve çeşitli olmasına rağmen tedavi başarısının tanı doğruluğuna dayanması patologlar için oldukça zorlayıcı olmaktadır (13).

B. Tarihçe

Tarihteki ilk böbrek transplantasyon demonstrasyonu Emerich Ullmann tarafından 7 Mart 1902’de gerçekleştirilmiştir (14). Ullmann bir köpeğin boyun bölgesine böbrek ototransplantasyonu gerçekleştirmiş ve cilde ağızlaştırdığı üreterden 5 gün boyunca idrar geldiğini göstermiştir (15). Aynı zamanlarda Alexis Carrel günümüzde de çokça kullanılan vasküler anastomoz tekniklerini geliştirmiş ve 1912 yılında Nobel ödülüne layık görülmüştür (16). Takip eden yıllarda domuz ve maymun gibi çeşitli hayvanlardan insanlara böbrek nakli denenmiş ancak klinik açıdan başarısızlıkla sonuçlanmıştır (13).

Yu Yu Voronoy 1936 yılında bir insandan ilk böbrek transplantasyonunu gerçekleştirmiş olup operasyon sonrası donör kaybedilmiş, hastada ise akut böbrek yetmezliği gelişmiştir. Bu nakil ABO uyumsuz olup (B’den O’ya) böbrek hiçbir zaman işlev göstermemiştir, ancak 2 gün sonra yapılan otopside damar anastomozlarının sağlam durumda olduğu görülmüştür (17).

David Hume, Charles Hufnagel ve Ernest Landsteiner 1945 yılında kadavradan insana ilk böbrek naklini gerçekleştirdiler. Canlıdan ilk böbrek nakli ise N. Oeconomus ve J. Hamburger tarafından 1952 yılında gerçekleştirildi. Bir anneden oğluna nakledilen böbrek immünsüpresyon olmadan 21 gün boyunca işlev gördü (18). Cerrahi tekniklerde ustalaşılması sonucunda tek yumurta ikizlerinden nakil yapılması fikri doğdu, böylece immünsüpresyon gerekmecekti. Bunun örneği olan ilk ameliyat 23 Aralık 1954’te David Hume, Joseph Murray ve Hartwell Harrison tarafından gerçekleştirildi ve hasta rekürren hastalık nedeniyle hayatını kaybedene kadar yeni böbreği ile 8 yıl boyunca yaşadı (19).

Böbrek naklinin klinikte yaygın bir tedavi yöntemi haline gelmesi ancak altta yatan immünolojik mekanizmalar aydınlatıldıktan ve rejeksiyonu engellemenin yöntemleri bulunduğundan sonra oldu. İlerleyen yıllarda immünsüpresif ajanlar keşfedildi ve böbrek naklinde kullanımları oldukça başarı kazandı (20, 21).

Böbrek graftları üzerine yazılmış olan patoloji literatür birikimi ise 1926'da Mayo Clinic'te Carl Williamson'un bir köpekteki allograft rejeksiyonunu fotoğraflaması ile başladı. Williamson biyopside belirgin "lenfositik infiltrasyon" ve "glomerülit" olduğunu belirterek graft kaybını "atipik glomerüler nefrit" ile ilişkilendirdi (22). Daha sonra, radyoişaretleme yöntemi ile bu hücrelerin alıcı kaynaklı olduğu belirlendi (23). Bir hastadan alınan ilk böbrek transplant biyopsi örneği ise 1952 yılında 21 gün boyunca işlev gören böbreğe aittir. Bu biyopsinin yıllar sonra tekrar değerlendirilmesi sonucunda kombine T hücre aracılı ve antikor aracılı rejeksiyon bulguları saptanmıştır (24).

C. Cerrahi Prosedür

Donör böbreği çoğunlukla sağ iliak fossaya yerleştirilir. Bu durumun teknik açıdan, gözlem ve biyopsi kolaylığı açısından avantajları vardır. Ana renal arter uç-uca anastomoz ile sağ hipogastrik artere bağlanır. Renal ven iliak vene "uç-yan" bağlanır. Üreter için iki alternatif teknik bulunur: Ya donör üreteri alıcının mesanesine ya da donör pelvisi alıcının üreterine anastomozlaştırılır (13).

D. Standart İmmünsüpresif Tedavi

Standart protokolde kalsinörin inhibitörleri (CNI) (siklosporin ve takrolimus) tedavinin bel kemiğini oluşturur ve sıklıkla kortikosteroidler ile (prednizolon veya prednizon) ve mikofenolat mofetil (MMF) veya azatiyoprin (AZA) ile kombine edilir (üçlü tedavi). Tüm bu ilaçların immünsüpresyon ile ilişkili potansiyel komplikasyonları bulunmaktadır, bir kısmı özellikle kalsinörin inhibitörleri nefrotoksisiteye de yol açar (13).

E. Böbrek Transplantasyonunda Klinik Seyir

Graft seyri hem graftın kaynağına (kadavra, canlı-akraba, canlı-akraba dışı) hem de donör ve alıcı arasındaki histokompatibiliteye bağlıdır (25). Son iki on yılda graft ve hasta sağ kalım eğrileri anlamlı ölçüde iyileşmiştir (26).

F. Böbrek Transplantasyonunda İmmünoloji

İmmünoloji alanında özellikle son 20 yıldaki gelişmeler transplant immünolojisindeki kavramların da açıklık kazanmasını sağlamıştır (27). Bağışıklık sisteminin Major

Histocompatibility Complex (MHC) olarak tanımlanan gen bölgesi organizmanın kendinden olan ve olmayanı ayırt edebilmesi için gerekli olan doku antijenlerini kodlar. Bu gen bölgesi ilk olarak farelerde tanımlanmış olup insanda 6. kromozomun kısa kolunda yerleşmiştir (28, 29). MHC moleküllerini kodlayan genler oldukça fazla sayıda olup pleomorfizm göstermektedir. Bu bölge lökositlerde Human Leukocyte Antigen (HLA) bölgesi olarak adlandırılır (27). Transplantasyon öncesinde çapraz karşılaştırma (“cross-match”) çalışmaları ile alıcı ve donöre ait anti-HLA antikorları taranarak olası immunolojik komplikasyonlar en aza indirgenmeye çalışılır.

G. Böbrek Transplantasyonunda Canlı ve Kadavra Donörler

İzograftlar: Tek yumurta ikizleri arasında gerçekleşir. İmmünolojik rejeksiyon görülmez ve immünsüpresyon gerekmez. İzograftlar sıklıkla orijinal hastalığın rekürrensi nedeniyle kaybedilir (13).

HLA-idantik graftlar: Kardeşler arasında gerçekleşir. Kromozom 6’da idantik majör histokompatibilite kompleks (MHC) genleri bulunur. Bu hastaların 5-yıllık sağ kalımları oldukça yüksektir. Akut THAR, nadiren AAR gelişir (30-33). Bu durum göstermektedir ki MHC dışı antijenler akut THAR gelişimini uyarır ancak kronik rejeksiyonda etkileri daha azdır.

HLA-haploidantik graftlar: Ebeveyn, çocuk ve kardeşler arasında gerçekleşir. Bir MHC lokusunu içeren ortak kromozom 6 bölgesi bulunur, ancak diğer MHC ve MHC dışı antijenler farklılık gösterir. Graft yarı ömrünün HLA idantik graftlardan çok daha düşük olması MHC’lerin kronik rejeksiyondaki immün yanıtındaki önemini göstermektedir (13).

Canlı akraba dışı donör: Tedavi başarısı haploidantik graftlar ile yaklaşık eşit olup MHC uyumsuzluğu özellikleri benzer olan kadavra donörlere oranla daha iyidir (13).

Kadavra donörler: Dünyada en sık kullanılan transplantasyon tipidir. HLA-A, HLA-B, HLA-DR uyumsuzluğu sıfır olduğu koşulda uzun dönem graft yarı ömrü canlı donörlerdekine eşittir (13).

H. Graft Sağ kalımını Etkileyen Faktörler

Kullanılan immünsüpresyonun tipi, transplante edilen böbreğin kaynağı, MHC uyum durumu ile akut rejeksiyon epizodları, presensitizasyon, post-transplant diyaliz ihtiyacı, donör ve alıcı yaş ve ırkı ve transplant merkezi de graft sağ kalımını etkilemektedir. Primer hastalık da rekürrens ve ekstrarenal komplikasyonlar nedeniyle graft sağ kalımını etkilemektedir (13).

BÖBREK ALLOGRAFT BİYOPSİSİ

A. Tanısal Değer

Graft disfonksiyonun nedenini belirlemek için böbrek allograft biyopsisi altın standarttır. Graft disfonksiyonu transplant sonrası erken dönemde hastaların %30'unda, ilk yıldan sonra ise hastaların %2-4'ünde gelişmektedir (12, 34). Akut rejeksiyon, akut tubuler nekroz, Polyoma virüs nefropatisi, trombotik mikroanjiyopati, orijinal hastalığın rekürrensi, siklosporin toksisitesi ve kronik rejeksiyon tanıları transplant biyopsi ile konabilir. Biyopsi sonuçları hastaların %36'sında (%27-46) klinik tanıyı, %59'unda tedaviyi değiştirir (13).

B. Yeterlilik

Önerilere göre transplante böbrek biyopsisinde 7 adet sklerotik olmayan glomerül ve 2 arter (2 veya daha fazla medial tabaka içeren) bulunmalıdır. Yeterliliği asıl belirleyen ise görülen lezyonların niteliğidir. Glomerül olmasa bile tek bir arterde endarterit görülmesi akut rejeksiyon tanısı için yeterli olabilir. Buna karşın 10 glomerül içeren ve minimal infiltrasyon bulunan geniş bir korteks alanı rejeksiyon tanısını dışlatmaz (35).

C. Böbrek Allograft Biyopsilerine Yaklaşım

Klasik olarak iki adet kor biyopsi elde edilir ve bu korlar büyük bölümü ışık mikroskopi amaçlı olmak üzere hem ışık mikroskopi ve hem immünfloresan mikroskopi için ayrılır. Nakil sonrası bir yıl ve daha fazla zaman geçen biyopsilerin büyük çoğunluğundan elektron mikroskopik inceleme için de örnek ayrılır. Elektron mikroskopik inceleme özellikle glomerüler hastalık ve kronik rejeksiyon şüphesinde faydalıdır (13).

Işık mikroskopik inceleme için ayrılan doku(lar) seri kesitler alınarak Hematoksilen Eozin, Masson Trikrom, periyodik asit şift (PAS), metanamin gümüş (Jones) histokimyasal boyaları ile incelenir (36). Elde edilen kesitler interstisyel hücre infiltrasyonunun natürü ve derecesi (aktive mononükleer hücreler, ödem, intrakapiller hücreler); arteriyel ve arteriyolar lezyonlar (endarterit, miyozit nekrozu, trombüs, nodüler hiyalen değişiklikler); tubuler hasar ve inflamasyon (tubulit), viral inklüzyon cisimleri ve glomerüler lezyonlar açısından değerlendirilir. Tüm biyopsiler immünhistokimyasal veya immünfloresan yöntem ile C4d ve immünfloresan yöntem ile IgG, IgA, IgM, C3, lambda, kappa, albümin ve fibrinojen antikorları ile incelenir (13). Ayrıca BK virüs ile çapraz reaktivite veren Simian virüs-40 (SV40) antikoruna ile immünhistokimyasal boyama yapılması önerilmektedir (36).

D. Banff Sınıflaması Kriterleri ve Lezyon Skorum Sistemi

Yıllar içinde çeşitli sınıflama sistemleri önerilmiş olup günümüzde en yaygın kullanılan sınıflama sistemi Banff sistemidir. Bu sınıflamanın temelleri Kanada'nın Banff kentinde atılmış olup rutin tanıda kullanılacak bir konsensüs oluşturulması amaçlanmıştır (3). İlk konsensüs toplantısı 1991 yılında gerçekleştirildiğinden beri Banff sınıflaması böbrek allograft biyopsilerinin raporlanmasında rol gösterici olmuştur. Banff sınıflaması kendi alanında ilk sınıflama örneği olup böbrek transplant biyopsi raporlamasında uluslararası konsensüs ihtiyacını karşılamış, klinik tanıyı yönlendirmiş, klinik ve bilimsel çalışmalar arasında anlamlı bir köprü görevi görmüştür (36).

Banff lezyonlarının skoruması öncelikle rejeksiyonda görülen tanısal özelliklere odaklanarak böbrek transplant biyopsilerinin farklı kompartmanlarındaki histopatolojik değişikliklerin varlığını ve derecesini değerlendirir. Banff lezyonlarının skorumları tek başına tanısal kategorilere karar vermek için yeterli değildir, tanıya giderken ek tanısal parametrelere (histopatolojik, moleküler, serolojik ve/veya klinik) ihtiyaç duyulur (36). Her bir kategoriye ait skorumların kombinasyonu ile akut ve kronik rejeksiyon ve bunların çeşitli alt kategorileri belirlenir (36).

Rejeksiyon kriterleri kesin olmayıp standart immünsüpresif tedavi altındaki hastalarda klinikopatolojik korelasyona dayanmaktadır. İlaçlar rejeksiyonun mikroskopik görünümünü modifiye edebilir. Örneğin siklosporin inflamatuvar infiltrasyonun ve ödemin şiddetini azaltır, steroidler ise eozinofilleri azaltır (13).

Akut/aktif lezyonlar interstisyel inflamasyon (*i*), tubulit (*t*), intimal arterit (*v*), glomerulit (*g*), peritubuler kapillarit (*ptc*), peritubuler kapillerlerde C4d boyanması (C4d) olarak sıralanabilir (2).

Kronik/sklerozan lezyonlar arasında ise interstisyel fibrozis (*ci*), tubuler atrofi (*ct*), mezengiyal matriks artışı (*mm*), arteriyal intimal fibrozis (*cv*), transplant glomerülopatisi (*cg*), peritubuler kapiller bazal membran multilamellasyonu (*ptcml*) ve arterioller hyalinizasyon (*ah*) bulunur (2).

Total inflamasyon (*ti*), i-İFTA ve t-İFTA lezyonları ise akut ve kronik lezyonlar olarak Banff 2019 sınıflamasında yer almaktadır (2).

Banff lezyon skorumlarına ait özellikler şu şekilde özetlenebilir:

D.1. İnterstisyel inflamasyon (*i*)

Skarlı olmayan korteks alanındaki inflamasyonun derecesini değerlendirilir. Mononükleer inflamatuvar hücrelerin %'si ile belirlenir.

D.2. Tubulit (*t*)

Kortikal tubulüslerdeki epitel hücrelerinin arasında izlenen inflamasyonun derecesini değerlendirir. Atrofik olmayan tubuluslarda, tubul kesiti başına (veya 10 tubulus epitel hücresi başına) düşen mononükleer inflamatuvar hücre sayısı belirlenir. Skoru en çok etkilenen tubulus belirler.

D.3. İntimal Arterit (*v*)

Arter intimasındaki inflamasyonun varlığını ve şiddetini (mononükleer inflamatuvar hücrelerin %'sini) değerlendirir. Endotelit/endarterit de denir. Tek bir hücre görülmesi yeterlidir. En şiddetli etkilenen arter skoru belirler.

D.4. Glomerülit (*g*)

Glomerüldeki inflamasyon derecesini değerlendirir. Glomerülit, peritubuler kapillarit ile birlikte bir mikrovasküler inflamasyon formudur. *g* skoru glomerülit bulgularının glomerüller içindeki oranı ile belirlenir. Glomerülit bir veya daha fazla glomerüler kapillerde lökosit infiltrasyonu ve endotelial hücre genişlemesi nedeniyle parsiyel veya komplet oklüzyon olarak tanımlanır. Lökositler polimorfonükleer ve mononükleer hücreleri kapsar. Oklüzyona hem endotel hücre genişlemesi hem de lökositler katkıda bulunmalıdır.

D.5. Peritubuler Kapillarit (*ptc*)

Peritübüler kapillerlerdeki inflamasyonun derecesini değerlendirir. *ptc*, glomerülit ile birlikte mikrovasküler inflamasyonun bir klomponentidir ve aktif veya kronik aktif antikor aracılı rejeksiyonun bir parçasıdır. *ptc* skorunu en şiddetli tutulan peritubuler kapiller belirler. Peritübüler kapillerler tanım gereği kortekste bulunur ve medulladaki eş değerleri vaza rekta'dır. *ptc*'nin yaygınlığı fokal (%10-50) veya diffüz (>%50) olarak belirtilmeli önerilir ancak bu nihayi skoru etkilemez.

D.6. C4d Boyanması

Peritubuler kapiller ve medüller vaza rekta endotelinde immünohistokimya veya immünoflöresan yöntem ile C4d boyanmasını değerlendirir. İnterstisyel fibrozis/tubuler atrofi (İFTA) alanları peritubuler kapillerlerde boyanma yoğunluğunu azaltır, ancak bu alanlar değerlendirme dışında değildir. Skorlama lineer ve sirküferansiyel boyanma görülen kapillerlerin oranı ile yapılır. İnfarkt alanlarında C4d değerlendirilmemelidir.

D.7. İnterstisyel Fibrozis (*ci*)

Korteksteki interstisyel fibrozisin yaygınlık derecesini değerlendirir. Normal kortekste de %5 oranında fibröz doku görülebildiğinden, bu oran *ci*0 kategorisinde değerlendirilmektedir.

D.8. Tubuler Atrofi (*ct*)

Kortikal tubuler atrofi alanlarının yüzdesini değerlendirir. Bu alanlar interstisyel fibrozis alanlarıyla yakından ilişkilidir. *ct* ve *ci* skorları tanısal açıdan spesifik olmayıp allograft işlevi ve prognozu ile korelasyon gösterir.

D.9. Vasküler Fibröz İntimal Kalınlaşma (*cv*)

En çok etkilenmiş olan arterde fibröz intimal kalınlaşmanın derecesini belirtir. Tüm arter lezyonlarının bir ortalaması değildir. En çok etkilenen arter lümenindeki oklüzyon temel alınır. Elastik liflerde bozulma, fibrotik intimada inflamatuvar hücreler, intimada miyofibroblastik proliferasyon ve köpüksü hücreler, neointima oluşumu gözlenebilir.

D.10. Glomerüler Bazal Membranında Çift Kontür (*cg*)

En şiddetli etkilenen glomerüldeki glomerül bazal membranlarında çift kontör veya multilamellasyon varlığı ve bu kapillerlerin oranını değerlendirir. Skorlama PAS veya gümüş boyama ile yapılmalıdır. *cg1a* kategorisine karar verilebilmesi için elektron mikroskopi ile *cg0* lezyon dışlanmalıdır. *cg>0* ise (*cg1a* ve *1b* dahil) diğer nedenler dışlandığında transplant glomerülopatisi tanısı konabilir. *cg* skoru iskemik veya segmental sklerozlu glomerüllerde değerlendirilmemelidir.

En erken transplant glomerülopatisi lezyonunu (*cg1a*) tanıyabilmek için elektron mikroskopik incelemeye ihtiyaç vardır. Bu lezyonları yakalayabilmek için uygun merkezlerde sensitize olan tüm hastalardan, posttransplant herhangi bir zamanda donör spesifik antikor (DSA) saptanan, AAR bulguları içeren eski biyopsisi olan tüm hastalardan elektron mikroskopisi için örnek alınması önerilmektedir. Ayrıca posttransplant 6. aydan sonra yapılan tüm biyopsilere ve posttransplant 3. aydan sonra yapılan tüm indikasyon biyopsilerinde elektron mikroskopik inceleme için örnek alınması önerilmektedir (2).

D.11. Mezengiyal Matrikste Genişleme (*mm*)

En az orta derecede mezengiyal matriks artışı gösteren glomerüllerin tüm nonsklerotik glomerüllere oranını değerlendirir. Banff 1997'ye göre orta derecede mezengiyal matriks artışı en az iki glomerüler lobülde, mezengiyal aralıktaki matriksin iki mezengiyal hücre genişliğini geçecek şekilde genişlemesi olarak tanımlanmıştır ve güncel Banff sınıflamasında da aynı kriterler ile deskriptif bir lezyon olarak tanımlanmaktadır.

D.12. Arteriolar Hyalinozis (*ah*)

Arterioller hyalinozisin derecesini değerlendirir. Arteriyolde fokal veya çepeçevre hyalin varlığını gösterir. *ah* skoru tanısal bir kategoriye yönlendirmez, deskriptif bir skordur.

D.13. Total İnflamasyon (*ti*)

Kortekste izlenen total inflamasyonun derecesini değerlendirir. Hem fibrotik hem de fibrotik olmayan tüm korteks alanlarındaki mononükleer inflamatuvar hücreler dikkate alınır. Kronik aktif THAR Grad IA veya IB tanısı konması için *ti* ve *i-İFTA* skorları en az 2 olmalıdır.

D.14. İFTA alanında inflamasyon (*i-İFTA*)

Skarlı kortekste (*ci* ve *ct* skoruna denk gelen) inflamasyonun derecesini değerlendirir. Bu skor ilk kez 2015 yılında sınıflamaya dahil edilmiştir.

D.15. İFTA alanında tubulit (*i-İFTA*)

Skarlı kortekste (*ci* ve *ct* skoruna denk gelen) tubulitin derecesini değerlendirir.

Banff lezyon skorlarına ait değerlendirmenin detayları Tablo 1’de özetlenmiştir:

Tablo 1. Banff lezyon skoru değerlendirilmesi

Banff Lezyon Skoru	Kısaltma	0	1	2	3
İnterstisyel inflamasyon	<i>i</i>	<%10	%10-25	%26-50	>%50
Tubulit	<i>t</i>	Yok	Tubul kesiti veya 10 tubul epitel hücresi başına 1-4 hücre	Tubul kesiti veya 10 tubul epitel hücresi başına 5-10 hücre	Tubul kesiti veya 10 tubul epitel hücresi başına >10 hücre veya başka alanda ≥ 2 ve t2’ye eşlik eden bazal membran destrüksiyonu
İntimal arterit	<i>v</i>	Yok	Lümenin <%25’inde kayıp	Lümenin $\geq$ %25’inde kayıp	Transmural ve/veya fibrinoid değişiklik ve mediyada düz kas nekrozu
Glomerülit	<i>g</i>	Yok	<%25 glomerülde mevcut	%25-75 glomerülde mevcut	>%75 glomerülde mevcut
Peritubuler kapillarit	<i>ptc</i>	Peritubuler kapiller başına <3 lökosit	Peritubuler kapiller başına en fazla 3-4 adet olmak üzere kapillerlerin $\geq$ %10’unda ≥ 1 lökosit	Peritubuler kapiller başına en fazla 5-10 adet olmak üzere kapillerlerin $\geq$ %10’unda ≥ 1 lökosit	Peritubuler kapiller başına >10 adet olmak üzere kapillerlerin $\geq$ %10’unda ≥ 1 lökosit
C4d	<i>C4d</i>	Yok	<%10	%10-50	>%50
İnterstisyel fibrozis	<i>ci</i>	$\leq$ %5	%6-25	%26-50	>%50
Tubuler atrofi	<i>ct</i>	Yok	$\leq$ %25	%26-50	>%50
Vasküler fibröz intimal kalınlaşma	<i>cv</i>	Yok	Lümende $\leq$ %25 daralma oluşturan	Lümende %26-50 daralma oluşturan	Lümende >%50 daralma oluşturan
Glomerül bazal membranda çift kontör	<i>cg</i>	Yok	1a: Yalnızca EM’de var 1b: Işık mikroskopide kapiller loopların $\leq$ %25’inde çift	Kapillerlerin %26-50’sinde çift kontür	Kapillerlerin >%50’sinde çift kontür

			kontür		
Mezengiyal matrikste genişleme	<i>mm</i>	Yok veya hafif mezengiyal genişleme	Glomerüllerin $\leq$ %25'inde orta derecede	Glomerüllerin %26-50'inde orta derecede	Glomerüllerin $>$ %50'inde orta derecede
Arterioller hyalinizasyon	<i>ah</i>	Yok	$\geq$ 1 arteriyolde hafif-orta	$>$ 1 arteriyolde orta-ağır	Çok sayıda arteriyolde ağır
Total inflamasyon	<i>ti</i>	$<$ %10	%10-25	%26-50	$>$ %50
İnterstisyel fibrozis/Tubuler atrofi (İFTA) alanında inflamasyon	<i>i-İFTA</i>	$<$ %10	%10-25	%26-50	$>$ %50
İnterstisyel fibrozis/Tubuler atrofi (İFTA) alanında tubulit	<i>t-İFTA</i>	Yok	Tubul kesiti veya 10 tubul epitel hücresi başına 1-4 hücre	Tubul kesiti veya 10 tubul epitel hücresi başına 5-10 hücre	Tubul kesiti veya 10 tubul epitel hücresi başına $>$ 10 hücre

E. Rejeksiyon

Rejeksiyon T hücre aracılı ve antikör aracılı olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Banff sınıflamasına göre her iki rejeksiyon tipi için kullanılması önerilen algoritmalar Tablo 2'de gösterilmektedir. Rejeksiyon tanısında yukarıda tanımları verilen Banff lezyon skorları bir alt tip için spesifik olmayıp klinik ve laboratuvar bulgular ile birlikte değerlendirilmelidir.

E.1 T Hücre Aracılı Rejeksiyon

Akut rejeksiyon allograft ömrünün herhangi bir döneminde gelişebilir. Banff sınıflamasına göre akut THAR tanısı interstisyel inflamasyon, tubulit ve intimal arterit lezyonlarına dayanmaktadır (9).

Kortikal parankimin %25'inden azını tutan hafif, fokal interstisyel inflamasyon varlığında "borderline değişiklikler" (akut rejeksiyon şüphesi) kategorisi kullanılır. İntimal arterit yoktur veya nadir hafif tubulit odakları vardır. Ayırıcı tanıda interstisyel inflamasyonun bakteriyel ve viral enfeksiyonlar veya hipersensitivite reaksiyonu gibi nonimmunolojik nedenleri dışlanmalıdır (5).

Tip I veya akut interstisyel hücresel rejeksiyon ödem ve interstisyumda inflamatuvar hücre infiltrasyonu ile karakterizedir. Tip IA'da parankimin %25'inden azı etkilenmiş olup orta derecede tubulit karakteristik bir bulgudur. Tip IB'de parankimin %25'inden fazlası etkilenmiş olup çok sayıda şiddetli tubulit odağı bulunur. Sıklıkla tedaviye yanıt iyidir (9).

Tip II akut rejeksiyon herhangi bir derecede interstisyel hücresel rejeksiyona ek olarak hafif veya orta derecede intimal arterit ile karakterizedir. İntimal arterit endotelde şişme, intimada kalınlaşma, subendotelyal alanda inflamatuvar hücreler ile tanımlanır. İntimal arterit lezyonu lümenin %25'inden fazla bir alanı kapladığında Tip IIB olarak tanımlanır (9).

Banff Tip III akut rejeksiyon grubu şiddetli akut vasküler rejeksiyonu kapsar. Sıklıkla peritubuler kapillerlerde C4d pozitivitesi görülür ve antikor-aracılı bir komponent içerir. Şiddetli intimal arterit ve transmural arterit görülür. Hücresel infiltrasyonda mononükleer ve polimorfonükleer hücreler bulunur. Vasküler hasar ile ilişkili fokal infarkt ve interstisyel kanama alanları görülebilir (9).

Kronik T hücre aracılı rejeksiyonda ise “kronik allograft arteriyopati” olarak adlandırılan, arter kesitinde intimada fibrozis içerisinde mononükleer hücrelerin varlığı ve neo-intima formasyonu ile karakterli bir lezyon görülür. Kronik AAR’de de benzer damar lezyonları izlenebileceği göz önüne alınmalıdır (13).

E.2 Antikor Aracılı Rejeksiyon

Antikor aracılı rejeksiyon ise klinikte donör spesifik antikorların varlığı ile yakın ilişkili bir kategoridir. Antikorların damar endotellerinde oluşturduğu doku hasarının gösterilmesi ile tanı konur. Endotel hasarının temel göstergeleri glomerülit ve peritubuler kapillarit gibi mikrovasküler inflamasyon bulguları ile endotelde C4d ekspresyonudur (37).

Akut AAR’de glomerüler kapillerler ve peritubuler kapillerleri tutan mikrovasküler inflamasyon bulguları görülür. İnfarkt ve tubuler nekroza bağlı vasküler tromboz olabilir. Peritubuler kapillerlerde belirgin lökosit infiltrasyonu görülür (13). Morfolojik olarak üç temel kriter bulunur: Akut böbrek doku hasarı (tubuler hasar dahil), peritubuler kapillerlerde inflamatuvar hücreler, vasküler nekroz. İmmünolojik kanıt ise peritubuler kapiller endotelinin en az %10’unda lineer C4d boyanması veya anti-donör spesifik antikorların tespit edilmesidir. AAR sıklıkla Tip I ve Tip II T hücre aracılı rejeksiyona eşlik edebilir (13).

Kronik AAR’nin tipik glomerül lezyonu transplant glomerülopatisidir. Glomerüllerde lobüler yapılanma, mesengiyal matriks artışı, mezengiyal interpozisyon, bazal membranda düzensiz kalınlaşma ve çift kontür gözlenir. Elektron mikroskopik incelemede endotel hücrelerinin bazal membrandan ayrılıp subendotelyal aralıkta granüler materyal birikimi gözlenebilir. Peritubuler kapiller bazal membranında sıklıkla ≥ 7 tabaka halinde multilamellasyon gözlenir. Olası mekanizmalar donör spesifik veya vasküler endotel antijenlerine karşı gelişen humoral immünitedir (13).

Antikor aracılı rejeksiyon tanısı için morfolojik bulgular yanısıra dokuda antikor aracılı hasar bulgularının gösterilmesi ve klinikte donör spesifik antikorların bulunması gerekmektedir. Bu kriterlerden birinin yokluğunda olgu antikor aracılı rejeksiyon açısından kuşkulu olarak tanımlanmalıdır. C4d negatif ve DSA pozitif olgularda toplam $g+ptc \geq 2$ skor varlığı endotel ve antikor aracılı hasarın göstergesi olarak kabul edilir (9). Morfolojik olarak

AAR ile uyumlu ancak DSA negatif veya belirsiz olgularda C4d'nin fokal veya pozitif bulunması AAR tanısı için yeterlidir (38, 39).

Banff tanı kategorilerine ilişkin detaylı veriler Tablo 2'de gösterilmiştir:

Tablo 2. Banff sınıflamasına göre rejeksiyon tanı kategorileri

1. Normal biyopsi / non-spesifik değişiklikler
2. Antikor aracılı değişiklikler - Aktif rejeksiyon morfolojik bulguları olmaksızın C4d birikimi - Aktif antikor aracılı rejeksiyon - Morfoloji: - Akut tubuler nekroz benzeri minimal inflamasyon - Kapiller ve/veya glomerüler inflamasyon (ptc/g>0) ve/veya tromboz - Arteriyal (v1-3) - Endotel-antikor hasar göstergeleri: - C4d pozitifliği - g+ptc ≥ 2 - Artmış gen ekspresyonu - Donör spesifik antikorların varlığı - Kronik aktif antikor aracılı rejeksiyon - Morfoloji: - Transplant glomerülopatisi - Şiddetli peritubuler kapiller bazal membran multilamellasyonu - Yeni ortaya çıkan fibröz intimal kalınlaşma - Endotel-antikor hasar göstergeleri (aktif AAR ile aynı) - Donör spesifik antikorların varlığı - Kronik (inaktif) antikor aracılı rejeksiyon - Transplant glomerülopatisi ve/veya şiddetli peritubuler kapiller bazal membran multilamellasyonu - Endotel-antikor hasar göstergelerinin yokluğu - Daha önce aktif/kronik aktif AAR tanısının bulunması ve/veya DSA pozitifliği
3. Borderline değişiklikler (Akut T hücre aracılı rejeksiyon kuşkusu)
4. T hücre aracılı rejeksiyon - Akut T hücre aracılı rejeksiyon - Grad IA: Anlamlı interstisyel inflamasyona eşlik eden orta dereceli tubulit - Grad IB: Anlamlı interstisyel inflamasyona eşlik eden şiddetli tubulit - Grad IIA: Hafif-orta dereceli intimal arterit - Grad IIB: Orta dereceli intimal arterit - Grad III: Transmural arterit ve/veya lenfositik inflamasyon içeren fibrinoid nekroz - Kronik aktif T hücre aracılı rejeksiyon - Grad IA: Anlamlı total inflamasyon ve fibrotik kortekste inflamasyona eşlik eden, hafif-orta atrofik tubuluslarda orta dereceli tubulit - Grad IB: Anlamlı total inflamasyon ve fibrotik kortekste inflamasyona eşlik eden, hafif-orta atrofik tubuluslarda şiddetli tubulit Grad II: Kronik allograft arteriyopati
5. Polyomavirus nefropatisi
6. Diğer

Kısaltmalar: g, glomerülit; ptc, peritubuler kapillarit; AAR, antikor aracılı rejeksiyon; DSA, donör spesifik antikor

F. Araştırmada Kullanılan Belirleyiciler İle İlgili Genel Bilgiler

F.1. CD34

İnsan hematopoetik progenitör hücre antijeni olarak da bilinir. CD34 110-kD ağırlığında bir protein olup hematopoetik sistemdeki embryonik hücreler, lenfoid ve miyeloid elemanlar ve endotel hücreleri tarafından eksprese edilir (8). Rutin pratikte sıklıkla vasküler diferansiyasyon belirteci olarak kullanılır. Endotel diferansiyasyonunu göstermesi açısından oldukça sensitif bir belirteçtir ve damar endotellerinde eksprese edilir (40).

F.2. CD163

CD163 175kD ağırlığında bir hücre yüzey glikoproteini olup “scavenger reseptör protein” ailesinin bir üyesidir. Yumuşak dokuda yer alan makrofajların büyük çoğunluğu tarafından eksprese edilir ve monosit-makrofaj kökenli lezyonlarda, monositik diferansiyasyon gösteren akut lösemilerde eksprese edilir. İmmatür monositler, alveoler makrofajlar ve mikrogial hücreler tarafından eksprese edilmez (8).

F.3. CD56

CD56 nöral hücre adezyon molekülü olarak da bilinir ve NK hücreleri, glial ve nöronal hücreler gibi çeşitli dokuların yüzeylerinde eksprese edilir (8).

G.Böbrek Transplantasyonu Rejeksiyon Tanısında İmmünohistokimyasal İncelemenin Yeri

Literatürde AAR olgularında inflamatuvar infiltrasyon oluşturan hücrelerin alt tipleri güncel bir araştırma konusudur. Çeşitli yayınlarda rejeksiyon patogenezinde infiltrasyon oluşturan T hücre, B hücre ve makrofaj alt tipleri, immünohistokimyasal yöntemler ile araştırılmıştır (41-45). Bu araştırmaların sonucunda CD163 pozitif makrofajların *i*, *t* ve *ptc* gibi Banff lezyonları ile ilişkili olduğu (41), kronik aktif AAR olgularında interstisyel CD163 pozitif inflamatuvar hücre infiltrasyonunun graft sağkalımı ile ters yönde ilişkili olduğu gösterilmiştir (42). Benzer şekilde CD56 ekspresyonu gösteren NK hücrelerinin de AAR patogenezi ve graft kaybında merkezi rol oynadığını gösteren çalışmalar mevcuttur. AAR olgularında THAR ve rejeksiyon dışı tanı gruplarına anlamlı oranda yüksek NK hücresi bulunduğu (46) ve bu infiltrasyonun graft kaybının prediktörü olduğu gösterilmiştir (41, 44). Ayrıca allograft rejeksiyonu bulunan biyopsilerde, stabil graft fonksiyonu gösteren biyopsilere oranla daha yüksek CD56 pozitif NK hücreleri olduğu gösterilmiştir (43).

H. Böbrek Allograft Biyopsi Değerlendirmesinde Elektron Mikroskopinin Yeri

Transplant böbrek biyopsilerinde elektron mikroskopik inceleme nüks veya de novo bir glomerülo nefritin tanısında yardımcı olabileceği gibi transplant glomerülopatisine ait çeşitli

bulguları da gösterebilir (47). Transplant glomerülopatisi gelişiminde erken dönemde endotel hücrelerinde vakuolizasyon, hipertrofi, serrasyon, lamina rara internada genişleme gibi endotel aktivasyon bulguları geliştiği bildirilmiştir. Benzer şekilde hücre içinde mitokondri, Golgi cisimciği ve ribozomda artış olduğu gösterilmiştir (48). Transplant glomerülopati graft disfonksiyonu, kısalmış graft sağ kalımı ve hipertansiyon gelişimi ile ilişkili özel bir tablodur (49). Çeşitli çalışmalarda transplant glomerülopatisinin ultrastrüktürel bulguları olarak glomerül bazal membranında duplikasyon, mezengiyal hücrelerde interpozisyon, subendotelyal genişleme, mezengiyal matriks artışı, peritubuler kapiller bazal membranlarında multilamellasyon ortaya konmuştur (50-56). Literatür serilerinde ayrıca dolaşımdaki anti-HLA donör antikorları ile peritubuler kapiller endotelinde C4d birikimi ve glomerülde aktive T hücre infiltrasyonu arasında ilişki gösterilmiştir (51, 57, 58).

Banff sınıflaması 2019 yılı güncellemesinde de transplant glomerülopatisi ve peritubuler kapiller bazal membran multilamellasyonu lezyonları elektron mikroskopik değerlendirme kriterleri açısından daha detaylı olarak yeniden tanımlanmış, detaylı raporlama ile ilgili öneriler güncellenmiştir (2).

BÖLÜM III

GEREÇ VE YÖNTEM

I. Çalışma Olgularının Belirlenmesi ve Hazırlanması

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda bilgisayar ortamında oluşturulan arşiv kayıtlarındaki raporlar incelenerek, 2013-2017 yılları arasında transplante böbrek iğne biyopsi materyallerinde antikor aracılı rejeksiyon tanısı almış hasta kayıtlarına ulaşıldı.

Bu kayıtlar incelenerek araştırmamızda yer alabilecek 76 adet antikor aracılı rejeksiyon olgusu belirlendi. Kontrol grubu olarak 61 adet T hücre aracılı rejeksiyon tanısı almış olgu seçildi. Tespit edilen olgulara ait arşiv materyalini oluşturan tüm Hematoksilen-Eozin (HE) boyalı preparatlar tekrar incelenerek güncel Banff sınıflaması kriterlerine göre lezyonlar ve tanımlar revize edildi.

Bu preparatlardan immünohistokimyasal inceleme için uygun dokular belirlendi. Bu dokulara ait Hollande solüsyonu ile fikse edilmiş olan parafin bloklara Anabilim Dalı'mızın arşivinden ulaşıldı.

Bu olgulardan elektron mikroskopik inceleme için örnek ayrılmış olan, 34 hastaya ait 54 biyopsinin Epon blok ve gridlerine fakültemiz Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı arşivinden ulaşıldı. İhtiyaç duyulan olgularda yeni kesitlerle yeni gridler elde edildi ve tüm olgular transmisyon elektron mikroskopisinde yeniden değerlendirilerek fotoğraflandı.

Banff lezyonlarından *cgl1a*, *ti*, *i-İFTA* ve *t-İFTA* verileri başta olmak üzere lezyon skorları güncellendi. *cgl1a* için Banff sınıflaması 2019 kriterlerine göre elektron mikroskopik bulgular birlikteliğinde değerlendirme yapıldı. *ptcml* lezyonu için Banff 2013'te tanımlanan kriterlere göre 0-3 skorlaması kullanıldı.

Tüm olguların İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ve Çocuk Hastalıkları Anabilim Dalı Nefroloji Bölümleri ile Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Hastalıkları Anabilim Dalı Nefroloji Bölümü'ndeki klinik arşiv kayıtlarına ulaşıldı. Dosyası bulunamayan veya uzun süredir muayeneye gelmediği belirlenen hastalara telefon edilerek ulaşılmaya çalışıldı. Hastaların transplantasyon sonrası takipleri, doku uyumları, rejeksiyon tanımları, tedavileri ve sağ kalımlarıyla ilgili bilgiler elde edildi.

II. Dual İmmünohistokimyasal Yöntem

İmmünohistokimyasal değerlendirmenin sağlıklı yapılabilmesi için öncelikle kontrol blokları belirlendi. CD34/CD163 dual immünohistokimyasal incelemesi için histiyositlerden

zengin olan ve çok sayıda damar içeren Hollande fikse normal dalak dokusu, CD34/CD56 için küçük hücreli akciğer karsinom dokusu seçildi. Bu kontrol blokları kullanılarak antikorlar için ideal yöntem, dilüsyon ve inkübasyon süreleri belirlendi.

Çalışma grubumuza ait belirlenen parafin bloklardan immünohistokimyasal inceleme için ikişer adet lama 3 µm kalınlığında, en az 2 kesit hazırlandı.

İmmünohistokimyasal yöntemde kullanılacak olan kesitler ticari olarak temin edilen pozitif şarjlı lamlara alındı. Bu preparatlar 56°C etüvde bir gece boyunca bekletilerek kurutuldu ve kesitlerin bu şekilde yapışması sağlandı. Preparatlar immünohistokimyasal yöntemin uygulanacağı güne kadar üstü kapalı olarak oda sıcaklığında bekletildi.

Bir gece etüvde bekletilen lamlar Ventana Medical System-Benchmark XT IHC/ISH Staining modüle yerleştirildi ve aşağıdaki prosedürler uygulandı:

II.A. CD34/CD163 ile immünohistokimyasal boyama

1. EDTA ile pH 8'de (CC1) antijen geri kazanım yöntemi (98 dakika)
2. 37 derecede primer antikor CD163 inkübasyonu (32 dakika)
3. DAB kromojen uygulaması (8 dakika)
4. 37 derecede primer antikor CD34 inkübasyonu (16 dakika)
5. APRed kromojen uygulaması
6. Distile su ile yıkama
7. Hematoksilen ile zıt boyama

II.B. CD34/CD56 ile immünohistokimyasal boyama

1. EDTA ile pH 8'de (CC1) antijen geri kazanımı yöntemi (98 dakika)
2. 37 derecede primer antikor CD56 inkübasyonu (60 dakika)
3. DAB kromojen uygulaması (8 dakika)
4. 37 derecede primer antikor CD34 inkübasyonu (32 dakika)
5. APRed kromojen uygulaması
6. Distile su ile yıkama
7. Hematoksilen ile zıt boyama

Makineden çıkarılan preparatlar oda sıcaklığında kurutulup 30 saniye boyunca ksilende bekletildikten sonra 'DPX mount' kapatma maddesi ile kapatıldı.

Kullanılan immünohistokimyasal belirteçlere ait özellikler Tablo 3'te gösterilmektedir.

Tablo 3. Çalışmada kullanılan immünohistokimyasal belirteçlere ait bilgiler

Kullanıma Hazır Antikor	Üretici
CD34 – Monoclonal Mouse Antibody (QBEnd 10)	Dako
CD163 – Monoclonal Antibody (10D6)	Leica
D56 – Monoclonal Mouse Antibody (123C3)	Dako

III. Dual İmmünohistokimyasal Değerlendirme

İnflamatuvar hücrelerde CD163 ile kahverenkte (DAB kromojen) sitoplazmik boyanma ve CD56 ile kahverenkte (DAB kromojen) membranöz boyanma, peritubuler kapiller endotelinde CD34 ile kırmızı renkte (APRed kromojen) membranöz boyanma pozitif reaksiyon olarak kabul edildi.

III.A. CD34/163

Biyopsilerde interstisyel inflamasyon alanlarında yer alan CD163 pozitif hücre sayıları semikantitatif olarak değerlendirildi. CD163 pozitif hücrelerin interstisyumdaki yoğunluğu 0-3 üzerinden skorlandı. Boyanan hücre bulunmayan biyopsiler skor 0, boyanan hücrelerin serpinti halinde bulunduğu biyopsiler skor 1, küçük büyütmeden çok net ayırt edilebilen ve yer yer gruplaşan pozitif hücrelerin bulunduğu olgular skor 2 ve aşırı yoğunlaşan/kümeleşen pozitif hücrelerin dokuda diffüz olarak bulunduğu hücreler skor 3 olarak adlandırıldı. Tüm glomerüllerde hem mezengiyal alanda hem de kapiller lümenlerde mevcut olan CD163 pozitif hücre sayıları belirlendi. Bir kapiller lümende mevcut maksimum CD163 pozitif hücre sayısı da ayrıca değerlendirildi. Peritubuler kapillerlerde mevcut toplam CD163 pozitif hücre sayıları ve bir peritubuler kapillerde mevcut maksimum CD163 pozitif hücre sayıları değerlendirildi. Peritubuler kapiller başına ortalama CD163 pozitif hücre sayısını belirlemek için ayrıca her biyopsideki büyük büyütme alanı (BBA) sayıldı ve toplam peritubuler kapiller lümen içi sayısı toplam BBA alanına bölünerek ortalamalar belirlendi.

III.B. CD34/56

Biyopsilerde interstisyel inflamasyon alanlarında yer alan CD56 pozitif hücre sayıları değerlendirildi. Tüm glomerüllerde mezengiyal alanda veya kapiller lümenlerde mevcut olan CD56 pozitif hücre sayıları belirlendi. Peritubuler kapillerlerde mevcut toplam CD56 pozitif hücre sayıları ve bir peritubuler kapillerde mevcut maksimum CD56 pozitif hücre sayıları değerlendirildi. Peritubuler kapiller başına ortalama CD56 pozitif hücre sayısını belirlemek

için ayrıca her biyopsideki büyük büyütme alanı (BBA) sayıldı ve toplam peritubuler kapiller lümen içi sayısı toplam BBA alanına bölünerek ortalamalar belirlendi.

IV. Elektron Mikroskopik Yöntem

Elektron mikroskopik inceleme için örnek alınmış olguların İstanbul Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı arşivindeki hazır gridleri JEOL 1011 transmisyon elektron mikroskopu ile yeniden değerlendirildi.

Bu değerlendirmede kesitte mevcut olan bir-iki glomerülün tamamı x5000 büyütme ile fotoğraflandı. Glomerül çevresinden başlayarak periferde doğru mevcut olan peritubuler kapillerler araştırıldı. Bu kapillerler önce x5000’lik büyütme ile sonrasında x10000’lik büyütme ile fotoğraflandı. Sklerotik glomerüller mevcut literatüre benzer şekilde değerlendirme dışı bırakıldı (48). Her biyopsi için en fazla 10 adet peritubuler kapiller fotoğraflandı ve longitudinal kesilmiş olan kapillerler literatür önerisine göre değerlendirme dışı bırakıldı (9). Tüm fotoğraflar “jpg” formatı ile kaydedildi.

Arşiv kesitleri parçalanmış veya boya kalitesi ve diğer nedenlerle değerlendirmeye uygun olmayan ve peritubuler kapiller görüntülenemeyen biyopsilere ait epon gömülü bloklardan Reichert Om U3 ultramikrotomu ile 80 nanometre kalınlığında ince kesitler 3.05 mm çapındaki bakır gridler üzerine alınarak uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyandı ve elektron mikroskopunda değerlendirildi.

Elde edilen fotoğraflarda glomerüllerde ve peritubuler kapillerlerde değerlendirilen parametreler ve skrolama sistemi aşağıdaki tablodadır (Tablo 4).

Tablo 4. Biyopsilerin elektron mikroskopik incelemesinde değerlendirilen parametreler

Glomerüle ait parametreler	Skrolama Sistemi
Glomerülit (kapiller lümenlerinde inflamatuvar hücre varlığı)	var/yok
Glomerül kapiller lümenlerinde oklüzyon*	var/yok
Mevcut kapiller sayısı	toplam sayı
Transplant glomerülopatisi	var/yok
Glomerül bazal membranında duplikasyon	var/yok
Duplikasyon gösteren kapiller sayısı	Toplam sayı
Endotel hücrelerinde ödem	var/yok
Lamina rara internada lusensi artışı	var/yok
Subendotelyal kabarık tüyümsü materyal varlığı	var/yok
Endotelde fenestrasyon kaybı	var/yok
Mezengiyal hücre interpozisyonu	var/yok

Peritubuler kapillere ait parametreler	Skorlama Sistemi
Peritubuler kapillerit (kapiller lümenlerinde inflamatuvar hücre varlığı)	var/yok
Peritubuler kapiller bazal membranında multilamellasyon	maksimum tabaka sayısı
Multilamellasyonun peritubuler kapillerin çevresinde kapladığı oran	skor 1: < %25 skor 2: %25-49 skor 3: %50-74 skor 4: < %75

*Oklüzyon tanımı: Glomerül kapillerinin endotel hücresinin şişmesi ve lümende izlenen inflamatuvar hücreler nedeni ile lümen genişliğinin %25 ve altına düşmesi

V. Biyoistatistiksel Analiz

Çalışmanın biyoistatistiksel çözümlemelerinde Statistical Package for Sociel Sciences (SPSS, Sürüm: 21.0) paket programı kullanıldı. Gruplar arası dağılım farkları uygunluğuna göre Ki-kare testleri ve Fisher exact test ile incelendi. Işık ve elektron mikroskopik bulgular ve immünhistokimyasal belirleyicilerin birbirleri ile ilişkisi Spearman korelasyon testi ile değerlendirildi. Elde edilen sonuçlar rho değerine göre 0,00-0,25 çok zayıf derecede korelasyon, 0,26-0,49 zayıf derecede korelasyon, 0,50-0,69 orta derecede korelasyon, 0,70-0,89 yüksek derecede korelasyon, 0,90-1,00 çok yüksek derecede korelasyon olarak sınıflandırılmıştır. Gruplar arasında sayısal verilerin karşılaştırılmasında uygunluklarına göre Mann Whitney U testi veya Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Çalışmamızda primer sonlanım noktası graft kaybı olarak belirlendi. Graft kaybı diyalize dönmek veya fonksiyone graft ile ölüm olarak tanımlandı. Biyopsi sonrası takibi en az 3 ay olan veya 3 aydan kısa süre takip olduğu halde bu süre içerisinde graft kaybı görülen hastalar dahil edilerek prognostik veriler analiz edildi. Takip süresi 3 aydan kısa olan hastalar ve 3 aydan kısa takibi olup bu süre içerisinde graft kaybı görülmeyen hastalar analizlerin dışında bırakıldı. Graft sağ kalımı analizleri için Kaplan-Meier metodu kullanıldı. Tek değişkenli analizlerde anlamlı bulunan faktörler Cox regresyon analiz testine tabi tutularak bağımsız faktör olup olmadıkları araştırıldı.

Tüm istatistiksel karşılaştırmalarda anlamlılık sınırı $p < 0,05$ olarak alındı.

BÖLÜM IV

BULGULAR

I. Çalışma Grubuna Ait Genel Özellikler ve Histopatolojik Değerlendirme

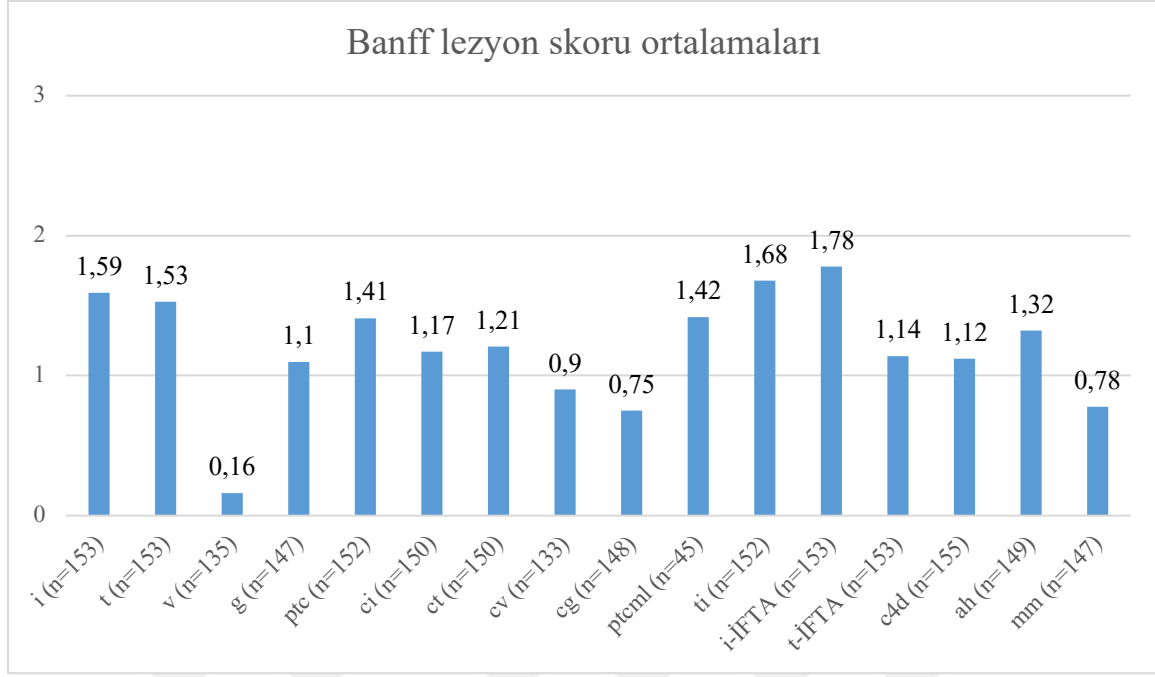
Transplante böbrek indikasyon biyopsisi yapılan ve AAR veya THAR tanısı alan 85 hastaya ait toplam 161 biyopsi çalışmaya dahil edildi. Bu biyopsilerden 4 tanesi değerlendirme için yetersiz bulundu. 131 (%82,9) biyopsi transplantasyon sonrası ≥ 12 .ay yapılmış geç dönem biyopsilerden oluşmakta idi. Çalışmaya alınan olgulara ait genel veriler Tablo 5'te listelenmiştir.

Tablo 5. Olguların genel özellikleri

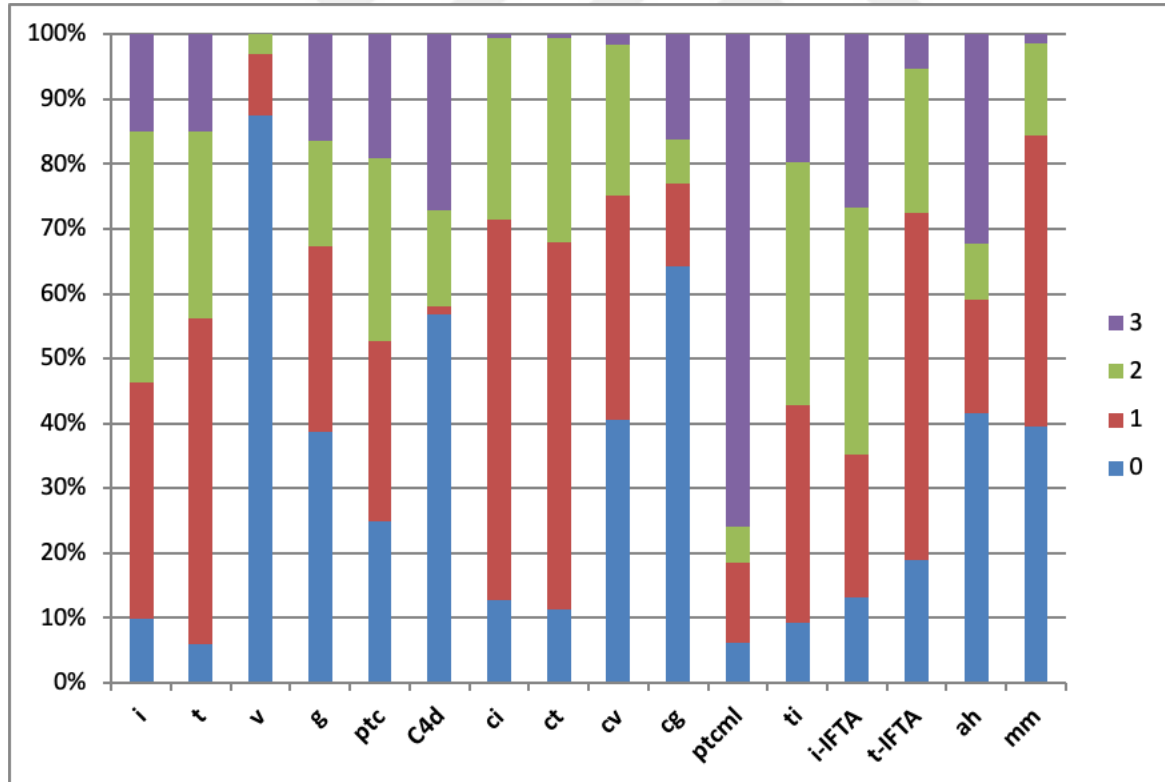
Yaş (n=85)(yıl)(ortalama$\pm$S)	33,78 $\pm$ 15,4 (8-75)
Cinsiyet (n=85)	
Erkek	53 (%62,3)
Kadın	32 (%37,6)
Diyaliz süresi (n=50)(ay)(medyan)	24
Donör türü (n=83)(canlı)	69 (%80,2)
Transplantasyon sonrası biyopsi zamanı (gün)(medyan)	1322 (6-10184)
Biyopsi sonrası takip süresi (n=68)(ay)(medyan)	25 (0-93)
İdame immünsüpresif tedaviler (n=68)	
CNI-MMF-Steroid	58 (%85,3)
CNI-AZA_Steroid	6 (%8,8)
mTORi-MMF-Steroid	3 (%4,4)
CNI-MMF	1 (%1,5)

Kısaltmalar: SS, standart sapma; CNI, kalsinörin inhibitörü; MMF, mikofenolat mofetil/sodyum; AZA, azatioprin; mTORi, mTOR inhibitörü

Banff lezyon skorlarının güncel Banff 2019 sınıflaması kriterlerine göre yeniden gözden geçirilmesi sonrası elde edilen sonuçlar aşağıdaki şekillerde (Şekil 1-2) ortalama değerler ve lezyon skorlarının dağılımını içerecek şekilde belirtilmektedir.



Şekil 1. Banff lezyon skorlarının ortalamaları



Şekil 2. Banff lezyon skorlarının dağılımı

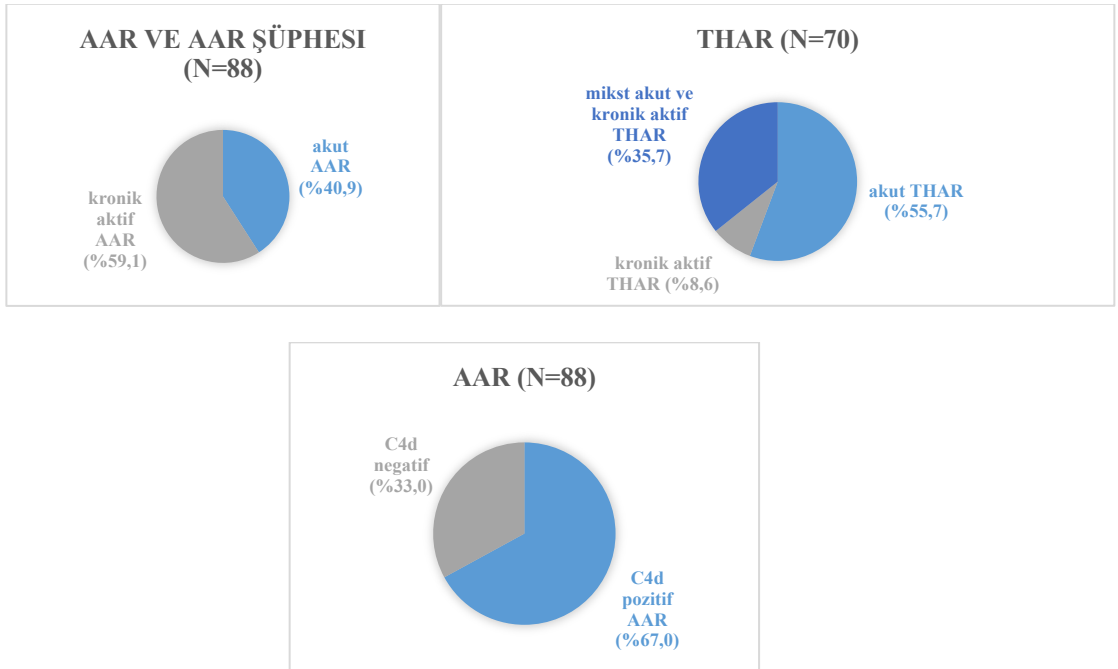
Biyopsi anındaki PRA ve DSA bilgilerine 134 biyopsi için ulaşıldı. DSA sonucu bilinen 61 olgunun 45'inde (%61,6), PRA sonucu bilinen 73 olgunun 37'sinde (%60,7) antikor

pozitifliği saptandı. DSA pozitifliği ile Banff lezyon skorları arasındaki korelasyon değerlendirildiğinde *g*, *mm*, *ptc*, *cg* ve *cv* lezyonları ile anlamlı korelasyon tespit edildi. Banff lezyonları için rho (ve *p*) değerleri sırasıyla *g* için 0,464 ($p<0,001$), *mm* için 0,390 ($p=0,004$), *ptc* için 0,454 ($p<0,001$), *cg* için 0,432 ($p<0,001$) ve *cv* için 0,306 ($p=0,041$) olarak saptandı.

C4d immünohistokimyası 155 biyopside uygulanmış olup skor ≥ 2 düzeyinde boyanma 65 (%41,9) olguda saptandı.

Tüm biyopsiler için güncellenen lezyon skorları ve tanı kriterleri klinik veriler eşliğinde yeniden değerlendirilerek tanı kategorileri revize edildi. Bu kategoriler “rejeksiyon dışı”, “AAR ve AAR şüphesi”, “THAR” ve “Mikst rejeksiyon” grubu olarak sınıflandı. Olguların 31’inde (%19,7) rejeksiyon saptanmazken, 126 olgu (%80,3) rejeksiyon gruplarından birine dahil edildi. Rejeksiyon tanısı alan 126 olgunun 56’sı (%35,7) AAR ve AAR şüphesi, 38’i (%24,2) THAR, 32’si (%20,4) mikst rejeksiyon tanı kategorisinde yer aldı.

Rejeksiyon tanısı alan biyopsiler arasında AAR ve AAR şüphesi tanısı alan vakalar “akut” ve “kronik aktif” olmak üzere iki ayrı gruba, THAR tanısı alan vakalar “akut”, “kronik aktif” ve “mikst akut ve kronik aktif” olmak üzere Banff 2019 tanı kategorilerine göre üç alt gruba ayrıldı. Ayrıca AAR tanısı alan vakalar C4d ekspresyon durumlarına göre “C4d pozitif” ve “C4d negatif” olmak üzere iki gruba ayrıldı. Vakaların bu alt gruplara göre dağılımı aşağıdaki şekilde gösterilmiştir (Şekil 3).



Şekil 3. Antikor aracılı ve T hücre aracılı rejeksiyon olgularının tanı alt gruplarına göre dağılımı

Kısaltmalar: AAR, antikor aracılı rejeksiyon; THAR, T hücre aracılı rejeksiyon

Banff lezyon skorlarının her birinin rejeksiyon alt tipleri arasındaki dağılımı ve ortalamaları arasındaki farklar ise aşağıdaki tabloda listelenmiştir (Tablo 6). Banff lezyon skorları *ct*, *ci* ve *ptcml* hariç tüm lezyon skorlarının rejeksiyon alt tiplerindeki ortalaması anlamlı ölçüde farklı bulunmuştur.

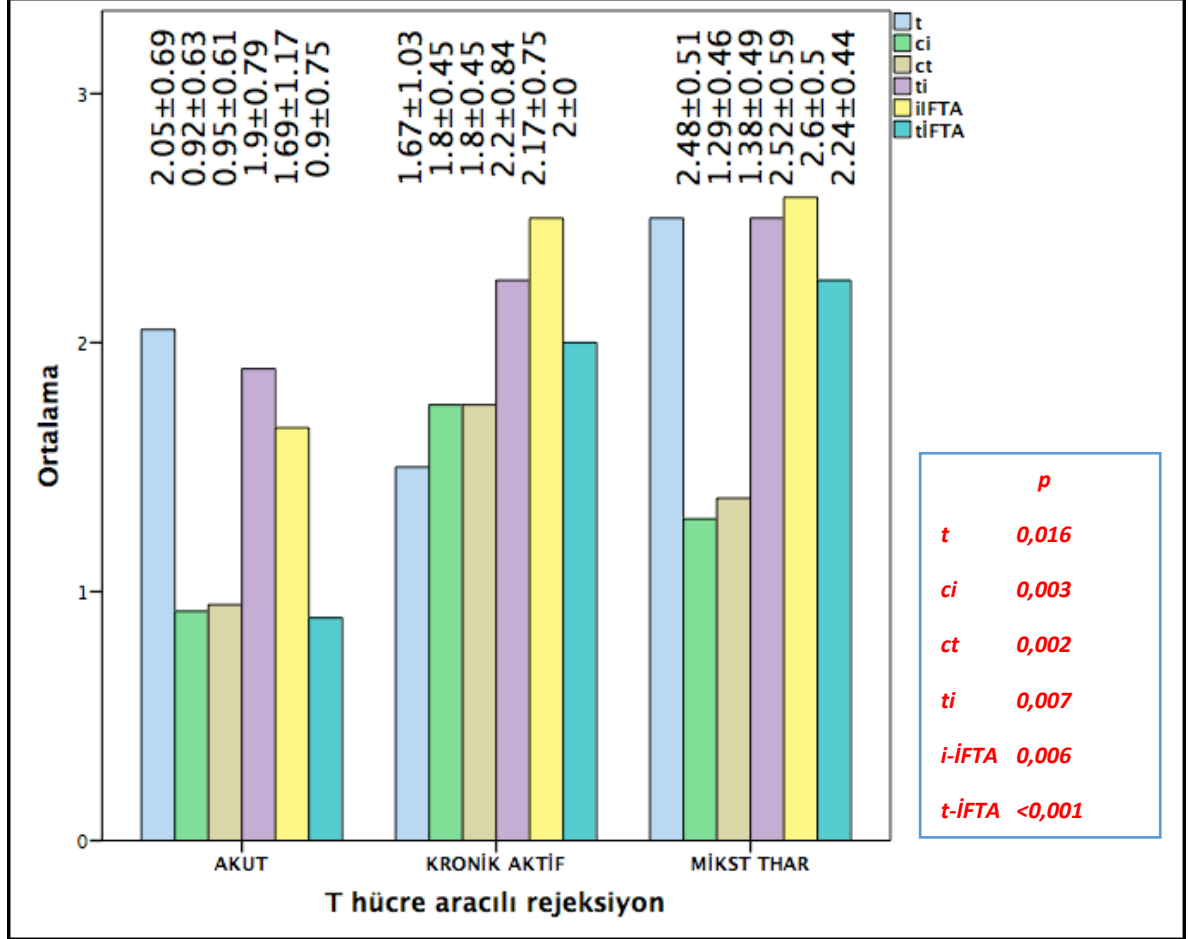
Tablo 6. Banff lezyon skorlarının rejeksiyon alt tiplerine göre ortalamaları ve ortalamalarının karşılaştırılması

Banff lezyonları	Rejeksiyon Dışı (A)	THAR (B)	AAR/AAR şüphesi (C)	Mikst rejeksiyon (D)	p^*	Sonuçlar
	Ortalama±SS					
<i>i</i>	0,97±0,86	2,18±0,65	1,13±0,52	2,22±0,66	<0,001	B>A; D>A; B>C; D>C
<i>t</i>	0,9±0,56	2,21±0,55	1,04±0,33	2,13±0,75	<0,001	D>A; B>A; D>C; B>C
<i>v</i>	0	0,21±0,545	0,02±0,14	0,42±0,62	<0,001	D>A; D>C
<i>g</i>	0,15±0,36	0,31±0,76	1,77±0,93	1,66±0,94	<0,001	D>A; C>A; D>B; C>B
<i>ptc</i>	0,24±0,44	0,84±0,8	1,98±0,83	2,19±0,74	<0,001	C>A; D>A; C>B; D>B
<i>C4d</i>	0,07±0,36	0,17±0,56	2,05±1,23	1,5±1,34	<0,001	D>A; C>A; D>B; C>B
<i>ci</i>	1,07±0,75	1,03±0,57	1,28±0,6	1,22±0,66	0,198	
<i>ct</i>	1,1±0,72	1,03±0,57	1,33±0,61	1,31±0,64	0,065	
<i>cv</i>	0,73±0,7	0,45±0,794	1,09±0,8	1,03±0,84	0,002	D>B; C>B
<i>cg</i>	0,04±0,19	0,06±0,232	1,74±1,21	0,5±0,95	<0,001	C>A; C>B; C>D
<i>ptcml</i>	1,08±0,64	1±1,15	1,94±1,06	1,25±1,26	0,058	
<i>ti</i>	1,1±0,86	2,16±0,83	1,39±0,763	2,13±0,71	<0,001	D>A; B>A; D>C; B>C
<i>iIFTA</i>	1,38±1,05	2,08±1,07	1,65±0,78	2,03±0,99	0,003	B>A
<i>tIFTA</i>	0,76±0,58	1,41±0,8	0,93±0,5	1,53±1,02	<0,001	B>A; D>A; B>C; D>C
<i>ah</i>	0,96±1,26	0,91±1,04	1,78±1,31	1,28±1,4	0,011	C>A; C>B
<i>mm</i>	0,63±0,629	0,34±0,54	1,06±0,77	0,91±0,73	<0,001	D>B; C>B

* Anlamlı p değerleri italik ve kalın punto ile gösterilmiştir.

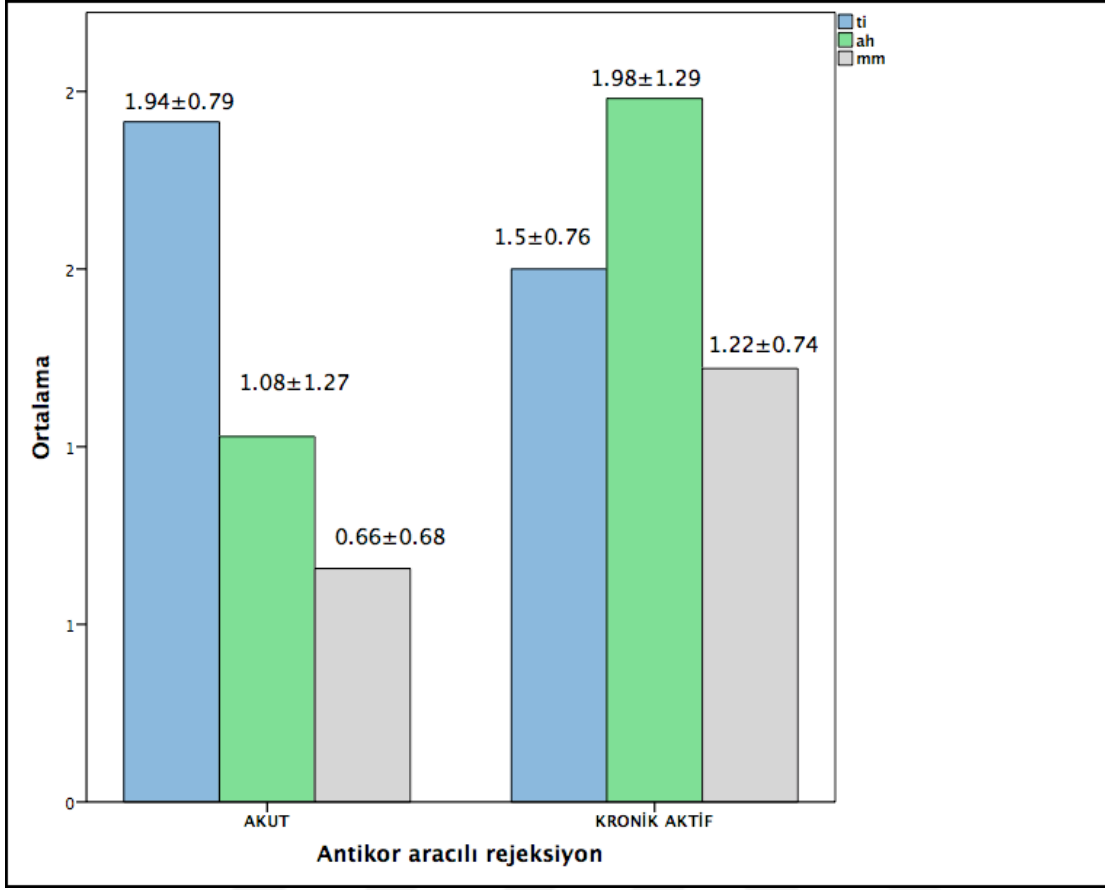
SS: standart sapma

THAR alt tipleri arasında Banff lezyon skorlarının ortalamaları değerlendirildiğinde *t*, *ci*, *ct*, *ti*, *i-İFTA* ve *t-İFTA* lezyonlarının ortalamaları THAR alt tipleri arasında farklılık göstermiştir ($p<0,05$)(Şekil 4). *t* skoru mikst THAR’de en yüksek iken, *ci*, *ct* ve *t-İFTA* skorları kronik aktif THAR’de en yüksek saptandı. *i-İFTA* ve *ti* ise mikst THAR’de akut THAR’ye göre daha yüksek bulundu.



Şekil 4. T hücre aracılı rejeksiyon alt tiplerine göre anlamlı farklılık gösteren Banff lezyonlarının ortalamaları

Banff lezyon skorları ortalamalarının AAR alt tipleri arasındaki farkları değerlendirilirken AAR’yi tanımlayıcı lezyonlar (*g*, *ptc*, *cg* gibi) zaten bu kategorileri belirleyici lezyonlar olduklarından analize dahil edilmemiştir. Bu lezyonlar haricindeki Banff lezyonları arasından *ti*, *ah* ve *mm* lezyon ortalamalarının AAR alt tipleri arasındaki farkları aşağıdaki şekilde gösterilmektedir (Şekil 5). Total inflamasyon skoru akut AAR’de kronik AAR’ye göre daha yüksek izlenirken, *ah* ve *mm* lezyon skorları ise kronik AAR’de yüksek bulunmuştur (*p* değerleri sırasıyla 0,03 ve <0,001). Grafikte yer almayan ve AAR tanımlayıcı lezyonlar arasında bulunmayan Banff lezyon ortalamaları AAR alt grupları arasında anlamlı fark göstermemiştir.



Şekil 5. Antikor aracılı rejeksiyon alt tiplerine göre anlamlı farklılık gösteren Banff lezyonlarının ortalamaları

Banff lezyon skorlarının her birinin C4d pozitif ve C4d negatif AAR alt grupları arasındaki ortalama farkları değerlendirildiğinde ise yalnızca *cv* ($p=0,033$), *cg* ($p=0,032$), *ah* ($p=0,002$) lezyonları arasında anlamlı fark izlendi; *i*, *t*, *v*, *g*, *ptc*, *mm*, *ci*, *ct*, *ptcml*, *ti*, *i*-İFTA ve *t*-İFTA lezyonları ile anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0.05$). C4d pozitif AAR’de *cv* lezyon skorunun ortalaması $1,19\pm0,77$ iken C4d negatif AAR’de $0,76\pm0,83$ bulundu. *cg* ve *ah* lezyonlarının ortalamaları C4d pozitif ve C4d negatif rejeksiyonlarda sırasıyla *cg* lezyonu için $1,46\pm1,32$ ve $0,79\pm1,01$; *ah* lezyonu için $1,93\pm1,27$ ve $0,97\pm1,3$ bulundu.

c Banff lezyon skorlarının korelasyon analizlerinde elde edilen sonuçlar aşağıdaki tabloda gösterilmiştir (Tablo 7).

Tablo 7. Banff lezyon skorları arasında korelasyon analizi*

	<i>g</i>	<i>t</i>	<i>v</i>	<i>i</i>	<i>ti</i>	<i>ah</i>	<i>mm</i>	<i>ptc</i>	<i>cg</i>	<i>ct</i>	<i>ci</i>	<i>cv</i>	<i>ilFTA</i>	<i>tlFTA</i>	<i>ptcml</i>	<i>C4d</i>
<i>g</i>		-0,146	0,069	-0,113	0,106	0,161	0,194	0,682	0,490	0,238	0,164	0,195	0,000	<i>0,084</i>	0,337	0,431
<i>t</i>	>0,05		0,060	0,718	0,510	-0,229	-0,229	0,087	-0,392	-0,095	-0,120	-0,294	0,301	0,386	-0,178	-0,119
<i>v</i>	>0,05	>0,05		0,089	-0,053	0,005	-0,147	0,093	-0,209	-0,122	-0,131	0,106	-0,236	-0,140	-0,224	-0,020
<i>i</i>	>0,05	<0,001	>0,05		0,666	-0,086	-0,057	0,177	-0,305	0,000	-0,022	-0,247	0,375	0,347	-0,071	-0,065
<i>ti</i>	>0,05	<0,001	>0,05	<0,001		-0,139	-0,038	0,249	-0,172	0,109	0,136	-0,062	0,536	0,410	-0,007	-0,043
<i>ah</i>	>0,05	0,005	>0,05	>0,05	>0,05		0,483	0,217	0,370	0,253	0,250	0,445	0,034	0,096	0,362	0,377
<i>mm</i>	0,019	0,005	>0,05	>0,05	>0,05	<0,001		0,296	0,432	0,453	0,473	0,389	0,069	0,077	0,297	0,370
<i>ptc</i>	<0,001	>0,05	>0,05	0,030	0,002	0,008	<0,001		0,389	0,182	0,164	0,203	0,035	0,132	0,263	0,554
<i>cg</i>	<0,001	<0,001	0,016	<0,001	0,037	<0,001	<0,001	<0,001		0,287	0,269	0,307	0,000	0,007	0,386	0,463
<i>ct</i>	0,004	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	0,002	<0,001	0,025	<0,001		0,916	0,416	0,326	0,345	0,154	0,223
<i>ci</i>	0,048	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	0,002	<0,001	0,045	0,001	<0,001		0,421	0,318	0,326	0,080	0,174
<i>cv</i>	0,025	0,001	>0,05	0,004	>0,05	<0,001	<0,001	0,019	<0,001	<0,001	<0,001		0,054	0,121	0,254	0,313
<i>ilFTA</i>	>0,05	<0,001	0,006	<0,001	<0,001	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,001	<0,001	>0,05		<i>0,600</i>	-0,034	0,003
<i>tlFTA</i>	>0,05	<0,001	>0,05	<0,001	<0,001	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,001	<0,001	>0,05	<0,001		0,198	0,034
<i>ptcml</i>	0,024	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	0,014	0,048	>0,05	0,009	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05		0,374
<i>C4d</i>	<0,001	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,006	0,033	<0,001	>0,05	>0,05	0,011	

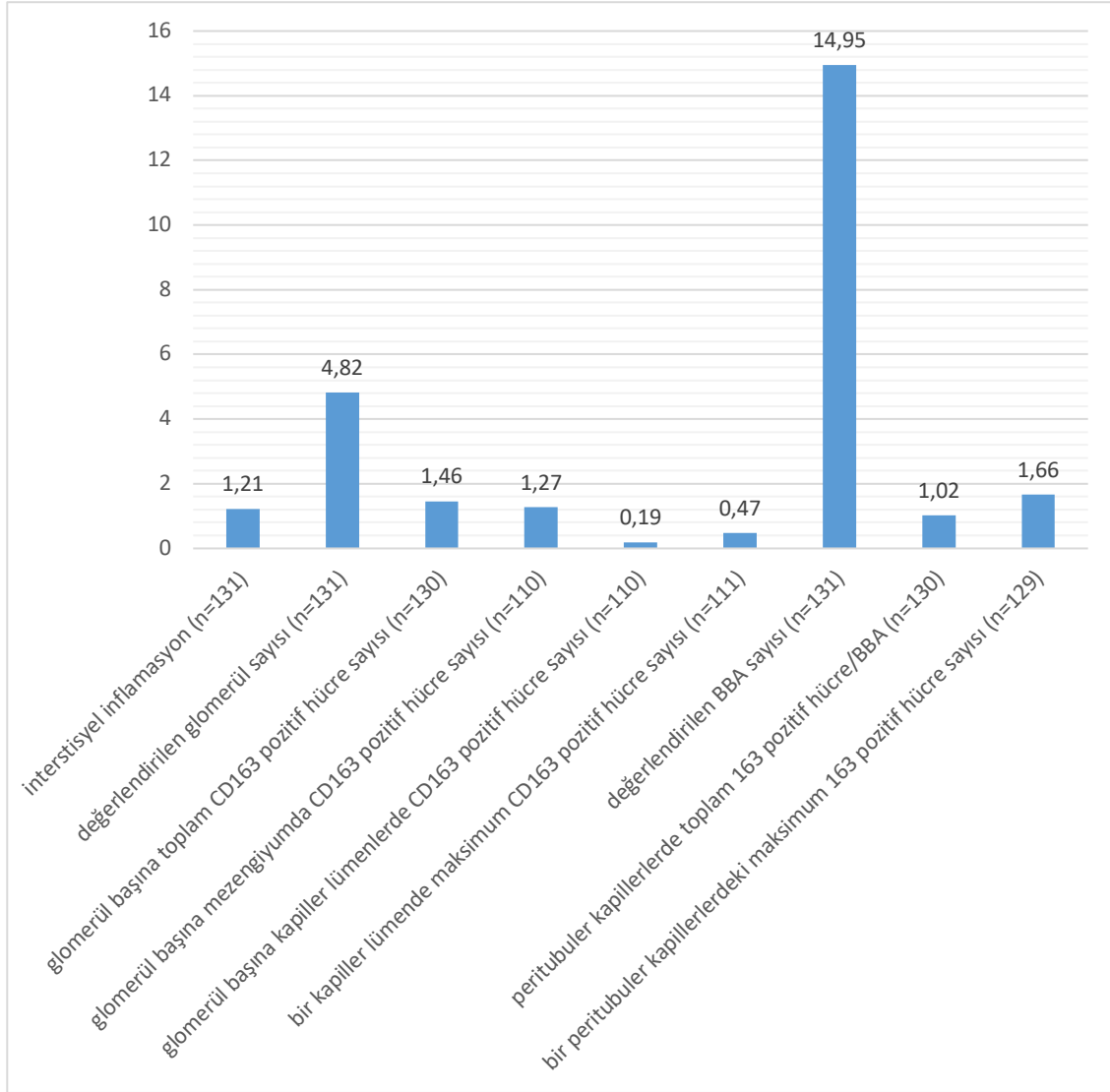
*Tablonun sağ üst yarımı *rho* değerlerini, sol alt yarımı *p* değerlerini göstermektedir.

** Anlamlı *p* değerleri italik ve kalın punto ile gösterilmiştir.

II. İmmünohistokimyasal İnceleme Sonuçları

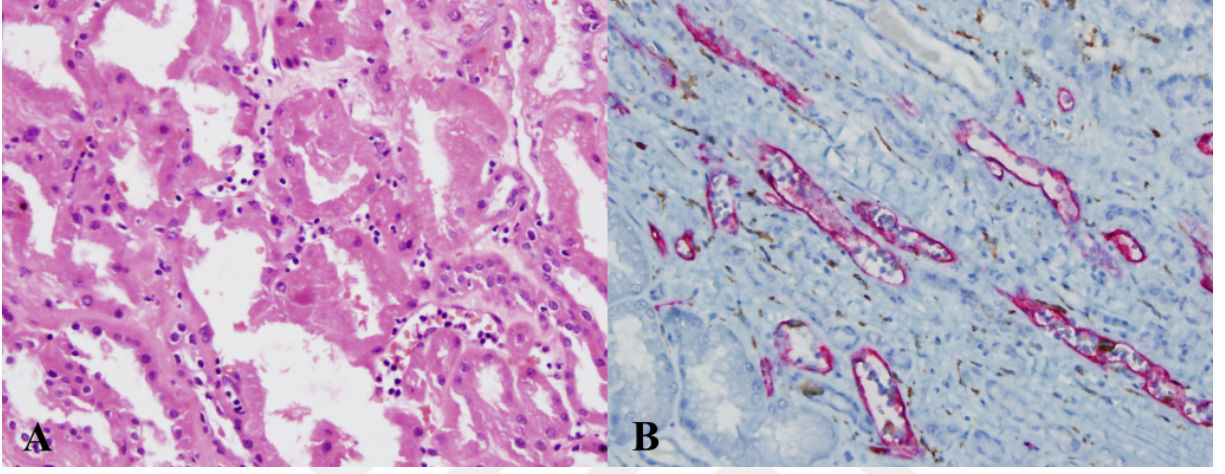
II.A. CD163 ile İmmünohistokimyasal İnceleme Sonuçları

CD163 immünohistokimyasal incelemesi arşiv bloklarına ulaşılabilen ve bu bloklarda yeterli dokusu olan ve immünohistokimyasal inceleme sağlıklı şekilde değerlendirilebilen toplam 131 (%18,6) biyopsi mevcuttu. Yapılan değerlendirmede interstisyel inflamasyonu oluşturan hücrelerde CD163 pozitif hücre yoğunluğu (0-3), değerlendirilebilen glomerül sayıları, glomerüllerde mezengiyal alanda ve kapiller lümenlerdeki CD163 pozitif hücre sayıları, dokuda bulunan toplam BBA sayıları ve bu alanlarda peritubuler kapillerlerde izlenen toplam CD163 pozitif hücre sayılarına ait ortalamalar ve glomerüller ve peritubuler kapiller lümenlerde izlenen pozitif hücrelerin maksimum değerlerine ait ortalamalar aşağıdaki şekilde belirtilmiştir (Şekil 6).

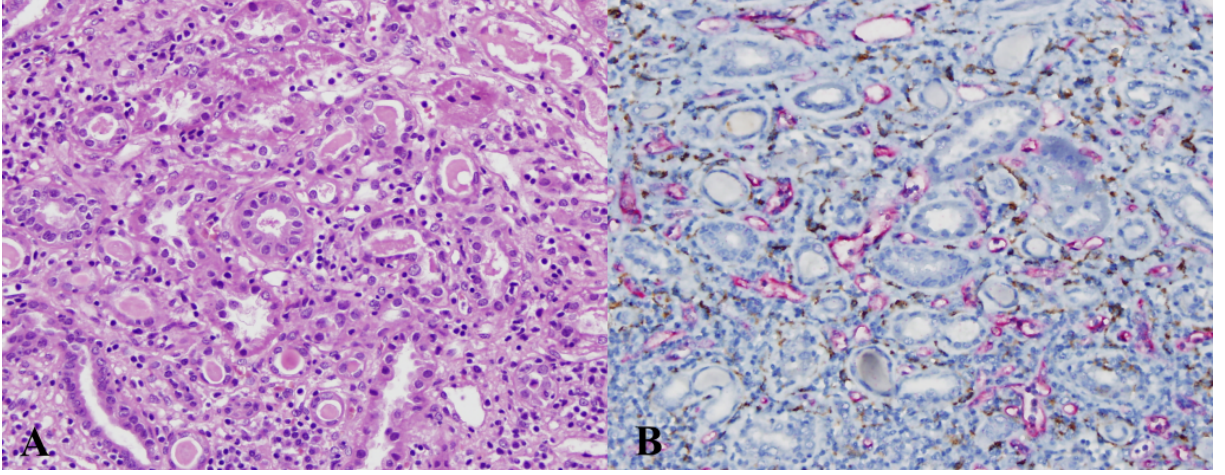


Şekil 6. CD163 immünohistokimyası ile elde edilen hücre sayımlarına ait ortalamalar

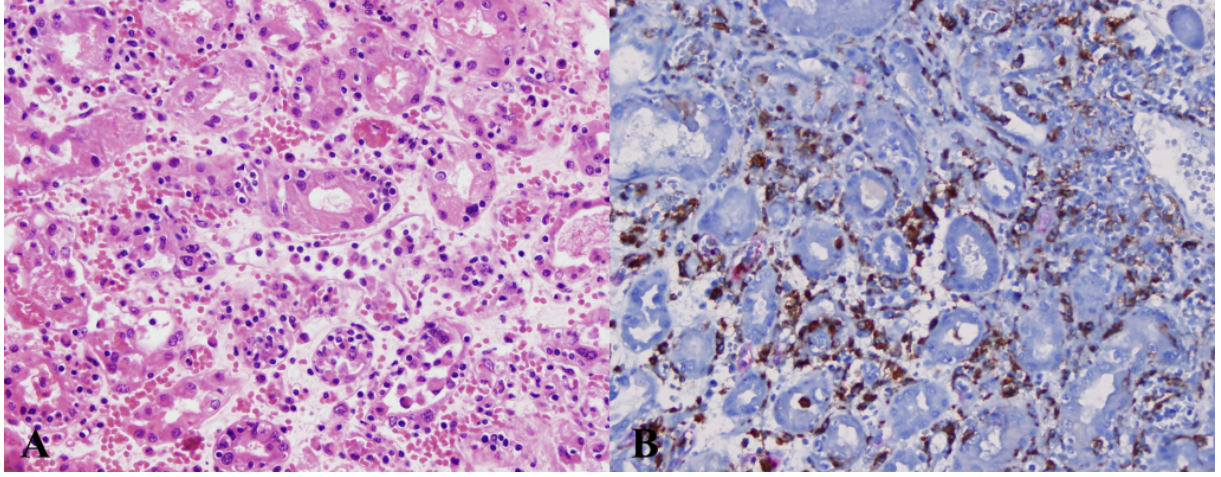
Toplam 131 biyopsi üzerinde yapılan değerlendirmede interstisyel CD163 boyanma skoru 30 vakada (%22,9) skor 0, 58 vakada (%44,3) skor 1, 29 vakada (%22,1) skor 2, 14 vakada (%10,7) skor 3 olarak belirlendi. Her bir skor kategorisine ait örnek olgular Resim 1-3'te gösterilmiştir.



Resim 1. A: İnterstisyel inflamatuvar hücreler (x400, H&E), B: CD163 ile interstisyel alanda *skor 1* düzeyinde inflamasyon (x400, CD163) (İTF Patoloji AD 31115-18)



Resim 2. A: İnterstisyel inflamatuvar hücreler (x400, H&E), B: CD163 ile interstisyel alanda *skor 2* düzeyinde inflamasyon (x400, CD163) (İTF Patoloji AD 35254-16)



Resim 3. A: İnterstiyel inflamatuvar hücreler (x400, H&E), B: CD163 ile interstiyel alanda *skor 3* düzeyinde inflamasyon (x400, CD163) (İTF Patoloji AD 21323-15)

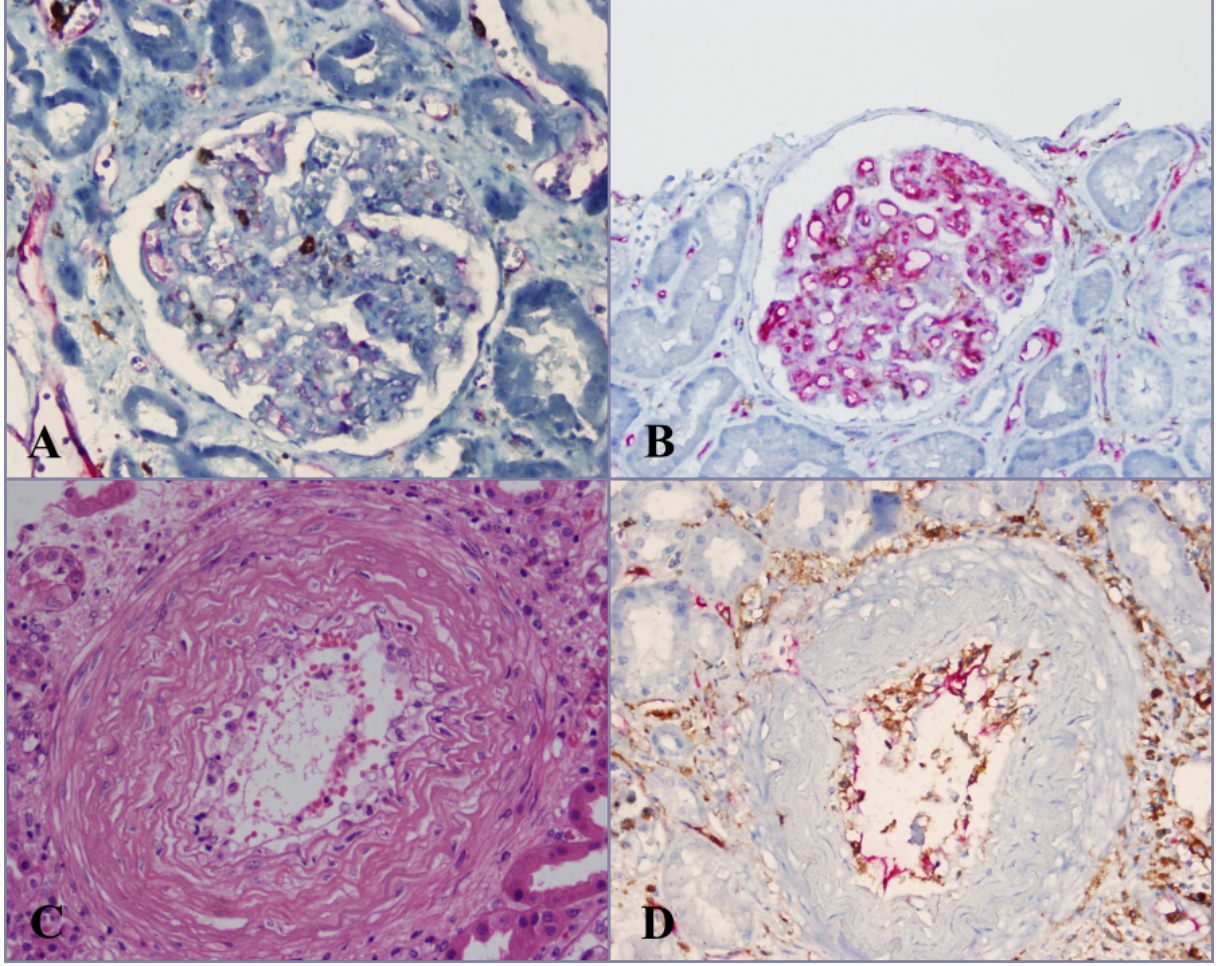
CD163 ile saptanan interstiyel boyanma skorlarına göre olgular $\text{skor} < 2$ ve $\text{skor} \geq 2$ olanlar olmak üzere iki gruba ayrıldı. Bu iki grup arasında Banff lezyon skorları açısından bir farklılık olup olmadığı sorgulandı. Yapılan karşılaştırmada interstiyel CD163 boyanma skoru ≥ 2 olan olgularda *i*, *ti*, *ct*, *ci* ve *t-IFTA* skorlarının diğer gruba göre daha fazla oranda yüksek olduğu belirlendi (Tablo 8).

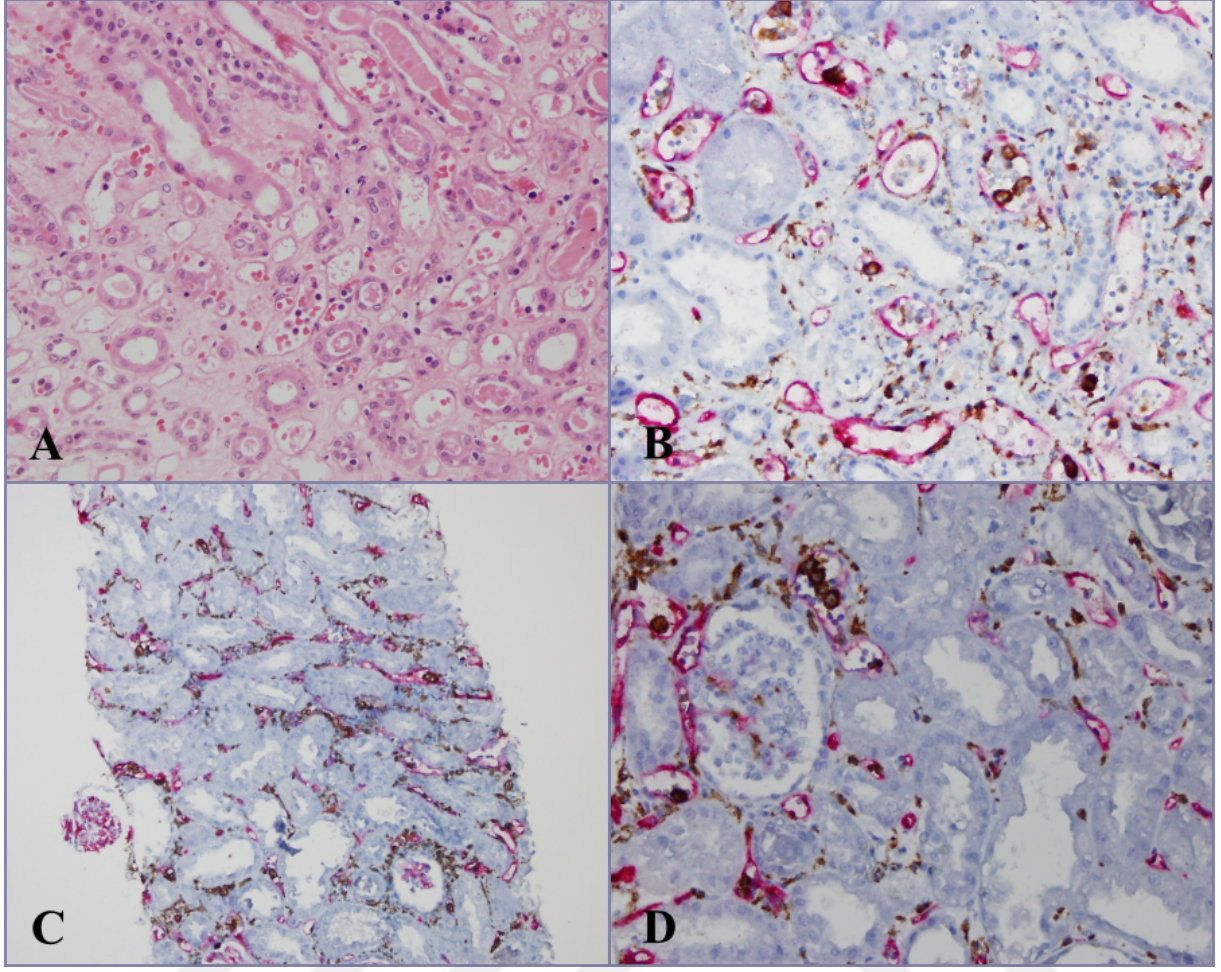
Tablo 8. CD163 antikoruna pozitif reaksiyon gösteren interstiyel inflamatuvar hücre skorlarının Banff lezyon skorları ile karşılaştırılması

	CD163 ile interstiyel boyanma ≥ 2	< 2 ve ≥ 2 olan gruplar arası karşılaştırma
	n (%)	p*
İnterstiyel inflamasyon (<i>i</i>)		
< 2	7 (13)	
≥ 2	35 (47,9)	<i>0,000</i>
Total inflamasyon (<i>ti</i>)		
< 2	10 (19,6)	
≥ 2	32 (42,1)	<i>0,008</i>
Tubuler atrofi (<i>ct</i>)		
< 2	35 (41,2)	
≥ 2	6 (14,6)	<i>0,003</i>
İnterstiyel fibrozis (<i>ci</i>)		
< 2	36 (40,4)	
≥ 2	5 (13,5)	<i>0,003</i>
i-IFTA		
< 2	13 (31)	
≥ 2	29 (34,1)	0,721
t-IFTA		
< 2	25 (27,5)	
≥ 2	17 (45,9)	<i>0,044</i>

* Anlamlı *p* değerleri italik ve kalın punto ile gösterilmiştir.

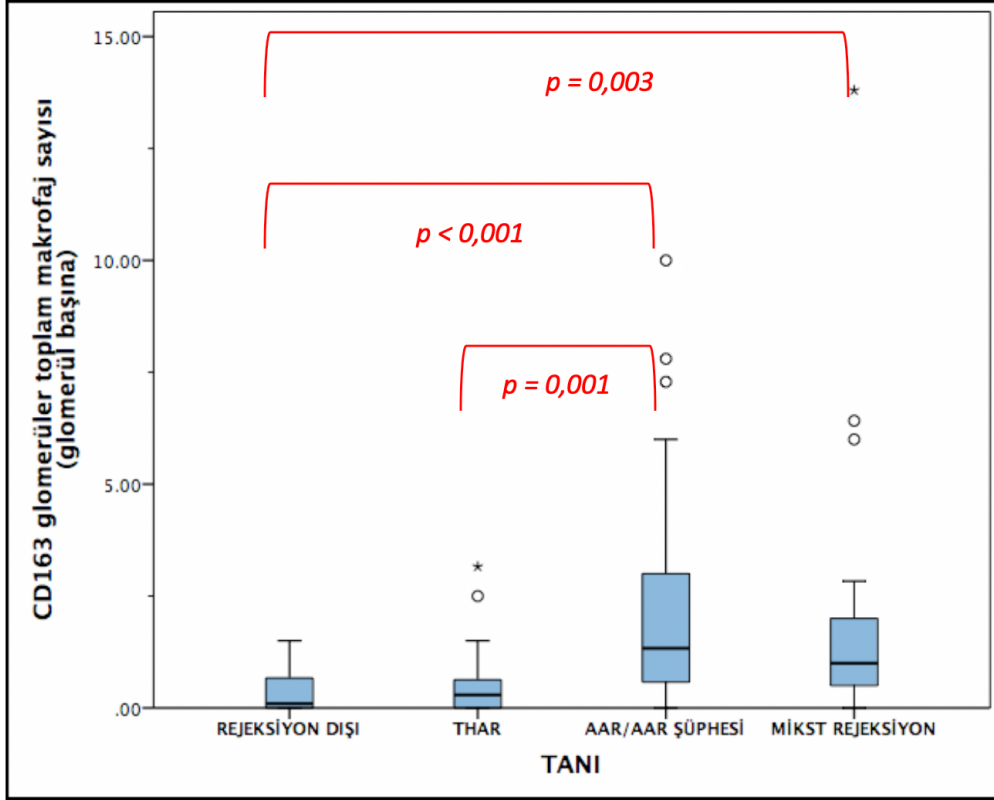
Glomerüllerde mezengiyumda, kapiller lümenlerde ve her ikisinde izlenen CD163 pozitif hücre ortalamaları Şekil 6'da mevcuttur. Bu lezyonlara ait örnekler aşağıdaki resimlerde (Resim 4- 5) gösterilmektedir.



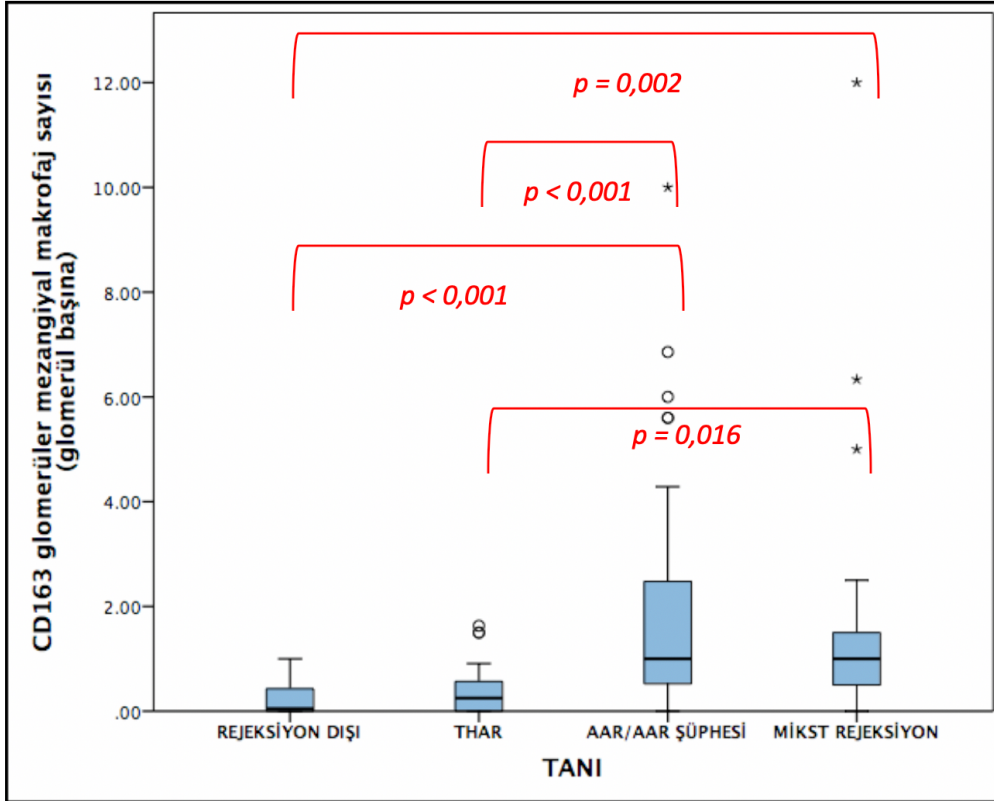


Resim 5. A: Peritubuler kapiller lümenlerde yoğun inflamatuvar hücreler (x400, HE) (İTF Patoloji AD 24179-15), B: Peritubuler kapiller lümenlerdeki inflamatuvar hücrelerde CD163 pozitifliği (x400, CD163) (İTF Patoloji AD 24179-15), C: Skor 3 düzeyinde peritubuler kapillerit içeren biyopside kapiller lümenlerde yoğun CD163 pozitif hücre infiltrasyonu (x400, CD163) (İTF Patoloji AD 25781-15), D: Maksimum 4 adet CD163 pozitif intrakapiller makrofaj içeren bir biyopsi (x400, CD163) (İTF Patoloji AD 25781-15). (B, C ve D Dual immünohistokimya: endotelde kırmızı, CD163-pozitif inflamatuvar hücrelerde kahverengi kromojen ile işaretleme)

Glomerüllerde hem mezengiyal hem intrakapiller olarak izlenen CD163 pozitif hücrelerin toplam değeri tanı kategorilerine göre karşılaştırıldığında rejeksiyon izlenmeyen grup ile AAR grubu, rejeksiyon izlenmeyen grup ile mikst rejeksiyon grubu ve AAR grubu ile THAR grubu arasında toplam CD163 pozitif hücre sayıları açısından anlamlı fark bulundu (p değerleri sırasıyla= $<0,001$; $0,003$; $0,001$)(Şekil 7). AAR ve AAR komponenti olan mikst rejeksiyon gruplarında glomerüllerde izlenen toplam ve mezengiyal makrofaj sayıları daha yüksek saptandı ($<0,001$) (Şekil 8).



Şekil 7. Rejeksiyon alt tipleri arasında glomerül başına düşen toplam CD163 pozitif hücre sayısının karşılaştırması



Şekil 8. Rejeksiyon alt tipleri arasında glomerül başına düşen mezangiyal CD163 pozitif hücre sayısının karşılaştırması

Glomerüllerde intrakapiller lümenlerde ve peritubuler kapillerlerde değerlendirilen CD163 pozitif hücre sayıları rejeksiyon alt grupları arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Glomerüler ve peritubuler kapillerlerde değerlendirilen intrakapiller CD163 pozitif hücre sayıları AAR alt gruplarına göre (akut ve kronik aktif AAR) karşılaştırıldığında glomerüler değerlendirmede anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). Peritubuler kapiller değerlendirmesinde BBA başına düşen intrakapiller CD163 pozitif hücre sayısı akut AAR'de kronik aktif AAR'ye kıyasla anlamlı oranda yüksek bulundu ($p=0,022$) (ortalama değerler sırasıyla: $2,04\pm 3,28$, $0,73\pm 0,94$). Peritubuler kapiller lümen içindeki maksimum CD163 hücre sayısı da benzer şekilde akut AAR'de kronik aktif AAR'ye göre anlamlı ölçüde yüksek bulundu ($p=0,008$) (ortalama değerler sırasıyla: $2,49\pm 2,47$; $1,33\pm 1,23$).

CD163 immünohistokimyası ile değerlendirilen tüm parametreler ile C4d pozitif ve C4d negatif AAR grupları arasındaki dağılım farkları değerlendirildiğinde parametreler ile bu iki grup arasında anlamlı fark izlenmedi ($p>0,05$).

Benzer şekilde glomerül ve peritubuler kapillerlerde değerlendirilen intrakapiller CD163 pozitif hücre sayıları THAR alt gruplarına göre karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Banff lezyon skorları ile CD163 immünohistokimyasal boyanması arasındaki korelasyon değerlendirildiğinde ise glomerülde saptanan toplam CD163 pozitif hücre sayısı ile Banff lezyon skorları *g*, *ptc* ve *cg* arasında korelasyon saptandı (ρ ve p değerleri sırasıyla: $0,554$ ve $<0,001$; $0,331$ ve $<0,001$; $0,394$ ve $<0,001$). Glomerülde saptanan mezengiyal CD163 pozitif hücre sayısı ayrı olarak değerlendirildiğinde de benzer şekilde Banff lezyon skorları *g*, *ptc* ve *cg* arasında korelasyon saptandı (ρ ve p değerleri sırasıyla: $0,593$ ve $<0,001$; $0,362$ ve $<0,001$; $0,413$ ve $<0,001$).

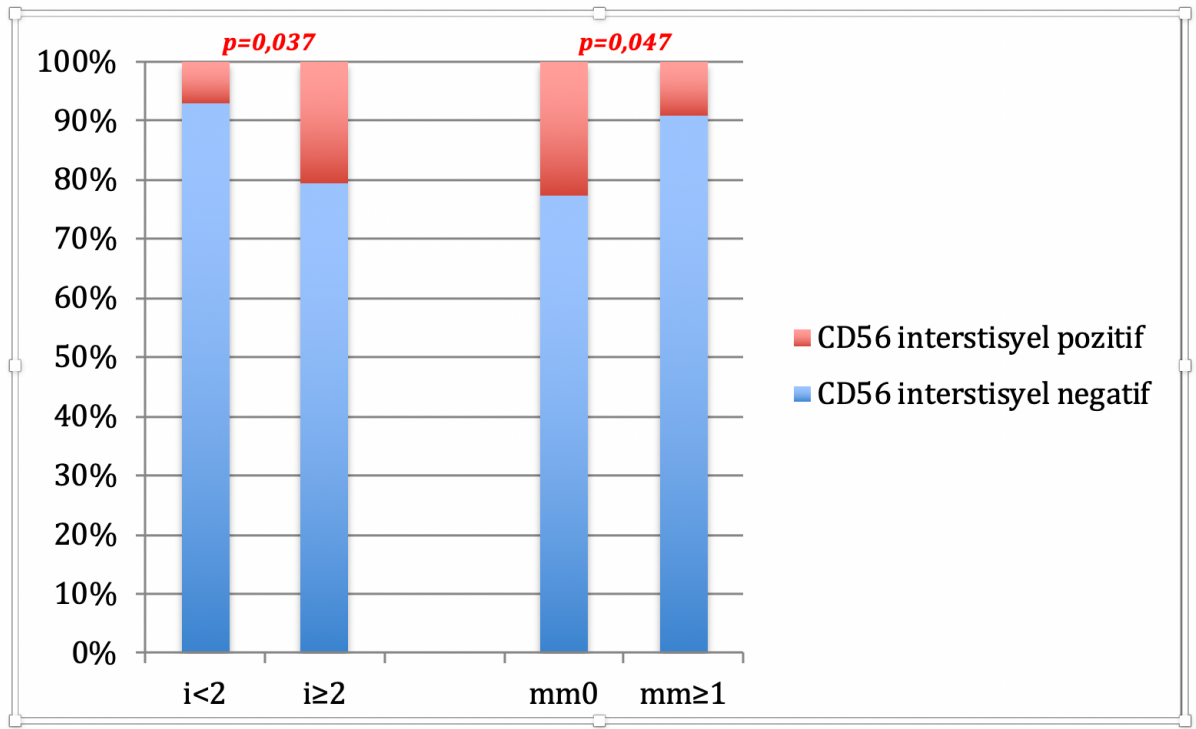
Diğer Banff lezyon skorları ile CD163 immünohistokimyasal boyanması arasında korelasyon saptanmadı.

II.B. CD56 ile İmmünohistokimyasal İnceleme Sonuçları

CD56 immünohistokimyasal incelemesi bloklarına ulaşılabilen ve bu bloklarda yeterli dokusu bulunan ve immünohistokimyasal incelemenin sağlıklı yapılabildiği toplam 117 biyopsi mevcuttu. CD56 ile pozitivite gösteren hücrelerin varlığı interstisyel alanda, glomerüllerde ve peritubuler kapillerlerde değerlendirildi. Biyopsilerde toplamda ortalama $4,81\pm 4,71$ adet glomerülde ve $15,32\pm 8,1$ BBA'da hücre sayımı gerçekleştirildi.

İnterstisyel alanda CD56 pozitifitesi 16 (%13,4) biyopside saptandı. CD56 pozitifitesi gösteren hücreler interstisyumda dağınık hücreler şeklinde seyrek olarak izlendi. Bu nedenle CD56 antikorunun interstisyel inflamasyon değerlendirmesi CD56 pozitif hücre olan ve olmayan şeklinde biyopsilerin iki gruba ayrılarak karşılaştırmaları ile gerçekleştirildi.

İnterstisyel CD56 pozitifliği gösteren inflamatuvar hücreler içeren (Resim 6) ve içermeyen biyopsiler Banff lezyon skorları için karşılaştırıldığında *i* ve *mm* lezyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı. *i* skoru ≥ 2 olan biyopsilerde interstisyel CD56 pozitif hücre varlığı saptanırken, *mm* ≥ 1 olan grupta CD56 pozitifliği düşük oranlarda izlendi ($p<0,05$) (Şekil 9).



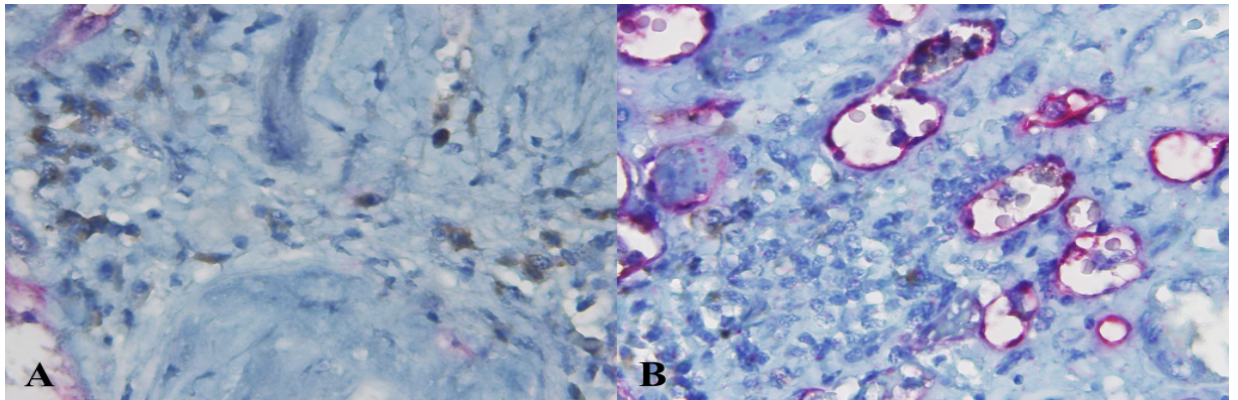
Şekil 9. İnterstisyel CD56 pozitifliği gösteren ve göstermeyen vakalar arasında Banff lezyon skorları *i* ve *mm*'nin karşılaştırılması

İnterstisyel inflamasyon ve *mm* skorları dışında kalan diğer Banff lezyonları, C4d boyanması ve DSA ve/veya PRA varlığı açısından interstisyel CD56 pozitifliği için herhangi bir farklılık saptanmadı. Tanı kategorileri arasında da CD56 pozitifliği gösteren inflamatuvar hücre varlığı benzer bulundu ($p>0,05$).

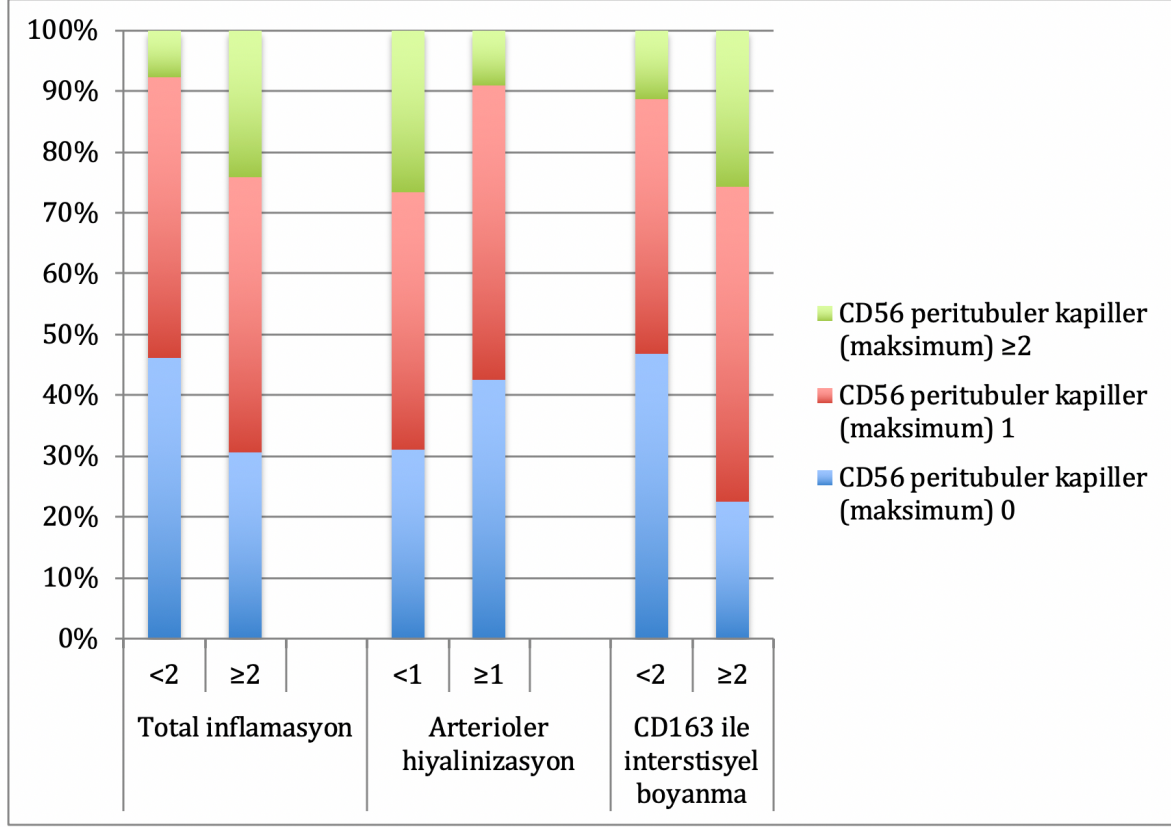
CD163 ile saptanan sonuçlar ile CD56 ile interstisyel alanda pozitif hücre varlığı arasında herhangi bir ilişki saptanmadı ($p>0,05$).

Glomerüllerde mezangiyal ve/veya intrakapiller yerleşimli CD56 pozitif hücre vakaların hemen tamamında saptanmadı. CD56 pozitif hücre içeren glomerül yalnızca iki vakada mevcut olup, pozitif hücre sayısı glomerül başına 1-4 arasında değişmekte idi. Glomerüllerde CD56 pozitifliği açısından uygun bir dağılım bulunmadığından ve pozitifliğin çok az sayıda biyopside bulunması nedeni ile glomerüler CD56 boyanması için herhangi bir karşılaştırma yapılamadı.

Peritubuler kapiller lümenlerde izlenen CD56 pozitif hücre sayısı BBA başına 0 ile 2,71 arasında değişmekte idi (ortalama $0,25 \pm 0,46$). Peritubuler kapiller lümenlerde tek bir kapillerde saptanan en yüksek sayıda pozitif hücre sayıları 1-3 arasında değişmekte idi (Resim 6). 45 biyopside peritubuler kapiller lümenlerde CD56 pozitif hücre saptanmadı. 52 biyopside 1, 18 biyopside 2 ve 2 biyopside 3 adet CD56 pozitif hücre görüldü. Bu dağılıma göre peritubuler kapillerlerde maksimum CD56 pozitif hücre sayısına göre 0, 1 ve ≥ 2 hücre içeren olmak üzere üç grup oluşturuldu. Karşılaştırmalar bu üç grup arasında gerçekleştirildi. Banff lezyon skorları, DSA ve/veya PRA varlığı, CD163 boyanma sonuçları ve elektron mikroskopik bulgular açısından bu üç grup arasında yapılan karşılaştırmada *ti*, *ah* ve CD163 interstisyel skoru dışında farklılık saptanmadı. Gruplar arasında farklılık gösteren *ti*, *ah* ve CD163 interstisyel boyanma skorları Şekil 10'da gösterilmektedir. Total inflamasyonu şiddetli olan grupta peritubuler kapillerlerde saptanan maksimum CD56 pozitif hücre sayısı en yüksek izlendi ($p=0,04$). *ah* izlenen biyopsilerde CD56 pozitif intrakapiller peritubuler hücre maksimum sayısı düşük izlendi ($p=0,044$). İnterstisyel alanda CD163 pozitif hücre skoru yüksek olgularda peritubuler kapillerlerde izlenen CD56 pozitif maksimum hücre sayısı da yüksek izlendi ($p=0,034$).



Resim 6. A: İnterstisyumda pozitif boyanma gösteren inflamatuvar hücreler (x1000, CD56) İTF Patoloji AD 8580-14), B: Peritubuler kapiller lümenlerdeki inflamatuvar hücrelerde CD56 pozitifliği (x1000, CD56) İTF Patoloji AD 17824-17)



Şekil 10. Peritubuler kapillerlerde maksimum CD56 pozitif hücre sayısına göre oluşturulan alt gruplar arasında *ti*, *ah* ve interstisyel CD163 boyanma skorlarının karşılaştırılması

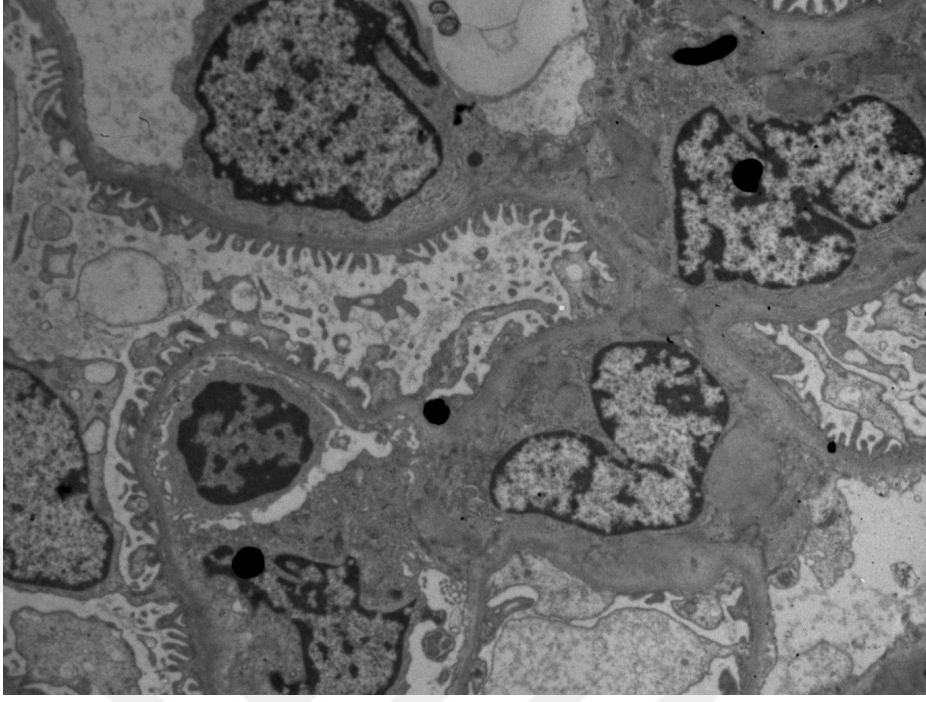
III. Elektron Mikroskopik İnceleme Sonuçları

Çalışma grubumuzdaki olgular arasına 33 hastaya ait 53 adet (%32,9) elektron mikroskopi için ayrılmış biyopsi mevcuttu. Biyopsiler içerisinde 8 tanesi gridlerin değerlendirmeye uygun olmaması ve Epon bloklarda yeterli doku kalmaması nedeniyle değerlendirilemedi. Glomerüllere ait toplam 1446 ve peritubuler kapillerlere ait toplam 1496 adet elektron mikroskopi fotoğrafı incelendi. Değerlendirmeye uygun olan biyopsiler içerisinde biyopsi başına 1-2 adet glomerül, ortalama $40,51 \pm 22,37$ glomerüler kapiller ve ortalama $5,7 \pm 2,72$ adet peritubuler kapiller değerlendirildi. Elektron mikroskopik olarak 32 (%71,1) biyopside glomerülit, bunların 26'sında kapiller lümenlerde oklüzyon saptandı. Elektron mikroskopide glomerüler ve peritubuler kapillerlerde değerlendirilen diğer parametrelere ait dağılımlar Tablo 9'da, örnek resimler ise Resim 7-9'da gösterilmiştir.

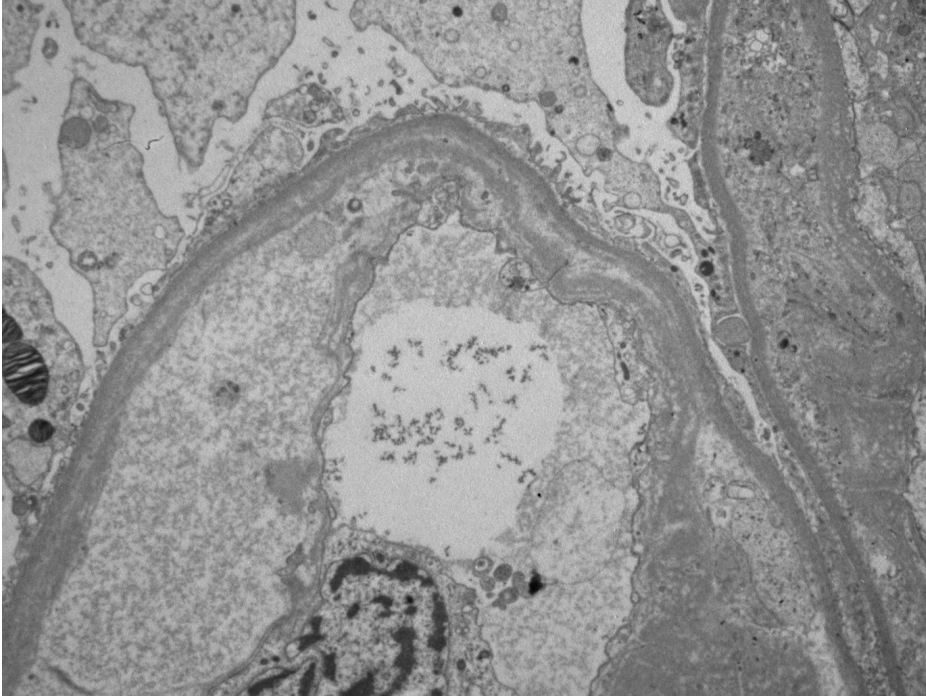
Tablo 9. Elektron mikroskopik incelemede değerlendirilen diğer parametrelere ait değerler

Elektron Mikroskopik Lezyonlar	n (%)
Endotelde şişkin görünüm	29 (%64,4)
Lamina rara internada lusensi artışı	35 (%77,8)
Subendotelyal tüyümsü materyal varlığı	21 (46,7)
Endotelde fenestrasyon kaybı	38 (%84,4)
Mezengiyal hücre interpozisyonu	22 (%28,8)
cg lezyonu varlığı	16 (%35,6)
≥ 1 peritubuler kapiller bazal membranında ≥7 multilamellasyon	10 (%22,2)
≥ 1 peritubuler kapiller bazal membranında ≥5 multilamellasyon	18 (%40)
<i>ptcml</i> lezyon skoru:	
0	9 (%20)
1	18 (%40)
2	8 (%17,8)
3	10 (%22,2)
Elektron Mikroskopik Lezyonlar	Ortalama±SS
Duplikasyon gösteren kapiller sayısı	10,21±7,64
cg skoru	0,36±0,48
Peritubuler kapiller bazal membranında en şiddetli multilamellasyon sayısı	4,49±2,4

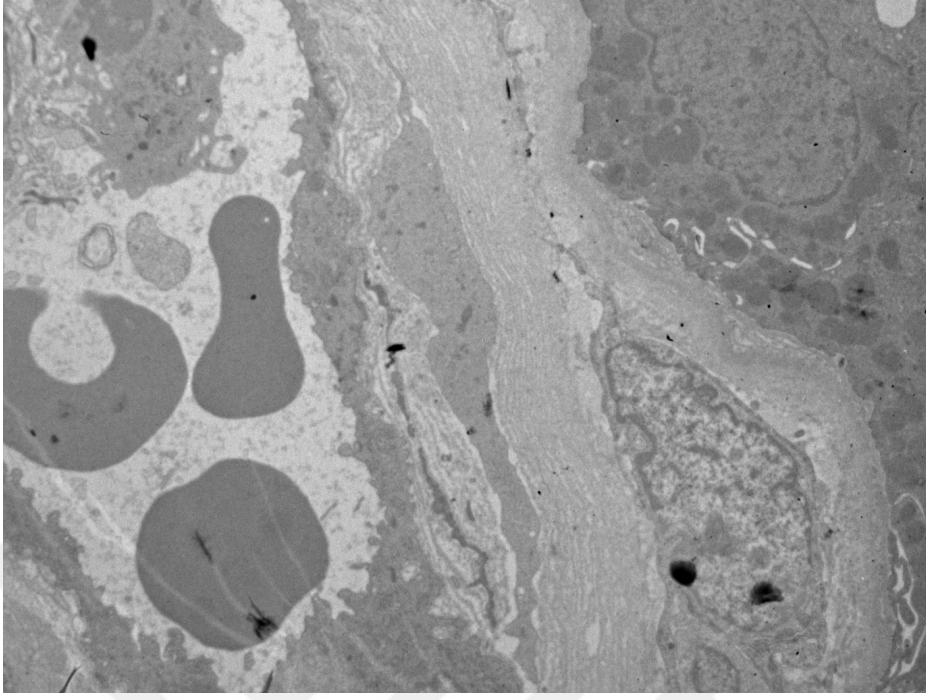
SS: Standart sapma



Resim 7. Glomerülit (Glomerüler kapiller lümen içerisinde izlenen inflamatuvar hücreler) (x5000, uranil sitrat-kurşun asetat) (İTF Histoloji ve Embriyoloji AD 23529).



Resim 8. Glomerül bazal membranında duplikasyon (x5000, uranil sitrat-kurşun asetat) (İTF Histoloji ve Embriyoloji AD 22094).



Resim 9. Peritubuler kapiller bazal membranında >10 tabaka oluşturan multilamellasyon. (x10.000, uranil sitrat-kurşun asetat) (İTF Histoloji ve Embriyoloji AD 24157).

Banff lezyon skorları ile elektron mikroskopik olarak değerlendirilen parametreler karşılaştırıldığında *g* skoru ile elektron mikroskopik olarak glomerülit varlığı, oklüzyon birlikteliğinde glomerülit varlığı, transplant glomerülopatisi, subendotelial kabarık tüyümsü materyal ve mezengiyal interpozisyon arasında; *ptc* skoru ile elektron mikroskopik olarak glomerülit varlığı, oklüzyon birlikteliğinde glomerülit varlığı, endotelde şişme ve mezengiyal interpozisyon arasında; *cg* skoru ile elektron mikroskopik olarak glomerülit varlığı, oklüzyon birlikteliğinde glomerülit varlığı, transplant glomerülopatisi, endotelde şişme ve mezengiyal interpozisyon arasında; *ct* ve *ci* skoru ile elektron mikroskopik olarak mezengiyal interpozisyon varlığı arasında; *cv* ile elektron mikroskopik olarak fenestrasyon kaybının varlığı ve mezengiyal interpozisyon varlığı arasında; *i-İFTA* ile elektron mikroskopik olarak saptanan peritubuler kapiller bazal membranında multilamellasyon arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. Bu karşılaştırmaya yönelik detaylı analiz sonuçları ve ilişkili *p* değerleri aşağıda tabloda gösterilmiştir (Tablo 10).

Tablo 10. Işık mikroskopide değerlendirilen Banff lezyon skorları ile elektron mikroskopik parametrelerin karşılaştırılması

	EM'de <i>g</i> n(%)	EM'de <i>g</i> & Oklüzyon n(%)	EM'de <i>cg</i> (Banff'19) n(%)	EM'de endotelde şişme n(%)	EM'de endotelde lusensi artışı n(%)	EM'de sub- endotelial köpüksü materyal n(%)	EM'de endotelde fenestrasyo n kaybı n(%)	EM'de mezengiial interpozisyon n(%)	EM'de <i>ptcm</i> ≥1 n(%)*
<i>g</i>									
0	12 (52,2)	6 (26,1)	3 (13)	12 (52,2)	17 (73,9)	6 (26,1)	17 (73,9)	5 (21,7)	18 (78,3)
≥1	20 (90,9)	20 (90,9)	13 (59,1)	17 (77,3)	18 (81,8)	15 (68,2)	21 (95,5)	17 (77,3)	18 (81,8)
	<i>p</i> =0,004	<i>p</i> <0,000	<i>p</i> =0,001	<i>p</i> =0,079	<i>p</i> =0,722	<i>p</i> =0,005	<i>p</i> =0,096	<i>p</i> <0,000	<i>p</i> =1
<i>t</i>									
0	4 (100)	3 (75)	3 (75)	4 (100)	3 (76)	3 (75)	4 (100)	3 (75)	3 (75)
≥1	28 (68,3)	13 (56,1)	13 (31,7)	25 (61)	32 (78)	18 (43,9)	34 (82,9)	19 (46,3)	33 (80,5)
	<i>p</i> =0,308	<i>p</i> =0,627	<i>p</i> =0,121	<i>p</i> =0,281	<i>p</i> =1	<i>p</i> =0,326	<i>p</i> =1	<i>p</i> =0,346	<i>p</i> =1
<i>v</i>									
0	26 (68,4)	21 (55,3)	12 (31,6)	23 (60,5)	28 (73,7)	17 (44,7)	32 (84,2)	18 (47,4)	30 (78,9)
≥1	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	0
	<i>p</i> =1	<i>p</i> =0,449	<i>p</i> =0,117	<i>p</i> =0,519	<i>p</i> =1	<i>p</i> =0,219	<i>p</i> =1	<i>p</i> =0,487	<i>p</i> =0,231
<i>i</i>									
<2	18 (78,3)	14 (60,9)	10 (43,5)	15 (65,2)	19 /82,6)	12 (52,2)	22 (95,7)	14 (60,9)	22 (88)
≥2	14 (63,6)	12 (54,5)	6 (27,3)	14 (63,6)	16 (72,7)	9 (40,9)	16 (72,7)	8 (36,4)	14 (70)
	<i>p</i> =0,279	<i>p</i> =0,668	<i>p</i> =0,256	<i>p</i> =0,912	<i>p</i> =0,491	<i>p</i> =0,449	<i>p</i> =0,047	<i>p</i> =0,10	<i>p</i> =0,157
<i>ti</i>									
<2	10 (62,5)	6 (37,5)	3 (18,8)	9 (56,3)	12 (75)	5 (31,3)	14 (87,5)	6 (37,5)	17 (94,4)
≥2	22 (75,9)	20 (69)	13 (44,8)	20 (69)	23 (79,3)	16 (55,2)	24 (82,8=)	16 (55,2)	19 (70,4)
	<i>p</i> =0,494	<i>p</i> =0,041	<i>p</i> =0,08	<i>p</i> =0,394	<i>p</i> =0,726	<i>p</i> =0,124	<i>p</i> =1	<i>p</i> =0,256	<i>p</i> =0,064
<i>ah</i>									
0	12 (63,2)	9 (47,4)	6 (31,6)	12 (63,2)	16 (84,2)	5 (26,3)	16 (84,2)	8 (42,1)	16 (84,2)
≥1	20 (76,9)	17 (65,4)	10 (38,5)	17 (65,4)	19 (73,1)	16 (61,5)	22 (84,6)	14 (53,8)	20 (76,9)
	<i>p</i> =0,314	<i>p</i> =0,227	<i>p</i> =0,634	<i>p</i> =0,878	<i>p</i> =0,481	<i>p</i> =0,019	<i>p</i> =1	<i>p</i> =0,436	<i>p</i> =0,712

<i>mm</i>									
0	9 (64,3)	6 (42,9)	3 (21,4)	9 (64,3)	10 (71,4)	6 (42,9)	10 (71,4)	4 (28,6)	9 (69,2)
≥1	23 (74,2)	20 (64,5)	13 (41,9)	20 (64,5)	25 (80,6)	15 (48,4)	28 (90,3)	18 (58,1)	27 (84,4)
	p=0,502	p=0,173	p=0,313	p=1	p=0,7	p=0,731	p=0,180	p=0,067	p=0,411
<i>ptc</i>									
0	9 (64,3)	5 (35,7)	2 (14,3)	5 (35,7)	11 (78,6)	5 (35,7)	10 (71,4)	3 (21,4)	12 (85,7)
≥1	23 (74,2)	21 (67,7)	14 (45,2)	24 (77,4)	24 (77,4)	16 (51,6)	28 (90,3)	19 (61,3)	24 (77,4)
	p=0,502	<i>p=0,044</i>	p=0,09	<i>p=0,016</i>	p=1	p=0,322	p=0,180	<i>p=0,013</i>	p=0,698
<i>cg</i>									
0	17 (56,7)	11 (36,7)	5 (16,7)	16 (53,3)	22 (73,3)	11 (36,7)	24 (80)	8 (26,7)	21 (75)
≥1	15 (100)	15 (100)	11 (73,3)	13 (86,7)	13 (86,7)	10 (66,7)	14 (93,3)	14 (93,3)	15 (88,2)
	<i>p=0,002</i>	<i>p=0,000</i>	<i>p=0,000</i>	<i>p=0,028</i>	p=0,456	p=0,057	p=0,395	<i>p=0,000</i>	p=0,447
<i>ct</i>									
<2	21 (67,7)	15 (48,4)	8 (25,8)	19 (61,3)	23 (74,2)	13 (41,9)	24 (77,4)	11 (35,5)	25 (78,1)
≥2	11 (78,6)	11 (78,6)	8 (57,1)	10 (71,4)	12 (85,7)	8 (57,1)	14 (100)	11 (78,6)	11 (84,6)
	p=0,724	p=0,058	p=0,053	p=0,738	p=0,469	p=0,344	p=0,081	<i>p=0,007</i>	p=1
<i>ci</i>									
<2	22 (68,8)	16 (50)	8 (25)	20 (62,5)	23 (71,9)	13 (40,6)	25 (78,1)	12 (37,5)	26 (78,8)
≥2	10 (76,9)	10 (76,9)	8 (61,5)	9 (69,2)	12 (92,3)	8 (61,5)	13 (100)	10 (76,9)	10 (83,3)
	p=0,725	p=0,097	<i>p=0,037</i>	p=0,743	p=0,238	p=0,202	p=0,089	<i>p=0,016</i>	p=1
<i>cv</i>									
0	9 (60)	6 (40)	3 (20)	9 (60)	10 (66,7)	5 (33,3)	10 (66,7)	3 (20)	10 (71,4)
≥1	19 (76)	17 (68)	11 (44)	16 (64)	20 (80)	14 (56)	24 (96)	17 (68)	20 (80)
	p=0,311	p=0,083	p=0,123	p=0,80	p=0,457	p=0,165	<i>p=0,021</i>	<i>p=0,003</i>	p=0,696
<i>i-İFTA</i>									
<2	12 (80)	8 (53,3)	5 (33,3)	9 (60)	13 (86,7)	8 (53,3)	13 (86,7)	8 (53,3)	16 (100)
≥2	20 (66,7)	18 (60)	11 (36,7)	20 (66,7)	22 (73,3)	13 (43,4)	25 (83,3)	14 (46,7)	20 (69)
	p=0,492	p=0,670	p=0,826	p=0,660	p=0,456	p=0,526	p=1	p=0,673	<i>p=0,017</i>
<i>t-İFTA</i>									
<2	26 (70,3)	21 (56,8)	14 (37,8)	25 (67,6)	30 (81,1)	18 (48,6)	33 (89,2)	19 (51,4)	30 (78,9)
≥2	6 (75)	5 (62,5)	2 (25)	4 (50)	5 (62,5)	3 (37,5)	5 (62,5)	3 (37,5)	6 (85,7)
	p=1	p=1	p=0,691	p=0,427	p=0,349	p=0,705	p=0,094	p=0,699	p=1

* Anlamlı *p* değerleri italik ve kalın punto ile gösterilmiştir.

Banff lezyon skorları ile elektron mikroskopik parametreler arası korelasyon analizi sonuçları ise aşağıdaki tablodadır (Tablo 11).

Tablo 11. Işık mikroskopide değerlendirilen Banff lezyon skorları ile elektron mikroskopik parametreler arası korelasyon

[illegible]

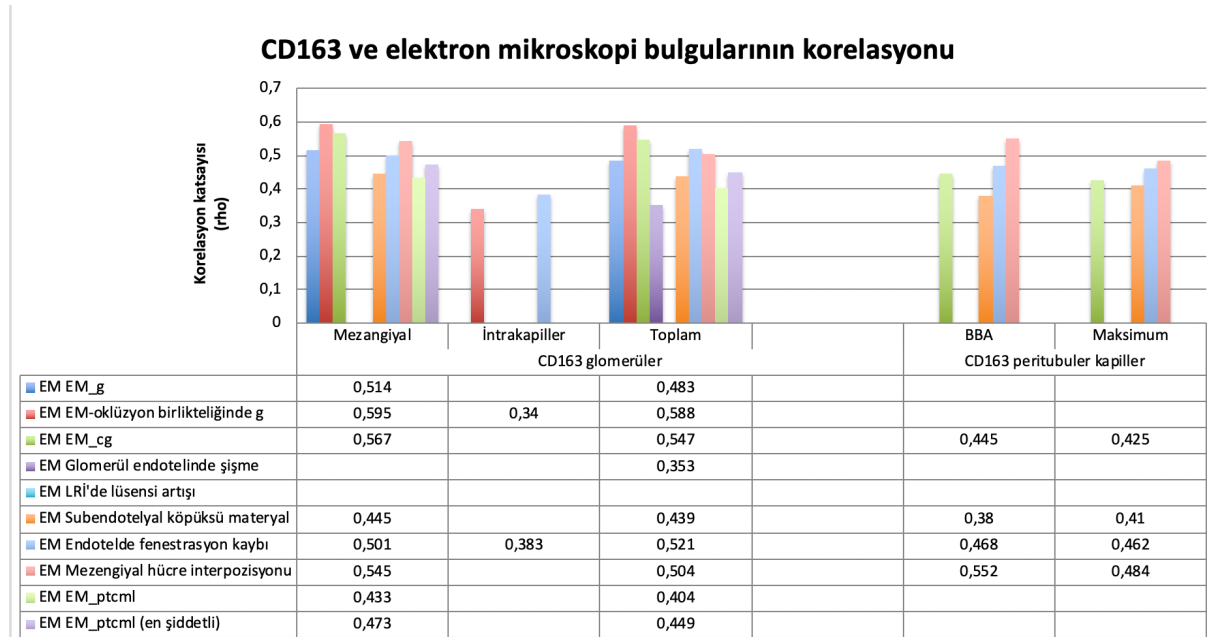
[illegible]

C4d										
rho değeri	0,251	0,417	0,308	0,216	0,131	0,189	0,406	0,535	0,423	0,374
p değeri	>0,05	0,004	0,039	>0,05	>0,05	>0,05	0,006	<0,001	0,004	0,011
n	45	45	45	45	45	45	45	45	45	45
ptcml										
rho değeri	0,448	0,433	0,287	-0,065	0,065	0,251	0,400	0,464	0,966	
p değeri	0,003	0,004	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	0,008	0,002	<0,001	
n	43	43	43	43	43	43	43	43	43	

* Anlamlı korelasyon saptanan ($\rho > 0,30$ ve $p < 0,05$ olan) olgular italik ve kalın punto ile gösterilmiştir.

Kısaltmalar: LRI, Lamina rara interna

Elektron mikroskopik parametrelerin CD163 pozitif hücre sayıları ile korelasyon analizlerinde elektron mikroskopide saptanan glomerülit ve oklüzyon eşliğinde glomerülit ile mezengiyal ve toplam CD163 pozitif hücre sayısı arasında; oklüzyon eşliğinde glomerülit ile ayrıca intrakapiller CD163 pozitif hücre sayısı arasında; elektron mikroskopide transplant glomerülopatisi ve subendotelial köpüksü materyal birikimi ile mezengiyal ve toplam CD163 pozitif hücre sayısı, peritubuler kapiller başına CD163 hücre sayısı ve peritubuler kapiller başına maksimum hücre sayısı arasında; endotelde fenestrasyon kaybı ile CD163 pozitifliği değerlendirilen tüm parametreler arasında değişken derecelerde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon izlendi (Şekil 11).



Şekil 11. CD163 pozitif hücre sayıları ile elektron mikroskopik parametrelerin korelasyonu

Işık mikroskopik olarak *cg* saptanmayan ancak elektron mikroskopide *cg* saptanan, Banff skorlama kriterlerine göre skor *cg1a* olarak tanımlanan erken transplant glomerülopatisi 5 olguda belirlendi. Bu olguların klinikopatolojik özelliklerine bakıldığında olguların 2'sinde biyopside AAR tanısı bulunduğu görüldü. Erken transplant glomerülopatisi saptanan bu 5 olguya ait detaylı veriler Tablo 12'de özetlenmiştir.

Tablo 12. Elektron mikroskopik erken transplant glomerülopatisi saptanan olgulara ait özellikler

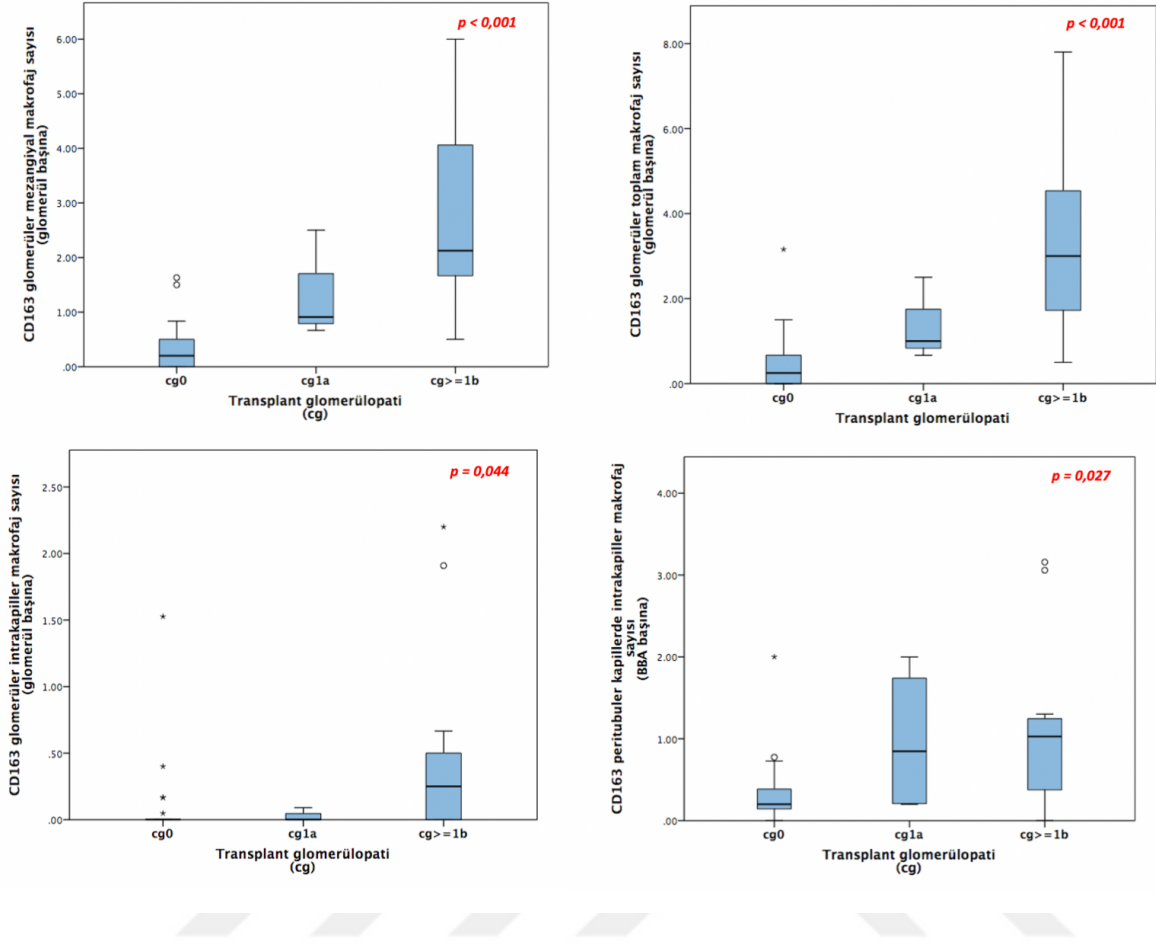
Vaka No	Yaş	Cinsiyet	g	ptc	C4d	Banff 2013 kriterlerine göre EM'de şiddetli ptcml	DSA	Tanı	Transplantasyon sonrası biyopsi zamanı (ay)	Takip süresi (ay)	Graft kaybı (ay)
78	13	Erkek	0	1	0		Negatif	Borderline değişiklikler	15	63	var
107	33	erkek	2	2	2	var		Kronik aktif AAR	80	5	yok
108	14	Erkek	3	2	0			Akut THAR (1a), kronik aktif THAR	62	2	var
152	18	Erkek	0	0	0		Negatif	IFTA	106	4	yok
158	17	Erkek	3	3	3			Akut THAR (2a), akut AAR	34	25	var

*Klinik ve patolojik verilerde eksikler bulunan olgularda ilgili verinin kutucuğu boş bırakılmıştır.

Kısaltmalar: THAR, T hücre aracılı rejeksiyon; AAR, antikor aracılı rejeksiyon; IFTA, interstisyel fibrozis ve tubuler atrofi

Elektron mikroskopik olarak *cg* lezyonu saptanan (*cg1a*), ışık mikroskopide *cg* lezyonu saptanan ($\geq cg1b$) ve *cg* lezyonu saptanmayan (*cg0*) olgular üç ayrı grup halinde CD163 pozitif hücre sayıları açısından karşılaştırıldı. Bu karşılaştırma sonucunda glomerül başına mezengiyal, intrakapiller ve toplam makrofaj sayısı, peritubulerlerde BBA başına intrakapiller CD163 pozitif makrofaj sayısı gruplar arasında anlamlı ölçüde yüksek bulundu (Şekil 12).

CD163 parametreleri içerisinde *cg* alt gruplarında yalnızca peritubuler kapiller intrakapiller maksimum makrofaj sayısı gruplar arası farklılık göstermedi ($p=0,063$).



Şekil 12. CD163 pozitif makrofaj sayısının *cg0*, *cg1a* ve *cg1b* grupları arasında karşılaştırılması

Elektron mikroskopik parametreler arasından elektron mikroskopik olarak glomerülit varlığı ve lamina rara internada lüsenzi artışı arasında CD56 interstisyel boyanması arasında ters bir ilişki bulundu. Elektron mikroskopik olarak glomerülit bulunan (%92,6'sında interstisyel olarak CD56 negatif) ve LRI lüsenzi artışı olan (%93,3'ünde interstisyel olarak CD56 negatif) biyopsilerde CD56 ile interstisyel alanda boyanma görülmedi ($p < 0,05$).

DSA verisi bulunan olgularda elektron mikroskopik bulgular ile DSA sonucu arasında ki korelasyon değerlendirildiğinde yalnızca en şiddetli multilamellasyon gösteren peritubuler kapillerdeki lamel sayısı ve Banff 2013 sınıflamasına göre *ptcml* skoru arasında korelasyon bulundu (ρ ve p değerleri sırasıyla: 0,658 ve 0,010; 0,523 ve 0,055).

Tanı alt gruplarında elektron mikroskopik olarak değerlendirilen parametreler arasındaki farkların sorgulandığı analiz sonuçları Tablo 13'te verilmiştir. Sonuç olarak oklüzyon eşlik eden glomerülit, sellüler interpozisyon, cg varlığı ve en az bir adet ≥ 5 multilamellasyon gösteren peritubuler kapiller varlığı parametreleri AAR grubunda, rejeksiyon dışı ve THAR gruplarına göre anlamlı bir şekilde daha yüksek oranda belirlendi ($p < 0,05$) (Şekil 13). Akut-kronik aktif AAR arasında elektron mikroskopik veriler açısından fark görülmezken, C4d negatif ve pozitif AAR grupları arasında en az bir adet ≥ 5 multilamellasyon gösteren peritubuler kapiller varlığı C4d pozitif grupta anlamlı derecede yüksek bulundu ($p = 0,024$) (%87,5 ve %30,8). Elektron mikroskopide değerlendirilen peritubuler kapiller bazal membranında en şiddetli multilamellasyon sayısı değerleri C4d pozitif ve C4d negatif AAR grupları arasında karşılaştırıldığında C4d pozitif AAR grubunda anlamlı olarak daha yüksek sayıda peritubuler kapiller multilamellasyonu belirlendi ($p = 0,036$) (sırasıyla $6,73 \pm 2,9$; $4,4 \pm 1,71$).

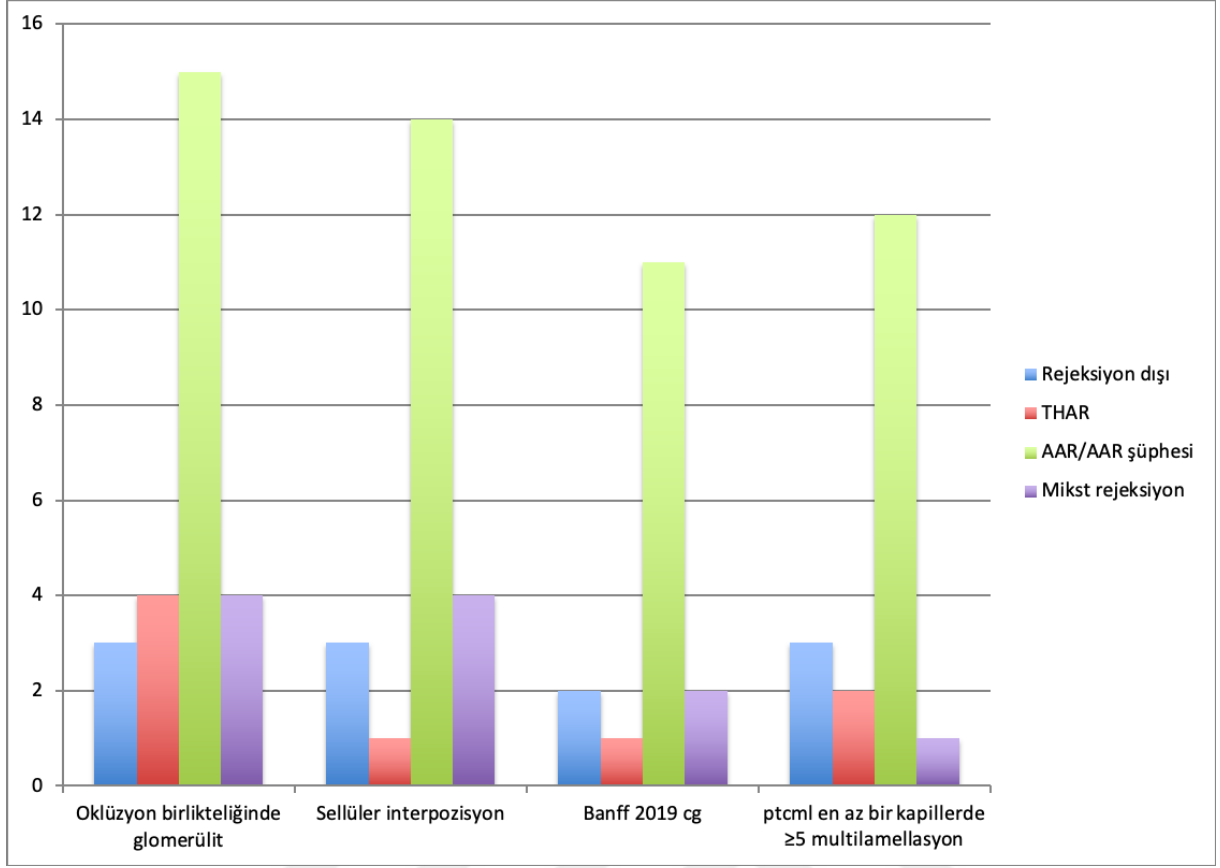
Tablo 13. Biyopsi tanı grupları arasında elektron mikroskopik bulguların farklılıklarının sorgulanma sonuçları

	Karşılaştırma Yapılan Tanı Alt Grupları			
	Rejeksiyon dışı ve THAR, AAR/AAR şüphesi ve mikst rejeksiyon n= 45	Akut ve mikst (akut-kronik) THAR* n=16	Akut ve kronik AAR/AAR şüphesi** n=20	C4d negatif ve C4d pozitif AAR/AAR şüphesi n=20
Glomerülit	0,057	1	0,079	1
Oklüzyon birlikteliğinde glomerülit	<0,001	0,569	0,079	1
Endotelde şişme	0,271	11	0,131	0,617
Lamina rara internada lusensi artışı	0,659	0,245	1	0,566
Subendotelial tüyümsü materyal	0,263	0,604	0,613	0,642
Endotelde fenestrasyon kaybı	0,133	0,507	0,655	0,92
Mezengiyal hücre interpozisyonu	<0,001	0,547	0,202	0,566
Transplant glomerülopatisi	0,004	1	0,161	1
<i>ptcml</i>	0,176	0,396	1	0,149
≥1 adet ≥5multilamellasyon gösteren peritubuler kapiller varlığı	0,03	1	0,325	0,08
≥1 adet ≥5multilamellasyon gösteren peritubuler kapiller varlığı	0,084	1	0,606	0,024

* Kronik THAR grubundaki 6 biyopside elektron mikroskopik değerlendirme bulunmadığından karşılaştırma akut ve mikst akut-kronik THAR grupları arasında yapılmıştır.

** AAR/AAR şüphesi tanı olgularda kronik AAR ile uyumlu yalnızca bir biyopsi bulunduğundan analizlere bu olgu katılmamıştır.

*** Anlamlı p değerleri italik ve kalın punto ile gösterilmiştir.



Şekil 13. Tanı alt gruplarına göre anlamlı farklılık gösteren elektron mikroskopik parametreler

IV. Olguların Klinik Seyri ve Prognoz Özellikleri

Klinik takip verileri 68 hastada elde edildi. Biyopsi sonrası takip süresi 0 ile 93 ay arasında değişmekte idi (medyan= 25). Graft kaybı 33 (%48,5) hastada izlendi.

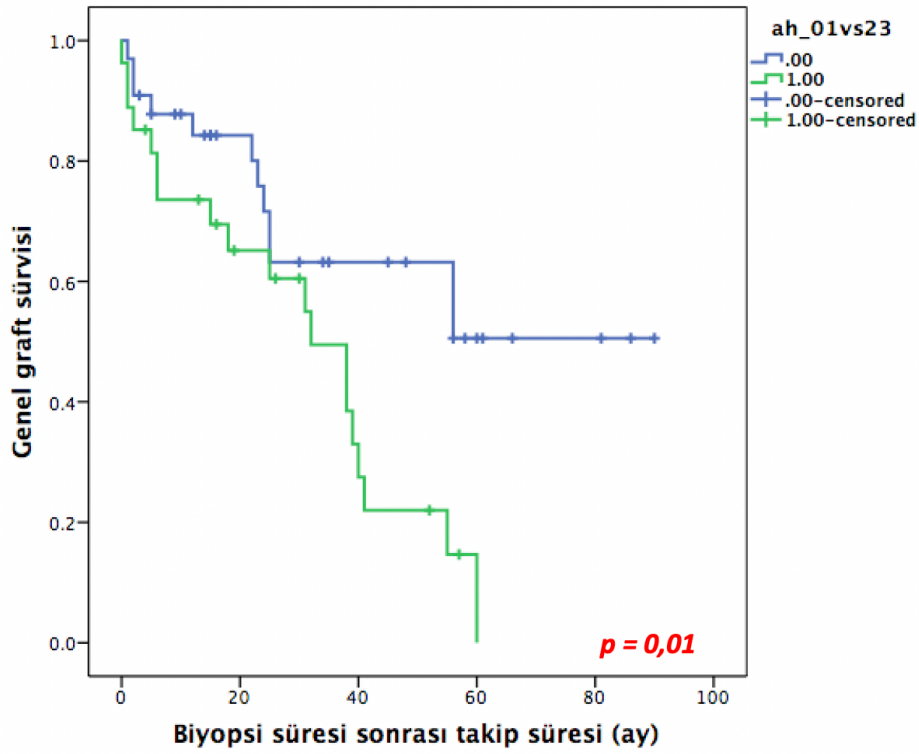
Morfoloji, immünohistokimya ve elektron mikroskopik verilerin prognostik önemi araştırıldı. Elektron mikroskopi verisi ve klinik takip verisi bulunan hasta sayısı az sayıda olduğundan prognostik analiz elektron mikroskopik veriler için gerçekleştirilemedi.

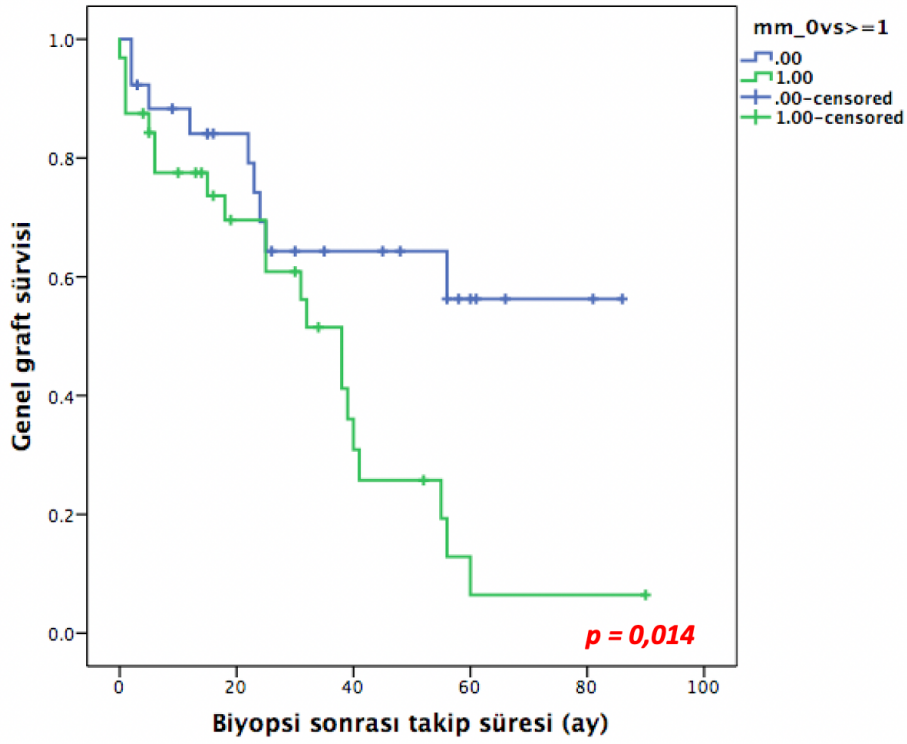
Banff lezyon skorlarının graft kaybı üzerine etkisi incelendiğinde *t*, *v*, *g*, *ptc*, *C4d*, *ct*, *ci*, *cv*, *cg*, *ptcml*, *ti*, *i-IFTA*, *t-IFTA* skorları açısından prognostik farklılık görülmedi ($p > 0,05$). Buna karşın *ah*, *mm* ve *i* skorlarının graft kaybı izlenen hastalarda daha yüksek olduğu görüldü ($p < 0,05$). Bu verilere ait detaylı sonuçlar Tablo 14’te verilmiştir.

Tablo 14. Banff lezyon skorları *i*, *ah* ve *mm* ile graft kaybı ilişkisi

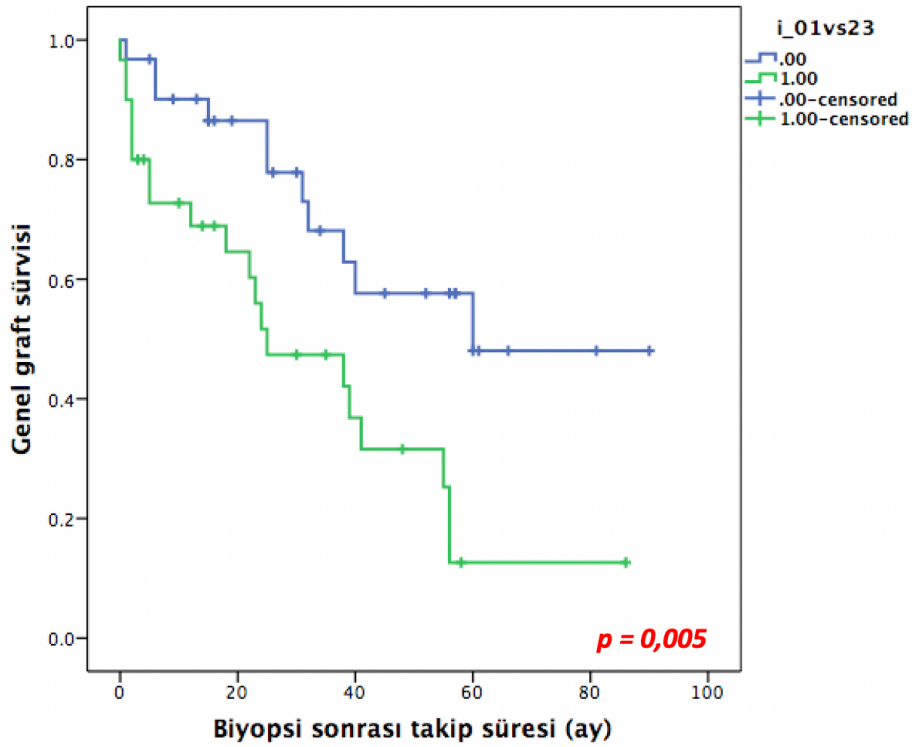
	Graft kaybı izlenme oranı		Odds oranı (%95 güven aralığı)
	n (%)	<i>p</i> *	
İnterstisyel inflamasyon (<i>i</i>)			
<2	11 (35,5)	0,015	3,64 [1,26-10,47]
≥2	20 (66,7)		
Arteriolar hiyalinizasyon (<i>ah</i>)			
<2	12 (36,4)	0,008	4,16 [1,4-12,35]
≥2	19 (70,4)		
Mezengiyal matriks artışı (<i>mm</i>)			
<1	9 (34,6)	0,019	3,61 [1,21-10,71]
≥1	21 (65,6)		

Graft sağ kalımı üzerine etkili olduğu görülen yukarıda belirtilen Banff skorları ile ilgili Kaplan-Meier grafikleri Şekil 14-16'de gösterilmektedir.

**Şekil 14.** Banff lezyon skoru *ah*'nin graft sağ kalımı ile ilişkisi

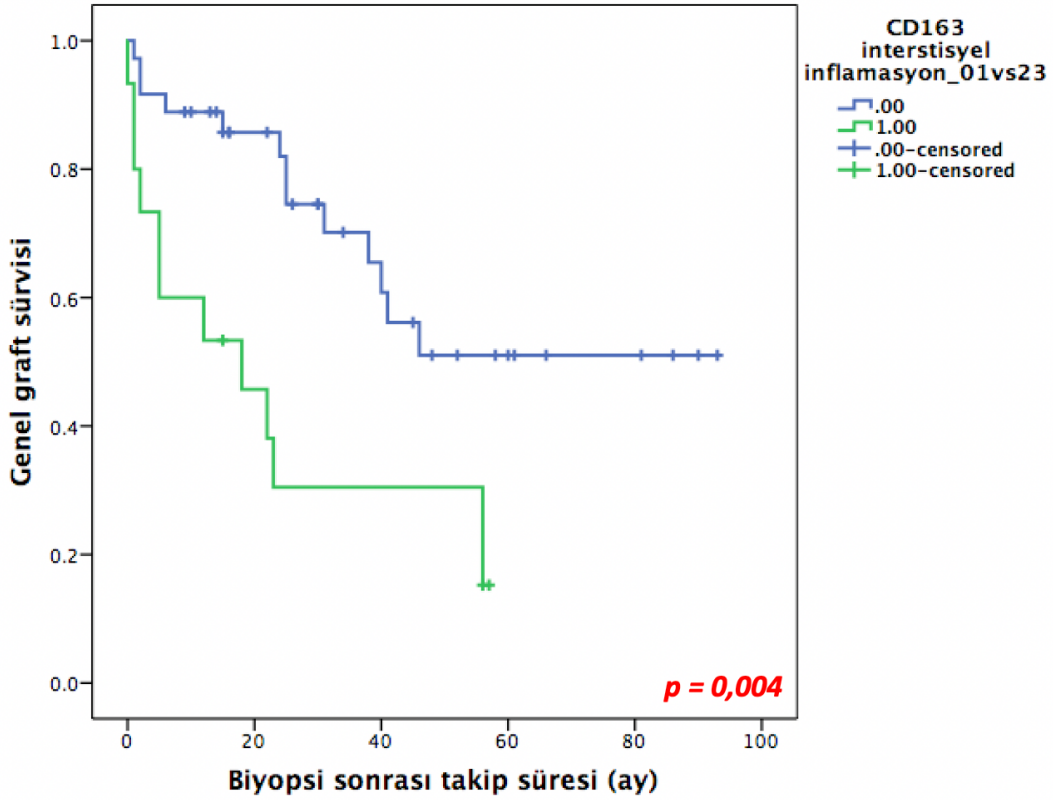


Şekil 15. Banff lezyon skoru *mm*'nin graft sağ kalımı ile ilişkisi



Şekil 16. Banff lezyon skoru *i*'nin graft sağ kalımı ile ilişkisi

CD163 immünohistokimyası ile değerlendirilen interstisyel, mezengiyal ve intrakapiller makrofaj sayısı ile graft sağ kalımı arasındaki ilişki değerlendirildiğinde yalnızca interstisyel inflamasyondaki CD163 pozitivite skoru ile graft sağ kalımı arasında anlamlı ilişki bulundu ($p < 0.05$). İnterstisyel inflamasyon skoru 2-3 olan olgularda graft kaybı, skor 0-1 olan olgulara kıyasla daha yüksek bulundu ($p = 0.04$) (%80 ve %36,1) (Odds oranı: 7,08 [1,68-29,76]) (Şekil 17).



Şekil 17. CD163 pozitif interstisyel inflamatuvar hücre skoru'nun graft sağ kalımı ile ilişkisi

Graft sağkalımı açısından interstisyel, glomerüler ve peritubuler kapiller CD56 boyanması yönünden herhangi bir farklılık saptanmadı ($p > 0.05$).

Prognoz üzerinde etkili olduğu saptanan bu parametrelerden Cox orantılı tehlikeler varsayımını sağlayanlar çoklu değişkenli modele konularak analizler gerçekleştirildi. Sonuçlar aşağıdaki tabloda gösterilmektedir (Tablo 15).

Tablo 15. Prognoz üzerine etkili parametrelerin Cox orantılı tehlikeler modeline göre graft kaybı üzerine etkisi

	HR [%95 güven aralığı]	P değeri
CD163-interstisyel inflamasyon skoru (01 vs 23)	2,57 [1,07-6,19]	0,036
İnterstisyel inflamasyon (i) (01 vs 23)	4,13 [1,41-12,12]	0,01
Transplantasyon sonrası biyopsi zamanına kadar geçen zaman (ay)	1,01 [1-1,01]	0,004

HR: tehlike oranı

Tanı kategorileri arasında (rejeksiyon dışı, AAR/AAR şüphesi, THAR, mikst rejeksiyon) graft sağ kalımı verileri değerlendirildiğinde dört tanı kategorisi grupları arasında graft sağ kalımı açısından anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). THAR tanı grubunda akut ve kronik THAR alt grupları ve AAR/AAR şüphesi tanı grubu içerisinde akut ve kronik aktif AAR ile C4d pozitif ve C4d negatif AAR alt grupları graft sağ kalımları açısından birbirleri ile karşılaştırıldığında da gruplar arası anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

BÖLÜM V

TARTIŞMA

Son dönem böbrek hasarının primer tedavi yöntemi böbrek transplantasyonudur. Bu tedavi sürecinin yönetiminde rejeksiyon tanı ve tedavisi hayati önem taşımaktadır. Çalışmamızda 85 böbrek transplantı hastasına ait 56'sı (%36) AAR ve AAR şüphesi, 38'i (%24) THAR, 32'si (%20) mikst rejeksiyon ve 31'inde (%20) rejeksiyon dışı tanı alan toplam 161 adet biyopsi değerlendirilerek elde edilen immünohistokimyasal ve elektron mikroskopik inceleme sonuçları ile histopatolojik ve klinik parametrelerin ilişkisini araştırdık.

Çalışmamızda yer alan olguların yaş ortalaması 34 olup %80 canlı %20 kadavra nakli söz konusudur. Bu durum uluslararası literatüre göre farklılık göstermekte olup ülkemizde kadavra nakillerinin istenen düzeyde gerçekleştirilemediği gerçeğini doğrulamaktadır (59, 60).

Çalışma grubumuzu oluşturan rejeksiyon olgularının alt tipleri arasında Banff lezyon skorlarının şiddetlerinin rejeksiyon alt tiplerinde farklılık gösterdiğini belirledik. Banff lezyonlarından *t* skoru mikst THAR'de en yüksek iken, *ci*, *ct* ve *t-İFTA* skorları kronik aktif THAR'de en yüksek bulundu. Banff lezyonlarından *i-İFTA* ve *ti* ise mikst THAR'de akut THAR'ye göre daha yüksek bulundu. Bu sonuç irdelendiğinde akut ve kronik komponenti birlikte bulunan THAR'lerde *t* ve *ti* gibi aktif inflamatuvar lezyonların yalın akut formlara göre daha şiddetli olduğu görülmektedir. Bu olgularda aktif inflamasyona eşlik eden kronisite bulgularının da kronik aktif THAR'de şiddetli olarak görülmesi graftta oluşan hasarın birbirini takip eden süreçlerin bir sonucu olduğu fikrini düşündürmektedir.

Literatürde indikasyon ve protokol biyopsileri üzerinde yapılan çalışmaların kanıtlarına bakıldığında THAR için bu tezimizin doğruluğu görülmektedir (61). T hücre aracılı immün hasarda *i-İFTA*'nın aktif ve kronik THAR arasında bir geçiş lezyonu olduğunu göstermişlerdir. Yine benzer bir çalışmada *i-İFTA* ile *ci*, *ct*, *i* ve *t-İFTA* arasında korelasyon varlığı kanıtlanmıştır (62). Bizim çalışmamızda aktif lezyonların daha şiddetli olması grafttaki hasarın da daha şiddetli olmasına ve bu nedenle bu biyopsilerde kronisite bulgularının da daha yüksek olarak saptanmasının sonucu olabileceği yorumlanmıştır.

Çalışmamızda C4d pozitif ve C4d negatif AAR alt gruplarına bakıldığında kronik vasküler lezyonların C4d pozitif AAR'lerde daha ileri evrede olduğu belirlenmiştir. *cv*, *cg* ve *ah* lezyon skorlarının ortalaması C4d pozitif AAR'de C4d negatif AAR'ye kıyasla daha yüksektir. Her üç lezyon da vasküler yapılar ile ilişkili olup, arteriyel, arteriyoller ve

glomerüller kapillerleri ilgilendirmektedir. Transplant glomerülopatinin AAR ile ilişkisi çok açıktır (48, 63, 64). Fibröz intimal kalınlaşmanın da yaklaşık %50'sinin AAR ile ilişkili olduğu bilinmektedir (65). C4d pozitif AAR'lerde bu lezyonların daha şiddetli oluşları bu rejeksiyon tipinde endotel hasarının C4d negatif gruba göre daha ağır bir hasar oluşturduğunu düşündürebilir. C4d pozitif AAR'nin *g* ve *ptc* gibi aktif lezyonlar açısından birbirlerinden farklı olmadıkları ancak *cg*, *cv*, *ci* ve *ct* gibi kronik lezyonlar açısından C4d pozitif AAR'nin C4d negatif AAR'ye göre daha ağır seyrettiği gösterilmiştir (66). Endotel hasarı varlığının çeşitli büyüme faktörleri ve sitokinlerin salınması ile fibrotik ve proliferatif bazı mekanizmaları devreye sokarak kronik lezyonların oluşmasını sağladığı bilinmektedir (67).

Banff lezyonlarının birbirleri ile korelasyonu analizine baktığımızda AAR ve THAR rejeksiyon tanıları altında tanımlanan Banff lezyonlarının her bir tanı kategorisi içinde birbirleri ile korele oldukları görüldü. Diğer bir söylemle AAR tanısı için kullanılan *g*, *ptc*, *cg* ve *ptcml* lezyonları birbirleri ile; THAR tanısı için gerekli *i*, *t*, *ti*, *i-İFTA* ve *t-İFTA* birbirleri ile koreledir. Ayrıca kronik aktif lezyonlar olarak kabul edilen *i-İFTA* ve *t-İFTA*; *t*, *i* ve *ti* gibi aktif lezyonlar ile ve *ci*, *ct* gibi kronik lezyonlar ile koreledir. Bu bulgularımız THAR'de tubulointerstisyel inflamasyonun, AAR'de mikrovasküler inflamasyonun birbirleri ile paralel yer aldığını göstermektedir. Aktif tubulointerstisyel inflamasyon ile *ci* ve *ct* korelasyonu da yukarıda bahsettiğimiz şekilde inflamatuvar süreçlerin fibrotik süreçlerin tetikleyicisi olduğunu ve graft kaybına giden süreci şekillendirdiğini desteklemektedir.

Olguların klinik seyir özellikleri değerlendirildiğinde Banff lezyonları içerisinde *ah*, *mm* ve *i* skorlarının yüksek olmasının graft kaybı ile anlamlı ölçüde ilişkili olduğunu saptadık. Bu bulgumuz literatürdeki benzer çalışmalar ile karşılaştırıldığında serilere göre farklı lezyonlar prognostik anlamda ön plana çıkmaktadır (68-70). Örneğin, Sablik ve arkadaşlarının çalışmasında *ti* ve *ci* skorları ile graft sağkalımı arasında anlamlı ilişki gösterilmiştir (71). Ancak bahsedilen bu çalışmada olguların tamamı kronik aktif AAR tanı kategorisine dahil olup bu farklılık göz önüne alınmalıdır. Vurgulanabilecek diğer bir nokta da bizim serimizin büyük çoğunluğunun posttransplant 1. yıldan daha geç biyopsiler olması ve bu nedenle zeminde kronik değişikliklerin yer almasıdır. Bu nedenle prognostik analizlerde serimizde graft sağ kalımına etkisini gösteremediğimiz özellikle *ci* ve *ct* gibi lezyon skorlarının benzer olduğu düşünülmüştür. Çalışmamızda graft sağ kalımına etkisi olduğunu bulduğumuz Banff lezyonlarından *ah* ve *mm* kronik, *i* ise aktif lezyonlar arasında yer almaktadır. Literatürdeki serilerde çalışmalara dahil edilen olguların DSA, C4d, biyopsi zamanı ve merkezler arası

tedavi farklılıkları gibi çeşitli faktörlerden etkilenmesine bağlı olarak farklı sonuçların elde edilmesi kaçınılmazdır.

AAR olgularında inflamatuvar infiltrasyon oluşturan hücre alt tipleri son yıllarda çeşitli çalışmalarda üzerinde durulan bir konudur. Bu amaçla özellikle son yıllarda böbrek transplant biyopsilerinde inflamatuvar hücre infiltrasyonunda T hücre, B hücre ve makrofaj alt tiplerini, immünohistokimya, immüno floresan veya moleküler yöntemler ile araştıran çeşitli çalışmalar yayınlanmıştır (41-45).

Çalışmamızda CD163 ekspresyonu ile Banff lezyon skorları arasındaki ilişki değerlendirildiğinde *g*, *cg* ve *ptc* ile CD163 arasında korelasyon saptanmıştır. Shin ve arkadaşları benzer şekilde CD163 pozitif makrofajların Banff lezyon skorları ile ilişkisini araştırdıkları çalışmalarında Banff lezyonları *i*, *t* ve *ptc* ile CD163 pozitif hücre sayısı arasında ilişki saptamışlardır (41).

Çalışmamızda CD163 pozitif inflamatuvar hücre infiltrasyonu ile rejeksiyon alt grupları arasındaki ilişki saptanmamıştır. Literatürde bizim sonuçlarımız ile çelişen iki ayrı çalışma bulunmaktadır. Bu iki çalışmada C4d pozitif AAR'de C4d negatif AAR'ye kıyasla glomerül ve peritubuler kapiller başına saptanan CD163 pozitif hücre sayısı yüksek saptanmıştır (72, 73). Araştırmacılar bu sonuçlarından yola çıkarak C4d pozitif AAR'de rol oynayan hücrelerin makrofajlar olduğunu, C4d negatif AAR'de ise glomerülit ve peritubuler kapilleriti oluşturan hücrelerin T hücreleri olduğunu belirtmektedirler. Bizim çalışmamızda C4d negatif ve pozitif AAR'ler arasında böyle bir sonuç elde edilememiştir.

Çeşitli çalışmalarda makrofajların hem inflamatuvar yanıtı uyarıcı etkileri yanısıra baskılayıcı etkileri olabileceği belirtilmektedir (74, 75). Bu farklı durumun monosit/makrofajların sadece varlıkları değil fonksiyonel özellikleri tarafından belirlendiği ve bu etkilerin de zamanla değişebildiği gösterilmiştir (76).

Çalışmamızda CD163 pozitif hücrelerin interstisyumda belirgin olarak bulunduğu biyopsilerde tubuler atrofi ve interstisyel fibrozis skorları daha düşüktür. Çoğunluğu geç dönemde yapılmış biyopsilerden oluşan serimizde fibrotik lezyon skorlarının CD163 pozitifliği görülen biyopsilerde daha düşük olması monosit/makrofajların protektif etkisini akla getirmektedir. Ancak graft sağ kalım analizleri ile CD163 immünohistokimyasal boyanma sonuçları değerlendirildiğinde glomerül ve peritubuler kapillerlerde saptanan CD163 pozitif hücrelerin graft sağ kalımı ile ilişkisi bulunmazken, interstisyel alandaki CD163 pozitif inflamatuvar infiltrasyonu yüksekliğinin graft sağ kalımını olumsuz yönde etkilediğini

saptadık. Sablik ve arkadaşları çok yakında yayınladıkları çalışmalarında kronik aktif AAR olgularında glomerüler CD163 pozitif makrofajların graft sağ kalımı üzerine etkisiz olduğunu, ancak interstisyumda yer alan CD163 pozitif inflamatuvar infiltrasyonun graft sağ kalımı ile olumsuz yönde ilişki gösterdiğini belirtmişlerdir. Bu bulgumuz güncel literatür bilgileri ile uyumludur (42). Yukarıda bahsettiğimiz kısmen çelişen sonuçlarımızın irdelenmesi amacıyla alt grup analizleri gerekmektedir. Çalışmamızda olgu sayılarımızın alt gruplarda kısıtlılığı güvenilir bir sonuç için engel teşkil etmektedir.

Literatürde NK hücrelerinin AAR patogenezi ve graft kaybında merkezi rol oynadığını gösteren çalışmalar mevcuttur. RNA transkript analizleri ile gerçekleştirilen bir çalışmada AAR olgularında THAR ve rejeksiyon dışı tanı gruplarına kıyasla anlamlı oranda artmış olduğu ve graft kaybının önemli bir prediktörü olduğu ortaya konmuştur (44). Shin ve arkadaşları çalışmalarında immünohistokimyasal yöntemle benzer sonuçlar ortaya koymuşlardır (41). Yakın zamanda yayımlanan bir diğer çalışmada da allograft rejeksiyonu bulunan biyopsilerde, immünohistokimyasal yöntem ile stabil graft fonksiyonu gösteren biyopsilere kıyasla fazla sayıda CD56 pozitif NK hücreleri olduğunu saptanmıştır (43). Yung ve arkadaşları (46) ise immünohistokimyasal yöntemle CD3 negatif, CD56 pozitif NK hücrelerinin AAR olgularında THAR ve rejeksiyon dışı alt gruplara göre anlamlı oranda yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır. Ancak, bu bulgunun aksi yönünde sonuç veren çalışmalar da mevcuttur. Örneğin Sablik ve arkadaşlarının yakın zamanlı çalışmasında (42) kronik aktif AAR vakalarında immunfloresan mikroskopik inceleme yöntemi ile gerçekleştirdikleri çalışmada glomerüllerde ve tubulointerstisyel alanda NK hücre sayısının (CD57+/CD3+veCD57+) oldukça az miktarda olduğunu saptamış; vakaların %40'ında pozitiflik gösteren hücre tespit etmemişlerdir. Bizim çalışmamızda da immünohistokimyasal yöntem ile ve CD56 antikoru ile NK hücreleri araştırılmış ve olguların çoğunda CD56 pozitif hücre tespit edilmezken, rejeksiyon tipleri arasında CD56 pozitif hücre infiltrasyonu arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Böbrek transplant biyopsilerinde rejeksiyon patogenezinde ortaya çıkan elektron mikroskopik bulguların varlığı ve potansiyel rolü uzun yıllardır bilinen ve araştırılan bir konudur. Bu lezyonlar AAR'de glomerül ve peritubuler kapiller endotel hücrelerinde meydana gelen endotel aktivasyon bulguları ve bu aktivasyon sonucu ortaya çıkan lezyonlar olarak özetlenebilir (48).

Glomerüllerde görülen bazal membran duplikasyonu, mezengiyal interpozisyon, subendotelyal elektron lusen genişleme ve köpüksü materyal birikimi, peritubuler kapiller

bazal membranlarında multilamellasyon çeşitli çalışmalarda transplant glomerülopatisinde gözlenen ultrastrüktürel bulgular olarak ortaya konmuştur (50, 52-56).

Wawamuno ve ark. (48) vakuolizasyon, hipertrofi, serrasyon ve lamina rara internada genişleme gibi glomerüler endotel aktivasyon bulgularını transplant glomerülopatisi öncesi gelişen erken lezyonlar olarak tanımlamışlardır. Bu lezyonların transplant sonrası yaklaşık 39 günde geliştiğini bildirerek, bir ay kadar erken dönemde ultrastrüktürel değişikliklerin elektron mikroskopi ile gösterilebileceğini, endotel hasarının transplantasyon sonrası erken dönemde subklinik düzeyde başladığını göstermişlerdir. Aynı çalışmada lamina rara internada lusensi artışı ve subendotelyal genişleme transplant glomerülopatisinde kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuş; endotel fenestrasyonu ise kontrol grubunda transplant glomerülopati grubuna göre anlamlı oranda daha yüksek bulunmuştur. Peritubuler kapillerlerde endotel hücre aktivasyonun göstergesi olarak peritubuler kapiller bazal membran multilamellasyonu değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda yer alan olgulardan, 33 hastaya ait değerlendirmeye uygun 45 biyopsinin tamamında transplant glomerülopatisi ve AAR için tanımlanan elektron mikroskopik bulgular çeşitli oranlarda (%17,8-84,4) tespit edilmiştir.

Olgularımızda saptadığımız elektron mikroskopik değişiklikleri tanı alt gruplarına göre karşılaştırmalı olarak değerlendirdiğimizde ise oklüzyon eşlik eden glomerülit, mezengiyal hücre interpozisyonu, Banff 2019 kriterlerine göre *cg* varlığı ve en az bir adet ≥ 5 multilamellasyon gösteren peritubuler kapiller varlığı parametrelerinin AAR grubunda, rejeksiyon dışı ve THAR gruplarına göre anlamlı bir şekilde daha yüksek olduğunu belirledik. Benzer şekilde Haas ve arkadaşları bir çalışmalarında endotel hücrelerinde şişme, subendotelyal genişleme, bazal membran duplikasyonu bulgularını transplant glomerülopatisinin erken lezyonları olarak tanımlamış ve toplam 33 AMR olgusunun 19'unda bu bulguların her üçünü de saptadıklarını belirtmişlerdir. Altmış beş adet rejeksiyon dışı olgunun ise hiçbirinde bu lezyonları saptamamışlardır (77).

Elektron mikroskopik değişiklikleri rejeksiyon alt gruplarına göre incelediğimizde ise bizim çalışmamızda akut ve kronik aktif AAR arasında elektron mikroskopik veriler açısından fark saptamadık. Ancak, C4d negatif ve pozitif AAR grupları arasında, C4d pozitif grupta en az bir adet ≥ 5 multilamellasyon gösteren peritubuler kapiller varlığının anlamlı oranda yüksek olduğunu saptadık. Elektron mikroskopide değerlendirilen peritubuler kapiller bazal membranında en şiddetli multilamellasyon sayısı değerleri de yine her iki grup arasında

karşılaştırıldığında C4d pozitif AAR grubunda anlamlı olarak daha yüksek olduğunu gösterdik. C4d pozitif AAR'de kronik vasküler lezyonların (*cg*, *cv*, *ah*) daha şiddetli olması ile benzer şekilde *ptcml*'nin de şiddetli olması bu AAR grubunun C4d negatif olana göre daha ağır bir tablo oluşturarak kronik graft hasarına yol açtığını düşündürülebilir.

Peritubuler kapiller bazal membran multilamellasyonu değerlendirmesi ile ilgili literatür sonuçları görece çelişkili sonuçlanmıştır. Peritubuler kapiller bazal membran multilamellasyonunun kronik AAR'nin bir komponenti olduğu gösterilmiştir (56, 57, 78-81). Önceki çalışmalarda peritubuler kapiller bazal membranında orta ve ciddi (≥ 7) tabaka sayısı kronik rejeksiyon ile ilişkilendirilmiş (82), ancak Wawamuno ve arkadaşları mevcut çalışmalarında 3-4 tabaka izlenen multilamellasyonun transplant glomerülopatisi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde farklı olduğunu ortaya atarak bu hastaların kronik AAR ve DSA açısından araştırılmasını önermişlerdir. Bu görüşün aksine peritubuler kapiller bazal membran multilamellasyonunun spesifik olmadığını, yalnızca şiddetli multilamellasyonun AAR ve kombine rejeksiyon gruplarında anlamlı olarak daha fazla oranda görüldüğünü, hafif düzeyde multilamellasyon bulgusunun ise nativ böbreklerde dahi görülebileceğini gösteren çalışmalar da yayınlanmıştır (83).

Değişken literatür bulgularının bir sonucu olarak çeşitli araştırmacılar tarafından raporlamada en çok etkilenen kapillerdeki lamellasyon sayısının belirtilmesi, ≥ 5 üzerinde multilamellasyon gösteren kapiller sayısının belirtilmesi, ≥ 5 üzerinde multilamellasyon gösteren en az 3 kapiller sayısının belirtilmesi gibi öneriler ortaya atılmıştır (50, 84-86). Akademik tartışmaların sonucunda güncel Banff sınıflamasında kronik aktif AAR tanısında doku hasarı kriterlerinden biri olarak şiddetli *ptcml* yerini korumakta ve bir kapillerde ≥ 7 ve iki kapillerde ≥ 5 tabaka düzeyinde multilamellasyon olarak tanımlanmaktadır. Çalışmamızın retrospektif dizaynı gereği her olguda 10 ptc değerlendirilemediğinden bu kriterin güvenilirliği olgularımız üzerinde test edilememiştir.

Banff 2013 kriterlerinde kronik aktif AAR tanısı için bir adet ≥ 7 ve iki adet ≥ 5 lamellasyon gösteren peritubuler kapiller varlığı kriteri çalışmamızdaki veriler eşliğinde düşürülebilir. Sonuçlarımızdan görüldüğü gibi en az bir tane ≥ 5 lamellasyon gösteren peritubuler kapiller varlığı C4d pozitifliği ile korele olup antikör aracılı hasara işaret etmektedir. Elektron mikroskopinin rutin uygulamalarında her biyopside en az 10 peritubuler kapiller bulabilmek ve bunları değerlendirmek güçtür. Bu nedenle grid üzerinde kabaca bir tarama yapıp en şiddetli tutulmuş kapilleri bulup en az 5 tabaka saymak kronik aktif AAR tanısı için ışık mikroskopik veriler eşliğinde yeterli olabilir.

Banff lezyon skorları ile elektron mikroskopik olarak değerlendirilen parametreler arasındaki korelasyon değerlendirmelerinde Banff lezyon skoru *g* ile elektron mikroskopide en şiddetli peritubuler kapiller bazal membran multilamellasyonu ve *ptcml* skoru arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Banff lezyon skoru *ptc* ile bu parametreler arasında ise korelasyon saptanmamıştır. Benzer şekilde *ptc* varlığı ile *ptcml* arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Liapis ve arkadaşları (83) grad 2 ve grad 1 *ptc* lezyonu ile *ptcml* arasında anlamlı farklılık gösterdikleri yayınlarında bizim bulgularımız ile benzer şekilde *ptc* ve *ptcml* lezyonlarının spesifik olmadıkları, yalnızca şiddetki *ptcml*'nin AAR için belirleyici olduğu görüşünü desteklemişlerdir.

Elektron mikroskopik lezyonlar ile DSA sonuçları arasındaki korelasyonu değerlendirdiğimizde en şiddetli multilamellasyon gösteren peritubuler kapillerdeki lamel sayısı ve Banff 2013 sınıflamasına göre *ptcml* skoru (0-3) parametreleri arasında korelasyon saptadık. Bu sonuç literatürde şiddetli *ptcml* lezyonun DSA düzeyi ile korelasyonunu ortaya koyan çeşitli çalışmalar ile uyum göstermektedir (50, 78, 87-90).

C4d pozitifliği ile elektron mikroskopik lezyonlar arasındaki korelasyonu değerlendirdiğimizde de Banff 2019 sınıflamasına göre elektron mikroskopide transplant glomerülopatisi varlığı, oklüzyon eşliğinde glomerülit, endotelde fenestrasyon kaybı, skor ≥ 2 *ptcml* ve en şiddetli multilamellasyon gösteren peritubuler kapillerdeki lamel sayısı gibi endotel aktivasyonu ile ilişkili lezyonlar arasında C4d pozitifliği arasında anlamlı korelasyon saptadık. Bu sonucumuz Wawamuno ve arkadaşlarının peritubuler kapillerlerde C4d birikimi ile endotel anomalileri arasında korelasyon gösteren çalışması ile uyumludur (48). Ancak, bir diğer çalışmada elektron mikroskopide transplant glomerülopatisi ile C4d varlığı arasında ilişki gösterilememiştir (77).

Özetle çeşitli çalışmalarda, glomerül ve peritubuler kapillerler arasında gösterilen ultrastrüktürel ortak bulgular patofizyolojik mikrovasküler yanıtın, global düzeyde oluşturduğu endotel hasarının bir göstergesi olarak kabul edilmiştir (78).

Elektron mikroskopik düzeyde saptanan erken transplant glomerülopatisi bulguları çeşitli çalışmalarda tanımlanmış olup (48) bizim çalışma grubumuzda da ışık mikroskopik olarak *cg* saptanmayan ancak elektron mikroskopik incelemede *cgl1a* grubunda tanımlanan beş olgumuz bulunmaktadır. Bu olguların üçünde graft kaybı gözlenmiş, biyopsi tanıları graft kaybı gösteren bu olguların ikisinde AAR tanısını atlamıştır. Az sayıda olgu için değişiklik arz etse de elektron mikroskopik incelemenin önemi görünmektedir. Bu üç olguda AAR

tedavisi verilmesi graft kaybını geciktirebilir miydi sorusunun yanıtı veri eksikliği nedeni ile kesin olarak belirlenemese de erken kronik lezyonların saptanması açısından elektron mikroskopisinin önemi göz önünde bulundurulmalıdır. Literatürde 2007 yılında gerçekleştirilen bir anket çalışmasında elektron mikroskopik inceleme imkanı bulunan laboratuvarların %75'inde klinik ön tanıya dayanarak elektron mikroskopik inceleme için doku ayrılması kararının verildiği, merkezlerin yalnızca %22'sinde tüm transplant böbrek biyopsilerden elektron mikroskopik inceleme için doku örneği ayrıldığı tespit edilmiştir (91). Elektron mikroskopik inceleme sıklıkla glomerüler hastalıkların tanısı için tercih edilmekte olup glomerüler hastalık tanısının transplant böbrek biyopsilerinin sınırlı bir grubunu oluşturduğu bilinmektedir (78). Banff 2019 sınıflamasında da elektron mikroskopik inceleme konusundaki öneriler güncellenerek tüm transplant böbrek biyopsilerinden elektron mikroskopik inceleme için örnek ayrılması ve bloklanarak saklanması önerilmiştir (78).

Çalışmamızda elektron mikroskopide transplant glomerülopatisi mevcut olup ışık mikroskopide *cg* saptanmayan 5 adet olgu (*cg1a*) mevcuttur. Söz konusu bu grup ile ışık mikroskopide transplant glomerülopati bulunan ($\geq cg1b$) ve transplant glomerülopati bulunmayan (*cg0*) olgular, CD163 pozitif hücre yoğunluğuna göre karşılaştırıldığında CD163 pozitif inflamatuvar hücre sayılarının bu üç grup arasında anlamlı oranda farklı olduğu saptadık. Transplant glomerülopatisinin şiddeti arttıkça CD163 pozitif hücre sayısının da artmakta olduğunu gördük. Bu sonuç elektron mikroskopik inceleme imkanı olmayan merkezlerde CD163 immünohistokimyasal antikorunun transplant glomerülopatisinin erken saptanmasında potansiyel bir rolü olabileceği düşüncesini akla getirmekte olup, olgu sayımızın kısıtlılığı göz önünde bulundurulduğunda bu hipotezimizin geniş vaka serilerinde test edilmesine ihtiyaç olduğu düşünülmüştür.

Elektron mikroskopik parametrelerin CD163 pozitif hücre sayıları ile korelasyon analizlerine baktığımızda ise elektron mikroskopide saptanan glomerülit ve oklüzyon eşliğinde glomerülit ile mezengiyal ve toplam CD163 pozitif hücre sayısı; oklüzyon eşliğinde glomerülit ile intrakapiller CD163 pozitif hücre sayısı; elektron mikroskopide transplant glomerülopatisi ve subendotelial köpüksü materyal birikimi ile mezengiyal ve toplam CD163 pozitif hücre sayısı, peritubuler kapiller başına CD163 hücre sayısı ve peritubuler kapiller başına maksimum hücre sayısı; endotelde fenestrasyon kaybı ile CD163 pozitifliği değerlendirilen tüm parametreler birbirleri ile değişen derecelerde korelasyon göstermiştir. Bu bulgumuz da CD163 immünohistokimyasal antikorunun transplant glomerülopatinin saptanmasında potansiyel bir rolünü güçlendirmektedir.

Çalışmamızın bir takım üstünlükleri ve kısıtlılıkları bulunmaktadır. Çalışmamız tedavi modaliteleri bakımından farklılık göstermeyen iki merkezden dahil edilmiş önemli sayıda bir olgu grubunu içermektedir. Böbrek transplantasyon biyopsilerinde yürütülmüş CD56 ve CD163 mmünkistokimyasal yönteminin kullanıldığı kısıtlı sayıda literatür çalışması dikkate alındığında literatüre önemli bir katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Dual boyama yönteminde bu antikor kombinasyonlarını kullanan çalışma literatürde çok azdır. Elektron mikroskopik verilerin dahil edilmesi detaylı inceleme imkanı tanımaktadır. Bu faktörlere rağmen retrospektif çalışma dizaynı, immünohistokimyasal pozitif hücre sayımlarının manüel yapılmış olması, elektron mikroskopik ve klinik takip verilerinin tüm hastalarda elde edilememiş olması kısıtlayıcı faktörlerdir.

Sonuç olarak, 161 olgu üzerinde yürüttüğümüz bu çalışmamızda rejeksiyon alt gruplarının histopatolojik olarak farklı grupları oluşturduğu literatüre paralel bir şekilde bir kez daha ortaya çıkarılmıştır. CD163 antikorunun bu alanda farklı amaçlar ile kullanımı açısından yeni bir bakış açısı ortaya atılmıştır. CD56 antikor pozitifliğinin rejeksiyonlarda dokuda beklendiği kadar yüksek sayılarda olmadığı, bu verinin serilere göre değişkenlik gösterebileceği görülmektedir. Rejeksiyon gelişiminde hangi kompartmanda saptanırsa saptansın her tür inflamatuvar reaksiyonun fibrotik süreçleri tetiklediği ve graft kaybına yol açtığı görülmüştür. Bu nokta tedavi kararı verirken kar-zarar dengesi gözetilerek dikkate alınmalıdır.

BÖLÜM VI

SONUÇLAR

- Çalışmamıza 2013-2018 yılları arasında İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda AAR ve/veya THAR tanısı almış 161 böbrek indikasyon biyopsi olgusu dahil edilmiştir.
- Olguların Banff lezyon skorları yeniden değerlendirilmiş, tanı kategorileri Banff 2019 sınıflamasına göre güncellenmiştir.
- Tüm olgulara intraluminal ve interstisyel inflamatuvar hücre infiltrasyonunu değerlendirmek amacıyla immünohistokimyasal olarak CD56/CD34 ve CD163/CD34 dual belirteçleri uygulanmıştır.
- Elektron mikroskopik incelemenin mümkün olduğu olgularda ultrastrüktürel rejeksiyon bulguları dokümente edilmiştir.
- Olguların 31'inde (%19,7) rejeksiyon saptanmamıştır. Rejeksiyon tanısı alan 126 olgunun 56'sı (%35,7) AAR ve AAR şüphesi, 38'i (%24,2) THAR, 32'si (%20,4) mikst rejeksiyon tanısı almıştır.
- CD163 immünohistokimyasal incelemesinde interstisyel boyanma skorlarına göre skor<2 ve skor ≥ 2 olan iki grup arasında skor ≥ 2 olan olgularda *i*, *ti*, *ct*, *ci* ve *t-IFTA* skorları anlamlı oranda yüksek bulunmuştur.
- Glomerüllerde izlenen CD163 pozitif hücrelerin sayısı AAR ve mikst rejeksiyon grubunda rejeksiyon izlenmeyen grup ve THAR grubunda yüksek bulunmuştur.
- Glomerüllerde toplam ve mezengiyal CD163 pozitif hücre sayısı, Banff lezyon skorları *g*, *ptc* ve *cg* skorları ile korele bulunmuştur.
- CD56 immünohistokimyasal incelemesinde 16 (%13,4) biyopside interstisyumda ekspresyon gösteren hücre saptanmıştır. Banff lezyon *i* skoru ≥ 2 olan grupta daha yüksek oranda interstisyel CD56 pozitif hücre saptanmış, $mm \geq 1$ olan grupta ise CD56 pozitifliği düşük oranda belirlenmiştir.
- Elektron mikroskopide saptanan ultrastrüktürel bulgular ilişkili Banff lezyon skorları ile korele bulunmuştur.
- Elektron mikroskopide saptanan glomerülit ve oklüzyon eşliğinde glomerülit, transplant glomerülopatisi, subendotelial kabarık tüyümsü materyal birikimi ve endotelde fenestrasyon kaybı ile mezengiyal ve toplam CD163 pozitif hücre sayısı arasında korelasyon saptanmıştır.

- DSA sonucu ile en şiddetli multilamellasyon gösteren peritubuler kapillerdeki lamel sayısı ve peritubuler kapiller bazal membranı multilamellasyonu (*ptcml*) skoru arasında korelasyon saptanmıştır.
- Banff lezyon skorları *ah*, *mm* ve *i* graft kaybı izlenen hastalarda daha yüksektir.
- CD163 immünohistokimyası ile interstisyel inflamasyon skoru 2-3 olan olgularda graft kaybı, skor 0-1 olan olgulara kıyasla daha yüksek bulunmuştur.
- Çalışmamızda rejeksiyon alt gruplarının histopatolojik olarak farklı grupları oluşturduğu gösterilmiştir.
- CD163 antikorunun bu alanda farklı amaçlar ile kullanımı açısından yeni bir bakış açısı ortaya atılmıştır.
- CD56 antikor pozitifliğinin rejeksiyonlarda dokuda beklendiği kadar yüksek sayılarda olmadığı, bu verinin serilere göre değişkenlik gösterebileceği görülmüştür.
- Rejeksiyon gelişiminde tüm kompartmanlardaki inflamatuvar reaksiyonun fibrotik süreçleri tetiklediği ve graft kaybına yol açtığı görülmüştür.
- Tedavi kararı verirken kar-zarar dengesi gözetilerek dikkate alınmalıdır.

BÖLÜM VII

KAYNAKLAR

1. Baker RJ, Watson CJ. Renal transplantation. *Medicine*. 2019;47(10):625-635.
2. Loupy A, Haas M, Roufosse C, Naesens M, Adam B, Afrouzian M, et al. The Banff 2019 Kidney Meeting Report (I): Updates on and clarification of criteria for T cell- and antibody-mediated rejection. *Am J Transplant*. 2020;00:1-14.
3. Solez K, Axelsen R a, Benediktsson H, Burdick JF, Cohen a H, Colvin RB, et al. Working classification of kidney transplant pathology. *Kidney Int*. 1993; 44(2):411-22.
4. Hara S. Cell mediated rejection revisited: Past, current, and future directions. *Nephrology*. 2018; 23 Suppl 2:45-51.
5. Fogo AB, Michael K Renal transplantation. In: *Atlas of Renal Pathology*. Fogo AB, Michael K, editors. 3rd ed. Philadelphia: Elsevier; 2017. p. 463-480.
6. Hidalgo LG, Sis B, Sellares J, Campbell PM, Mengel M, Einecke G, et al. NK cell transcripts and NK cells in kidney biopsies from patients with donor-specific antibodies: Dvidence for NK cell involvement in antibody-mediated rejection. *Am J Transplant*. 2010; 10(8):1812-22.
7. Hidalgo LG, Sellares J, Sis B, Mengel M, Chang J, Halloran PF. Interpreting NK cell transcripts versus T cell transcripts in renal transplant biopsies. *Am J Transplant*. 2012; 12(5):1180-91.
8. *Diagnostic Immunohistochemistry, Theranostic and Genomic Applications*. 3rd ed. Dabbs D, editor. Philadelphia: Elsevier; 2010. p. 162-178.
9. Haas M, Sis B, Racusen LC, Solez K, Glotz D, Colvin RB, et al. Banff 2013 meeting report: Inclusion of C4d-negative antibody-mediated rejection and antibody-associated arterial lesions. *American J Transplant*. 2014; 14(2):272-83.
10. Montgomery RA. Renal transplantation across HLA and ABO antibody barriers: Integrating paired donation into desensitization protocols. In: *Am J Transplant*. 2010;10(3):449-457.
11. Freitas MCS. Kidney transplantation in the US: an analysis of the OPTN/UNOS registry. *Clin Transpl*. 2011; 1-16.
12. Williams WW, Taheri D, Tolkoff-Rubin N, Colvin RB. Clinical role of the renal transplant biopsy. *Nat Rev Nephrol*. 2012;8:110-121.
13. Nicleleit V MM, Colvin RB. Renal Transplant Pathology. In: Jennette JC, Olson, J. L., Silva, F. G., D'Agati, V. D., editors. *Heptinstall's Pathology of the Kidney*. 7th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2015. p. 1321-459.
14. Nagy J. A note on the early history of renal transplantation: Emerich (Imre) Ullmann. *Am J Nephrol* 1999;19:346-349.
15. Druml W. The beginning of organ transplantation: Emerich Ullmann (1861-1937). *Wien Klin Wochenschr*. 2002; 114(4):128-37.
16. La technique op'eraoire des anastomoses vasculaires et la transplantation des visc'eres. Carrel D. Lyon, France: Médical; 1902.
17. Hamilton DNH, Reid WA. Yu. Yu. Voronoy and the first human kidney allograft. *Surg Gynecol Obstet*. 1984; 159(3):289-94.
18. Une tentative de transplantation rénale chez l'homme: aspects médicaux et biologiques. Michon L, Hamburger J, Oeconomos N, Delinotte P, Richet G, Vaysse J, et al. *Presse Med*; 1953.
19. Murray Je, Merrill Jp, Harrison Jh, Wilson Re, Dammin Gj. Prolonged survival of human-kidney homografts by immunosuppressive drug therapy. *N Engl J Med*. 1963; 268:1315-23.
20. Billingham RE, Brent L, Medawar PB. "Actively acquired tolerance" of foreign cells. *Nature*. 1953;172:603-606.

21. Calne RY, Alexandre GPJ, Murray JE. A study of the effects of drugs in prolonging survival of homologous renal transplants in dogs. *Ann N Y Acad Sci.* 1962; 24:99:743-61.
22. Williamson C. Further studies on the transplantation of the kidney. *J Urol.* 1926;16:231–253.
23. Porter KA, Calne RY. Origin of the infiltrating cells in skin and kidney homografts. *Plast Reconstr Surg.* 1960; 6:458-64.
24. Kreis H, Noël LH, Legendre C. The first transplant kidney biopsy ever performed. *Am J Transplant.* 2013;13(5):1367-1368.
25. Gondos A, Dohler B, Brenner H, Opelz G. Kidney graft survival in europe and the united states: Strikingly different long-Term outcomes. *Transplantation.* 2013; 95(2):267-74.
26. Lamb KE, Lodhi S, Meier-Kriesche HU. Long-term renal allograft survival in the United States: A critical reappraisal. *Am J Transplant.* 2011; 11(3):450-62.
27. Sá H, Leal R, Rosa MS. Renal transplant immunology in the last 20 years: A revolution towards graft and patient survival improvement. *Int Rev Immunol.* 2017; 36(3):182-203.
28. Snell GD. Histocompatibility genes of the mouse. i. demonstration of weak histocompatibility differences by immunization and controlled tumor dosage. *J Natl Cancer Inst.* 1958; 20(4):787-824.
29. Snell GD. Methods for the study of histocompatibility genes. *J Genet.* 1948; 49(2):87-108.
30. Grafft CA, Cornell LD, Gloor JM, Cosio FG, Gandhi MJ, Dean PG, et al. Antibody-mediated rejection following transplantation from an HLA-identical sibling. *Nephrol Dial Transplant.* 2010; 25(1):307-10.
31. Collins AB, Chicano SL, Cornell LD, Tolkoff-Rubin N, Goes NB, Saidman SL, et al. Putative Antibody-Mediated Rejection With C4d Deposition in HLA-Identical, ABO-Compatible Renal Allografts. *Transplant Proc.* 2006; 38, 3398–3399.
32. De Mattos AM, Bennett WM, Barry JM, Norman DJ. HLA-identical sibling renal transplantation - A 21-yr single-center experience. *Clin Transplant.* 1999; 13(2):158-67.
33. Shimmura H, Tanabe K, Ishida H, Miyamoto N, Tokumoto T, Ishikawa N, et al. Long-term results of living kidney transplantation from HLA-identical sibling donors under calcineurin inhibitor immunosuppression. *Int J Urol.* 2006; 13(5):502-8.
34. John R, Herzenberg AM. Our approach to a renal transplant biopsy. *Journal of Clinical Pathology.* 2010;63(1):26-37.
35. Wilczek HE, Groth CG, Bohman SO. Effect of reduced cyclosporin dosage on long-term renal allograft histology. *Transpl Int.* 1992; 5(2):65-70.
36. Roufosse C, Simmonds N, Clahsen-Van Groningen M, Haas M, Henriksen KJ, Horsfield C, et al. A 2018 Reference Guide to the Banff Classification of Renal Allograft Pathology. *Transplantation.* 2018;102(11):1795-1814.
37. Sis B, Jhangri GS, Riopel J, Chang J, De Freitas DG, Hidalgo L, et al. A new diagnostic algorithm for antibody-mediated microcirculation inflammation in kidney transplants. *Am J Transplant.* 2012;12(12):1168-1179.
38. Loupy A, Haas M, Solez K, Racusen L, Glotz D, Seron D, et al. The Banff 2015 Kidney Meeting Report: Current Challenges in Rejection Classification and Prospects for Adopting Molecular Pathology. *Am J Transplant.* 2017; 17(1):28-41.
39. Haas M, Loupy A, Lefaucheur C, Roufosse C, Glotz D, Seron D, et al. The Banff 2017 Kidney Meeting Report: Revised diagnostic criteria for chronic active T cell-mediated rejection, antibody-mediated rejection, and prospects for integrative endpoints for next-generation clinical trials. In: *Am J Transplant.* 2018; 18(2):293-307.
40. Diagnostic Immunohistochemistry, Theranostic and Genomic Applications. 3rd ed. Dabbs D, editor. Philadelphia: Elsevier; 2010. p. 104.

41. Shin S, Kim YH, Cho YM, Park Y, Han S, Choi BH, et al. Interpreting CD56+ and CD163+ Infiltrates in Early versus Late Renal Transplant Biopsies. *Am J Nephrol*. 2015;41:362-369.
42. Sablik KA, Jordanova ES, Pocorni N, Clahsen-van Groningen MC, Betjes MGH. Immune Cell Infiltrate in Chronic-Active Antibody-Mediated Rejection. *Front Immunol*. 2020; 4;10:3106.
43. Xu X, Han Y, Huang H, Bi L, Kong X, Ma X, et al. Circulating NK cell subsets and NKT-like cells in renal transplant recipients with acute T-cell-mediated renal allograft rejection. *Mol Med Rep*. 2019; 19(5): 4238–4248.
44. Yazdani S, Callemeyn J, Gazut S, Lerut E, de Loor H, Wevers M, et al. Natural killer cell infiltration is discriminative for antibody-mediated rejection and predicts outcome after kidney transplantation. *Kidney Int*. 2019; 95(1):188-198.
45. Calvani J, Terada M, Lesaffre C, Eloudzeri M, Lamarthée B, Burger C, et al. In situ multiplex immunofluorescence analysis of the inflammatory burden in kidney allograft rejection: A new tool to characterize the alloimmune response. *Am J Transplant*. 2020; 20(4):942-953.
46. Jung HR, Kim MJ, Wee YM, Kim JY, Choi MY, Choi JY, et al. CD56+CD57+ infiltrates as the most predominant subset of intra-graft natural killer cells in renal transplant biopsies with antibody-mediated rejection. *Sci Rep*. 2019; 12;9(1):16606.
47. Walker PD. The renal biopsy. *Arch Pathol Lab Med*. 2009;133:181-188.
48. Wavamunno MD, O'Connell PJ, Vitalone M, Fung CLS, Allen RDM, Chapman JR, et al. Transplant glomerulopathy: Ultrastructural abnormalities occur early in longitudinal analysis of protocol biopsies. *Am J Transplant*. 2007;7:2757–2768.
49. Suri DL, Tomlanovich SJ, Olson JL, Meyer TW. Transplant glomerulopathy as a cause of late graft loss. *Am J Kidney Dis*. 2000; 35(4):674-80.
50. Regele H, Böhmig GA, Habicht A, Gollwitzer D, Schillinger M, Rockenschaub S, et al. Capillary deposition of complement split product C4d in renal allografts is associated with basement membrane injury in peritubular and glomerular capillaries: A contribution of humoral immunity to chronic allograft rejection. *J Am Soc Nephrol*. 2002; 13(9):2371-80.
51. Smith RN, Kawai T, Boskovic S, Nadazdin O, Sachs DH, Cosimi AB, et al. Chronic antibody mediated rejection of renal allografts: Pathological, serological and immunologic features in nonhuman primates. *Am J Transplant*. 2006; 6(8):1790-8.
52. Zollinger HU, Moppert J, Thiel G, Rohr HP. Morphology and pathogenesis of glomerulopathy in cadaver kidney allografts treated with antilymphocyte globulin. *Curr Top Pathol*. 1973; 57:1-48.
53. Ivanyi B, Kemeny E, Szederkenyi E, Marofka F, Szenohradszky P. The value of electron microscopy in the diagnosis of chronic renal allograft rejection. *Mod Pathol*. 2001; 14(12):1200-8.
54. Feucht HE. Complement C4d in graft capillaries - The missing link in the recognition of humoral alloreactivity. *Am J Transplant*. 2003;3(6):646-52.
55. Mauiyyedi S, Colvin RB. Humoral rejection in kidney transplantation: New concepts in diagnosis and treatment. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2002;11(6):609-18.
56. Mauiyyedi S, Della Pelle P, Saidman S, Collins AB, Pascual M, Tolkoff-Rubin NE, et al. Chronic humoral rejection: Identification of antibody-mediated chronic renal allograft rejection by C4d deposits in peritubular capillaries. *J Am Soc Nephrol*. 2001;31(4):379-504.
57. Regele H, Exner M, Watschinger B, Wenter C, Wahrmann M, Österreicher C, et al. Endothelial C4d deposition is associated with inferior kidney allograft outcome independently of cellular rejection. *Nephrol Dial Transplant*. 2001; 16(10):2058-66.
58. Sijpkens YW, Joosten SA, Wong MC, Dekker FW, Benediktsson H, Bajema IM, et al. Immunologic risk factors and glomerular C4d deposits in chronic transplant glomerulopathy. *Kidney Int*. 2004;65(6):2409-18.

59. Hoffman W, Mehta R, Jorgensen DR, Sood P, Randhawa P, Wu CM, et al. The Impact of Early Clinical and Subclinical T Cell-mediated Rejection After Kidney Transplantation. *Transplantation*. 2019;103(7):1457–67.
60. Wiebe C, Gibson IW, Blydt-Hansen TD, Karpinski M, Ho J, Storsley LJ, et al. Evolution and clinical pathologic correlations of de novo donor-specific HLA antibody post kidney transplant. *Am J Transplant*. 2012; 12(5):1157–67.
61. Nankivell BJ, Shingde M, Keung KL, Fung CL, Borrows RJ, O’Connell PJ, et al. The causes, significance and consequences of inflammatory fibrosis in kidney transplantation: the Banff i-IFTA lesion. *Am J Transplant*. 2018;18(2):364–76.
62. Lefaucheur C, Gosset C, Rabant M, Viglietti D, Verine J, Aubert O, et al. T cell-mediated rejection is a major determinant of inflammation in scarred areas in kidney allografts. *Am J Transplant*. 2018;18(2):377–90.
63. Gloor JM, Sethi S, Stegall MD, Park WD, Moore SB, DeGoey S, et al. Transplant glomerulopathy: subclinical incidence and association with alloantibody. *Am J Transplant*. 2007;7(9):2124–32.
64. Cosio FG, Gloor JM, Sethi S, Stegall MD. Transplant glomerulopathy. *Am J Transplant*. 2008;8(3):492–6.
65. Loupy A, Hill GS, Jordan SC. The impact of donor-specific anti-HLA antibodies on late kidney allograft failure. *Nat Rev Nephrol*. 2012;8(6):348–57.
66. Haas M. Pathology of C4d-negative antibody-mediated rejection in renal allografts. *Curr Opin Organ Transplant*. 2013;18(3):319–26.
67. Zhang R. Donor-specific antibodies in kidney transplant recipients. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2018;13(1):182–92.
68. Senev A, Coemans M, Lerut E, Van Sandt V, Daniëls L, Kuypers D, et al. Histological picture of antibody-mediated rejection without donor-specific anti-HLA antibodies: clinical presentation and implications for outcome. *Am J Transplant*. 2019;19(3):763–80.
69. De Serres SA, Noël R, Côté I, Lapointe I, Wagner E, Riopel J, et al. 2013 Banff Criteria for Chronic Active Antibody-Mediated Rejection: Assessment in a Real-Life Setting. *Am J Transplant*. 2016;16(5):1516–25.
70. Ozluk Y, Caliskan Y, Sevinc M, Bayram A, Arikan EA, Turkmen A, et al. Re-evaluation of glomerulitis using occlusion criteria based on the Banff 2013 revision: a retrospective study. *Transpl Int*. 2017;30(6):579–88.
71. Sablik KA, Clahsen-van Groningen MC, Damman J, Roelen DL, Betjes MG. Banff lesions and renal allograft survival in chronic-active antibody mediated rejection. *Transpl Immunol*. 2019;56:101213.
72. Magil AB. Infiltrating cell types in transplant glomerulitis: relationship to peritubular capillary C4d deposition. *Am J Kidney Dis*. 2005;45(6):1084–9.
73. Fahim T, Böhmig GA, Exner M, Huttary N, Kerschner H, Kandutsch S, et al. The cellular lesion of humoral rejection: predominant recruitment of monocytes to peritubular and glomerular capillaries. *Am J Transplant*. 2007;7(2):385–93.
74. Fujiwara N, Kobayashi K. Macrophages in inflammation. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*. 2005;4(3):281–6.
75. Kowal K, Moniuszko M, Bodzenta-Lukaszyk A. The effect of inhaled corticosteroids on the concentration of soluble CD163 in induced sputum of allergic asthma patients. *J Investig Allergol Clin Immunol*.
76. Stout RD, Jiang C, Matta B, Tietzel I, Watkins SK, Suttles J. Macrophages sequentially change their functional phenotype in response to changes in microenvironmental influences. *J Immunol*. 2005;175(1):342–9.

77. Haas M, Mirocha J. Early ultrastructural changes in renal allografts: correlation with antibody-mediated rejection and transplant glomerulopathy. *Am J Transplant.* 2011;11(10):2123–31.
78. Vongwiwatana A, Gourishankar S, Campbell PM, Solez K, Halloran PF. Peritubular capillary changes and C4d deposits are associated with transplant glomerulopathy but not IgA nephropathy. *Am J Transplant.* 2004;4(1):124–9.
79. Monga G, et al. Intertubular capillary changes in kidney allografts: a morphologic investigation on 61 renal specimens. *Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology.* Inc. 1992;5:125–30.
80. Monga G, Mazzucco G, Novara R, Reale L. Intertubular capillary changes in kidney allografts: an ultrastructural study in patients with transplant glomerulopathy. *Ultrastruct Pathol.* 1990;14(3):201–9.
81. Drachenberg CB, Steinberger E, Hoehn-Saric E, Heffes A, Klassen DK, Bartlett ST, et al. Specificity of intertubular capillary changes: comparative ultrastructural studies in renal allografts and native kidneys. *Ultrastruct Pathol.* 1997;21(3):227–33.
82. Iványi B, Fahmy H, Brown H, Szenohradszky P, Halloran PF, Solez K. Peritubular capillaries in chronic renal allograft rejection: a quantitative ultrastructural study. *Hum Pathol.* 2000;31(9):1129–38.
83. Liapis G, Singh HK, Derebail VK, Gasim AM, Kozlowski T, Nickeleit V. Diagnostic significance of peritubular capillary basement membrane multilaminations in kidney allografts: old concepts revisited. *Transplantation.* 2012;94(6):620–9.
84. Gough J, Yilmaz A, Miskulin D, Gedeon I, Burama A, Yilmaz S, et al. Peritubular capillary basement membrane reduplication in allografts and native kidney disease: a clinicopathologic study of 278 consecutive renal specimens. *Transplantation.* 2001;71(10):1390–3.
85. Sis B, Campbell PM, Mueller T, Hunter C, Cockfield SM, Cruz J, et al. Transplant glomerulopathy, late antibody-mediated rejection and the ABCD tetrad in kidney allograft biopsies for cause. *Am J Transplant.* 2007;7(7):1743–52.
86. Einecke G, Sis B, Reeve J, Mengel M, Campbell PM, Hidalgo LG, et al. Antibody-mediated microcirculation injury is the major cause of late kidney transplant failure. *Am J Transplant.* 2009;9(11):2520–31.
87. Sis B, Jhangri GS, Bunnag S, Allanach K, Kaplan B, Halloran PF. Endothelial gene expression in kidney transplants with alloantibody indicates antibody-mediated damage despite lack of C4d staining. *Am J Transplant.* 2009;9(10):2312–23.
88. Hidalgo LG, Campbell PM, Sis B, Einecke G, Mengel M, Chang J, et al. De novo donor-specific antibody at the time of kidney transplant biopsy associates with microvascular pathology and late graft failure. *Am J Transplant.* 2009 Nov;9(11):2532–41.
89. Lipták P, Kemény E, Morvay Z, Szederkényi E, Szenohradszky P, Marofka F, et al. Peritubular capillary damage in acute humoral rejection: an ultrastructural study on human renal allografts. *Am J Transplant.* 2005 Dec;5(12):2870–6.
90. Ivanyi B, Kemeny E, Rago P, Lazar N, Boda K, Morvay Z, et al. Peritubular capillary basement membrane changes in chronic renal allograft rejection: comparison of light microscopic and ultrastructural observations. *Virchows Arch.* 2011;459(3):321–30.
91. Pullman JM, Ferrario F, Nast CC. Actual practices in nephropathology: a survey and comparison with best practices. *Adv Anat Pathol.* 2007;14(2):132–40.