



**KARACİĞER NAKLİNDE TAKROLİMUS İLE
SAĞLANAN İMMÜ NOSÜPRESYONUN
ANTİOKSİDAN ENZİMLER ÜZERİNE ETKİSİ**

Ömer Faruk ÇİFTÇİ

**İnönü Üniversitesi ve Ankara Üniversitesi
Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı
Ortak Doktora Programı**

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Songül ÜNÜVAR**

**Ortak Tez Danışmanı
Prof. Dr. Tülay ÇOBAN**

Doktora Tezi-2022

**T.C
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KARACİĞER NAKLİNDE TAKROLİMUS İLE SAĞLANAN
İMMÜNOSÜPRESYONUN ANTİOKSİDAN ENZİMLER ÜZERİNE ETKİSİ**

Ömer Faruk ÇİFTÇİ

**İnönü Üniversitesi ve Ankara Üniversitesi
Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı
Ortak Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Songül ÜNÜVAR**

**Ortak Tez Danışmanı
Prof. Dr. Tülay ÇOBAN**

Bu Araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
Tarafından TDK-2019/1641 Proje numarası ile desteklenmiştir.

**MALATYA
2022**

İÇİNDEKİLER

ÖZET	vii
ABSTRACT.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
TABLolar DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Organ Nakli.....	3
2.2. Organ Naklinin Tarihçesi.....	3
2.3. Doku ve Organ Nakil Yöntemleri.....	3
2.4. Organ Nakli Sonrası.....	4
2.5. Red Reaksiyonları.....	4
2.6. İmmünoşüpresyon.....	5
2.6.1. İmmünoşüpresif İlaçlar	5
2.7. Neopterin	9
2.8. İnterferon Gama	10
2.9. İndolamin 2,3-dioksijenaz	11
2.10. Antioksidan Enzimler	13
2.10.1. Glukoz 6-Fosfat Dehidrogenaz	13
2.10.2. Glutasyon Redüktaz	16
2.10.3. Glutasyon S-Transferaz.....	18
3. MATERYAL VE METOT	20
3.1. Gereçler.....	20
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	20
3.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	21
3.2. Yöntem.....	21
3.2.1. Numunelerin ve Verilerin Toplanması	21
3.2.2. Serum Numunelerinin Analizi	22
3.2.3. Hemolizat Numunelerinin Analizi.....	23
3.2.4. İstatistiksel Değerlendirme	25
4. BULGULAR.....	26

4.1. Çalışmaya dahil edilen bütün olguların demografik özellikleri.....	26
4.2. Hasta ve kontrol grubunun karşılaştırılması	27
5. TARTIŞMA	37
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	46
KAYNAKLAR	47
EKLER.....	61
EK-1. Özgeçmiş.....	61
EK-2. Etik Kurul Belgesi.....	62



TEŞEKKÜR

Doktora eğitimi süresince bilgi ve deneyimleri ile eğitimime katkıda bulunan, kıymetli tecrübelerinden faydalandığım Ankara Üniversitesi ile İnönü Üniversitesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı'nın tüm değerli öğretim üyesi hocalarıma çok teşekkür ederim.

Bitmez tükenmez enerjileri, gayretleri ve güleryüzlülükleri ile bütün laboratuvar çalışmalarına, büyük bir özveri ve titizlikle tezin tüm aşamalarına katkı sağlayan çok değerli tez danışmanım Doç. Dr. Songül ÜNÜVAR ve ortak tez danışmanım Prof. Dr. Tülay ÇOBAN' a en içten duygularımla şükranlarımı sunarım.

Çalışmamızın klinik kısmında katkısı olan Turgut Özal Tıp Merkezi Karaciğer Nakil Enstitüsü öğretim üyesi Prof. Dr. Tevfik Tolga ŞAHİN'e teşekkür ederim.

Tüm çalışmam boyunca hiçbir zaman desteklerini eksik etmeyen, bilgi ve tecrübelerini emekle ve sabırla benimle paylaşan değerli arkadaşlarım Dr. Öğr. Üyesi Neşe BAŞAK TÜRKMEN ve Dr. Zübeyde TANRIVERDİ' ye teşekkür ediyorum.

Yaşamım boyunca sonsuz sevgi ve desteklerini her zaman yanımda hissettiğim, beni maddi manevi her türlü destekleyerek bugünlere gelmeme sebep olan, akademik kariyer yapmamı belki de benden daha çok isteyen canım aileme ve eşim Zeynep'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Karaciğer Naklinde Takrolimus ile Sağlanan İmmünosüpresyonun Antioksidan Enzimler Üzerine Etkisi

Amaç: Karaciğer naklinin başarılı olabilmesi immünosüpresyonun istenilen düzeyde gerçekleşmesine bağlıdır. Akut ve kronik rejeksiyon ihtimali açısından bu durum çok önemlidir. Bu sebeple immün sistemin olası tepkilerini ölçebilmeye olanak sağlayacak biyobelirteçlerin tespiti ve oksidatif stres açısından antioksidan sistemlerin de ölçümü çok önemlidir.

Bu çalışmamızda karaciğer nakli olan hastalarının serum neopterin, INF- γ , indolamin 2,3-dioksijenaz, glutatyon S-transferaz düzeylerinin ve hemolizat numunelerinde glukoz 6-fosfat dehidrogenaz ve glutatyon redüktaz enzimlerinin aktivite tayinleri değerlendirilmesi ve tanı açısından bu değerlerin birbirleri ile ilişkilerini araştırdık.

Materyal ve metot: İnönü Üniversitesi'nden alınan 2018/144 nolu etik kurul onayı ve TDK-2019-1641 nolu BAP projesi desteği ile bu çalışma yürütülmüştür. Ocak 2019- Ocak 2020 tarihleri arasında Turgut Özal Tıp Merkezi Karaciğer Nakil Enstitüsü'nde karaciğer nakli gerçekleştirilen 44 hasta ve 44 kontrol grubu ile çalışma yürütüldü.

Bulgular: Hasta grubunun neopterin, indolamin 2,3-dioksijenaz, glukoz 6-fosfat dehidrogenaz düzeyi kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak yüksek, glutatyon redüktaz seviyesi ise düşük bulundu ($p<0,05$).

Sonuç: Gerçekleştirdiğimiz bu çalışmada karaciğer nakli olgularının biyobelirteç seviyelerinde önemli değişimler gözlemlendi. Bu sonuçlar ile birlikte karaciğer nakli gerçekleştirilen hastalarda elde edilen bu sonuçların rejeksiyon ve immünosüpresyon açısından daha başarılı tanı ve tedavilerin gerçekleşmesine yardımcı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz, glutatyon redüktaz, glutatyon S-transferaz, indolamin 2,3-dioksijenaz, interferon gama, karaciğer nakli, neopterin, takrolimus.

ABSTRACT

The Effect of Immunosuppression Provided by Tacrolimus on Antioxidant Enzymes in Liver Transplantation

Aim: The success of liver transplantation depends on the desired level of immunosuppression. This is very important in terms of the possibility of acute and chronic rejection. For this reason, it is very important to detect biomarkers that will allow measuring possible responses of the immune system and to measure antioxidant systems in terms of oxidative stress. In this study, we investigated serum neopterin, interferon gamma, indolamine 2,3-dioxygenase, glutathione S-transferase levels and activity determinations of glucose 6-phosphate dehydrogenase and glutathione reductase enzymes in hemolysate samples of liver transplant patients, and the relationships between these values in terms of diagnosis.

Material and method: This study was carried out with the approval of the ethics committee numbered 2018/144 from İnönü University and the support of the BAP project numbered TDK-2019-1641. The study was conducted with 44 patients who underwent liver transplantation and 44 control groups at Turgut Özal Medical Center Liver Transplant Institute between January 2019 and January 2020.

Results: Neopterin, indolamine 2,3-dioxygenase, glucose 6-phosphate dehydrogenase levels of the patient group were found to be statistically significantly higher than those of the control group, while glutathione reductase levels were found to be lower ($p<0,05$).

Conclusion: In this study, we observed significant changes in the biomarker levels of liver transplant patients. Together with these results, these results obtained in liver transplant patients will help to realize more successful diagnosis and treatments in terms of rejection and immunosuppression.

Keywords: Glucose 6-phosphate dehydrogenase, glutathione reductase, glutathione S-transferase, indolamine 2,3-dioxygenase, interferon gamma, liver transplantation, neopterin, tacrolimus.

SİMGELER VE KISALTMALAR

-SH	: Sülfhidril
γ-GSS	: Gama glutamil sistein sentetaz
ACR	: Akut selüler rejeksiyon
AMR	: Antikor aracılı rejeksion
ALT	: Alanin aminotransferaz
AST	: Aspartat aminotransferaz
BAP	: Bilimsel araştırma projesi
CAT	: Katalaz
CAV	: Kardiyak allograft vaskülopati
CO₂	: Karbondioksit
¹O₂	: Tekli oksijen
DNA	: Deoksiribonükleikasit
DTNB	: 5, 5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit)
DTROC	: Tanı testleri ve ROC analizi yazılımı
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
ELISA	: Enzime bağlı immunoassay
FAD	: Flavın adenin dinükleotid
G6PD	: Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz
GGT	: Gama glutamil transferaz
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: İndirgenmiş glutasyon
GS	: Glutasyon sentetaz
GSSG	: Okside halde glutasyon

GST	: Glutasyon S-transferaz
GTP	: Guanozin trifosfat
GVHD	: Graft versus host hastalığı
HIV	: İnsan bağışıklık yetmezliği virüsü
IDO	: İndolamin 2,3-dioksijenaz
IL	: İnterlökin
IFN-γ	: İnterferon gama
IFN- α	: İnterferon alfa
IFN- β	: İnterferon beta
kDA	: Kilodalton
Ig	: İmmünoglobülin
IMPDH	: İnosin monofosfat dehidrogenaz
INR	: Uluslararası düzeltme oranı
MELD	: Son evre karaciğer hastalığı için model
MHC	: Majör histokompatibilite kompleksi
mTOR	: Rapamisinin mekanik hedefi
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NAD⁺	: Nikotinamid adenin dinükleotit
NF-κB	: Nükleer faktör kappa B
NFAT	: Aktive edilmiş T hücrelerinin nükleer faktörü
NK	: Doğal öldürücü hücreler
O₂⁻	: Süperoksit anyonu
OH⁻	: Hidroksil
RNA	: Ribonükleik asit
RO	: Alkoksi
ROC	: Alıcı işlem karakteristikleri

ROO	: Peroksi
ROS	: Reaktif oksijen bileşikleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
SH	: Standard hata
SPSS	: Sosyal bilimler için istatistik programı
SS	: Standard sapma
TDO	: Triptofan 2,3-dioksijenaz
TNF-α	: Tümör nekroze edici faktör alfa
UNOS	: Birleşik organ paylaşımı ağı

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 3.1. Kullanılan kimyasal maddeler.	20
Tablo 3.2. Kullanılan araç ve gereçler	21
Tablo 4.1. Çalışmaya dahil edilen kontrol grubunun demografik özellikleri.	26
Tablo 4.2. Çalışmaya dahil edilen hasta grubunun demografik özellikleri	26
Tablo 4.3. Hasta ve kontrol grubu arasında biyobelirteçlerin karşılaştırılması	28
Tablo 4.4. Karaciğer nakli için biyobelirteçlerin öngörüsöl değeriini gösteren ROC analizi.....	30
Tablo 4.5. Hasta ve kontrol grubunda biyobelirteçler arasındaki korelasyonlar.	33

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 2.1. Neopterinin kimyasal yapısı	9
Şekil 2.2. Triptofan metabolizması ve kinürenin yolağı	11
Şekil 2.3. Aktif G6PD dimerinin 3 boyutlu modeli.....	14
Şekil 2.4. Glukoz 6-fosfat metabolizması	14
Şekil 2.5. Pentoz fosfat yolağının oksidatif fazı	15
Şekil 2.6. Glutatyonun yapısı	16
Şekil 2.7. Glutatyon redüktazın 3 boyutlu yapısı	17
Şekil 2.8. Glutatyon redüktaz ve pentoz fosfat yolu.....	18
Şekil 2.9. GST enziminin 3 boyutlu yapısı.....	18

1. GİRİŞ

Organ nakli, hastanın tedavi edilmesi imkansız hastalıklar sebebiyle fonksiyonlarını yerine getiremeyecek derecede zarar görmüş organlarının yerine, ölüden yada canlıdan alınan sağlıklı organın yerleştirilmesi ile tedavi edilmesi durumuna denmektedir (1).

Karaciğer nakli ise Milan Kriterlerine göre, siroz, akut karaciğer yetmezliği, hepatoselüler kanser hastaları için önemli bir tedavi seçeneğidir (2).

1963 yılının Mart ayında Starzl ve arkadaşları dünyada ilk karaciğer naklini gerçekleştirmiştir. Biliyer atrezisi olan 3 yaşında bir erkek hasta ameliyat sırasında pıhtılaşma bozukluğu ve kontrol edilemeyen kanama sebebiyle hayatını kaybetmiştir (3).

Karaciğer naklinde, daha iyi immünosüpresif ve anti-enfeksiyon ajanların bulunması sürecine kadar enfeksiyonlar ve kronik rejeksiyon, erken ve geç ölümlerin en önemli sebepleri idi. 1997 yılına kadar dünyada yaklaşık 200 transplantasyon gerçekleştirilmiş ve bu süre zarfında biliyer rekonstrüksiyon, intraoperatif koagülopati ve donörler için cerrahi teknikler tanımlanmıştır (4).

1989 yılında Starzl ve arkadaşları karaciğer nakli gerçekleştirilen 1179 hastada sağ kalım oranının 1 yıl sonra %73, 5 yıl sonra %64 olarak rapor etmişlerdir. Bu durum azatioprin ve kortikoidleri kullanan hastalarda sağ kalım oranının 2 kat artışı olarak yorumlanabilir (5).

İlk karaciğer naklinden itibaren 40 yılı geçen sürede, 10.000'den fazla karaciğer nakli gerçekleştirilmiş ve sağ kalım oranı %90'lara yaklaşmıştır. Cerrahi problemler, rejeksiyon tedavileri, kontrol edilemeyen sepsis problemleri çözülmüştür (6).

Son yıllarda kimyasal ajanların etkilerini ölçmede, teşhis etmede, tedavi etkinliğinin incelenmesinde biyogöstergeler kullanılmaktadır. Biyogöstergeler ile amaç sorunu en kısa sürede tespit edebilmektir. Ayrıca ajanlar ile biyolojik yapılar arasındaki etkileşimi nitel ve nicel olarak tespit etmek amacıyla, etkenin kendisi veya metaboliti biyolojik sıvılarda ve dokularda ölçülürler (7, 8).

Bu çalışma kapsamında Turgut Özal Tıp Merkezi Karaciğer Nakil Enstitüsü'nden kontrol grupları ve hasta gruplarından kan örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinde, önemli biyogöstergeler olarak neopterin, INF- γ , indolamin 2,3-dioksijenaz, glutatyon-S-transferaz düzeyleri ELISA kitleri kullanılarak ölçüldü.

Eritrosit glukoz 6-fosfat dehidrogenaz ve glutatyon redüktaz enzimlerinin aktivite tayinleri spektrofotometrik yöntemle incelendi.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Organ Nakli

Organ nakli, vücudun içerisinde işlevini yitirmiş bir organın yerine hayatta olan bir vericiden veya ölüden alınan sağlıklı bir doku veya organın nakledilmesidir. Bu operasyon, birçok organ için uygulanan, kabul görmüş ve güncel bir tedavi şekli olarak uygulanmaktadır (9). Kalp, akciğer, böbrek, ince barsak, kan, deri, pankreas, kornea, kemik iliği, karaciğer gibi hayati değeri olan birçok organın nakli günümüzde mümkün hale gelmiştir (10). Gerek canlı vericiler olsun gerekse kadavra vericiler olsun, organ nakilleri başarılı bir şekilde yapılabilmekte ve olumlu sonuçlar alınmaktadır. Ancak organ bağışının yeterli oranda olmaması, çoğu hastayı olumsuz etkilemektedir (11, 12).

2.2. Organ Naklinin Tarihçesi

Organ nakli konusundaki en eski yayınlarda milattan önce 500'lü yıllarda iki askerin kalbini yer değiştirmeye çalışan Çinli doktor Pien Chioa'dan ve işlevini yitirmiş olan organları sağlıklı olan organlarla değiştiren Hua-Tu'dan bahsedilmektedir (13). Tıp tarihinde doku naklini, ilk olarak 1818 yılında İngiliz doğum uzmanı olan James Blundell, doğumun ardından kanaması olan bir kadına, kocasından kan nakli yaparak gerçekleştirmiştir (14). 1905 yılında ilk kornea nakli, 1954 yılında ilk böbrek nakli gerçekleştirilmiştir (15). İlk başarılı karaciğer nakli ise 1967 yılında Colorado Üniversitesi'nde Thomas E. Starzl ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (16). İlk pankreas, parsiyel olarak Kelli tarafından 1966 yılında gerçekleştirilmiştir (17).

2.3. Doku ve Organ Nakil Yöntemleri

1. Ototograft: Aynı canlının doku organının aynı canlıya nakledilmesidir. Deri nakilleri, operasyon öncesi kan alımı, kök hücre nakilleri buna örnek olarak gösterilebilir.
2. İzograft: Tek yumurta ikizleri arasında yapılan nakillerdir.
3. Allograft: Tür olarak aynı olan canlılar arası nakillerdir. Bir insandan başka bir insana yapılan böbrek nakli örnek olarak gösterilebilir.
4. Senograft: Farklı türler arası yapılan doku ve organ nakilleridir. Domuzdan insana yapılan kalp kapakçığı nakli örnek olarak gösterilebilir.

5. Bölerek transplantasyonlar: Alınan organın alıcılara bölünerek nakil yapılmasıdır. Bir karaciğerin bir yetişkin ve bir çocuğa nakli örnek olarak gösterilebilir.
6. Domino transplantasyonlar: Bu çeşit nakiller iki akciğerinde aktarılması gerektiğinde kalp ile birlikte bütün halinde değiştirilmesi kolaylık açısından tercih edilir (sistik fibroz gibi durumlarda). Alıcı olan bireyin sağlam olan kalbi de başka bir alıcıya nakledilir (18).

2.4. Organ Nakli Sonrası

Organ nakli yapılan hastalarda, nakil sonrası hayat kalitesinin ve hayatta kalma süresinin artırılması, organın fonksiyonel durumunun korunması ve organ reddi gibi komplikasyonların önlenmesi önem arz etmektedir. Operasyon sonrası iyi şartlarda hayatın idamesi için immünosupresif tedavi gerekmektedir (19, 20). Amaç, nakli gerçekleştirilen organa karşı tolerans geliştirerek ve organ reddini engelleyerek hayatta kalma süresini artırmaktır. Örneğin, The United Network of Organ Sharing (UNOS) bilgilerine göre, böbrek nakli sonrası 1.yılda hayatta kalma oranı %94,5, 3.yılda hayatta kalma oranı %87, 5. yılda ise bu oran %78,4' e düşmektedir. İmmünosupresif tedavideki gelişmelerle birlikte başarı oranı daha da artmaktadır (21, 22).

2.5. Red Reaksiyonları

Organ nakli sonrasında, organın nakledildiği alıcıda naklediken dokuya karşı akut hücresel immün yanıt gözlenir. Bu yanıt ile birlikte nakil yapılan doku veya organın red edilmesini amaçlayan hücresel mekanizmalar gelişir. Bu mekanizmalar; CD4 tipi (indükleyici/yardım eden) T hücreleri red reaksiyonun oluşmasında ve organize olarak geliştirilmesinde ana rol oynarlar. Doku veya organdan kaynaklanan antijenleri tanımları gerekmektedir. Bu tanıma iki şekilde gerçekleşir;

1. T hücreleri vericiden alınan doku veya organ hücreleri üzerindeki, bu hücrelerin 6. kromozomunda bulunan majör histokompatibilite kompleksi (MHC) bölgelerinde bulunan polimorfik genler tarafından sentezlenen yabancı MHC moleküllerini tanırlar (dolaysız allo-tanım).
2. T hücreleri, yabancı MHC moleküllerinden ayrılıp alıcının dolaşımına girişi sonrası alıcının antijen oluşturan hücreleri tarafından tutulup, bu hücrelerin yüzeyinde sınıf II MHC molekülleri ile kombine edilmiş yabancı peptidleri tanırlar (dolaylı allo-tanım).

Dolaysız tanıma sayıca daha fazla CD4 tipi T hücrelerini aktive ederek akut olarak şiddeti yüksek immün reaksiyonlara sebep olur. Dolaylı tanımada ise daha az oranda T hücresi aktive olur. Fakat kronik olarak yavaş gelişen, sinsit red reaksiyonlarına yol açar. Buna rağmen bu iki tip antijen tanıma sistemiyle de CD4 tipi T hücrelerinin tam olarak aktivasyonu sağlanmış olmaz. Bununla birlikte ikinci bir eş uyarıya ihtiyaç vardır. Bu iki uyarının beraber olması ile birlikte T hücresi yeterince uyarılmış olur ve otokrin bir büyüme faktörü olan interlökin-2 (IL-2) salgılar. IL-2 hem kendini salgılayan hem de çevredeki CD4 tipi T hücrelerinde çoğalmayı, klon genişlemesini ve sitokin üretilmesini sağlayan bir faktördür. Yabancı antijen ve MHC molekülleri ile aktive olan CD4 tipi T hücreleri;

1. Antikor salgılayan B hücrelerini aktif hale getirerek yabancı antijene karşı antikor üretimini artırır.
2. Sitotoksik CD8 tipi T hücrelerini aktive ederek antijenin spesifik hücre lizisine sebep olurlar.
3. Monosit/makrofajları uyararak gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonlarına neden olurlar (23).

2.6. İmmünosüpresyon

İmmünosüpresyonu sağlamak amacıyla 1950'lerde sadece ışınlanma yöntemi kullanılırken artık çok çeşitli ajanlar kullanılmaktadır. Bunlar nonspesifik ve spesifik olarak kullanılmaktadırlar. Nonspesifik olarak kullanılan ilaçlara steroidler ve azatiopirin örnek verilebilir. Nonspesifik immünosüpresyonda antijene spesifik baskılama olmadığı için immün sistem her kademede baskılanır ve alıcı enfeksiyonlara duyarlı hale gelir. Spesifik olarak kullanılan immünosüpresif ajanlar ise nonspesifik ajanlara göre organ reddi durumlarını alıcının enfeksiyonlara karşı duyarlılığını artırmaksızın engelleyebilmektedirler (24, 25).

2.6.1. İmmünosüpresif İlaçlar

Glukokortikoidler

Glukokortikoidler geniş spektrumlu güçlü immünosüpresif ajanlardır. T ve B lenfositlerinin antijenleri tanımlarını önlemezler ancak T lenfositlerinin IL-1, IL-2, IL-6 gibi sitokinleri salgılamalarını önlerler. Bu sayede de hücrel immün reaksiyonun oluşmasını önlerler. Bunu spesifik reseptörler aracılığı ile sitoplazmadan çekirdeğe

geçerek sitokin genlerinin ilgili bölgesine bağlanarak transkripsiyonu ve nükleer faktör kappa B'nin (NF- κ B) aktivitesini inhibe ederek gerçekleştirirler. B lenfositlerin antikor üretme özelliklerini makrofajların, monositlerin ve polimorfonükleer lökositlerin migrasyon ve fagositoz özelliklerini inhibe ederler. Bu grupta genellikle prednizon ve prednizolon kullanılır. Bunlar organ nakillerinde siklosporin ile birlikte kullanılırlar (26).

Azatioprin

Azatioprinin metabolizması karaciğerde gerçekleşir. 6-merkaptopurine dönüşür ve ardından 6-tiyosinik asit olarak aktif hale gelir. 6-tiyosinik asit hücredeki DNA ile etkileşerek pürin nükleotidinin üretimini engeller. RNA sentezini ve metabolizasyonunu bozar. Bunun yanı sıra tiyosinik asit kemik iliğinde promiyelositlerin çoğalmasını durdurarak monosit miktarını düşürür (25). Azatioprinin yan etki profili pürin antimetabolitlerine benzemektedir. Kusma, ateş, ciltte esmerleşme, lökopeni (kemik iliği baskılanması), trombositopeni, anemi sık görülen yan etkiler arasında yer almaktadır. Pankreatit gibi karaciğere toksik etkileri de rapor edilmiştir. Tedaviye oral veya intravenöz günde 3-5 mg/kg olacak şekilde başlanır ve 2-4 haftalık süreç sonucunda düzelme gözlenirse 1-3 mg/kg doz ile tedaviye devam edilir. Postoperasyonda kullanılmaya başlanır (23).

Mikofenolat Mofetil

1995 yılında kullanılmaya başlanmış olan mikofenolat mofetil bir çeşit 'ön-ilaç'tır. Aktif formu mikofenolik asittir. Etki mekanizması açısından azatioprine benzemektedir. Fakat azatioprine kıyasla daha selektif ve daha güçlü etkilidir. Organ nakillerinde yaygın kullanımı nedeniyle azatioprinin yerini almaya başlamıştır. Azatioprine oranla fırsatçı enfeksiyonların oluşması ve lökopeni riski daha fazladır. Kemik iliği süpresyonu ve şiddetli diyare ana yan etkileri olarak sayılabilir. Mikofenolik asit etkisini pürin sentezini inhibe ederek gösterir. İnositinden guanozin nükleotitlerin katalizasyonunu sağlayan inosin monofosfat dehidrogenaz (IMPDH) enziminin geri dönüşümlü inhibisyonuna neden olur. Guanozin nükleotitlerin tükenmesiyle T ve B lenfositlerin çoğalmasında azalma gerçekleşir. İki izotopu bulunan IMPDH enziminin, tip 1 izotopu lökositlerde tespit edilirken, tip 2 izotopu da aktif lenfositlerde ve çeşitli dokularda tespit edilmiştir. Mikofenolik asit daha çok tip 2 izotopunu inhibe etmektedir (23, 26).

Siklosporin

Siklosporin, *Tolypocladium inflatum* Gams. isimli mantardan elde edilen bir ilaçtır. Kullanımda olan diğer ilaçlara göre daha güçlü etkinliği bulunmaktadır. Siklosporin erken dönemde otoimmün cevabı önlemede başarılı olmakla birlikte gelişmiş red olaylarını tedavide etkin değildir (23). Siklosporin, CD⁴⁺ tipi lenfositlerin antijen ile uyarıldıkları zaman, Ca⁺² bağımlı siklofilin adı verilen reseptörler aracılığıyla aktive olan kalsinörin enzimini inhibe eder. Bu inhibisyon için siklosporinin sitoplazmik bir reseptör olan siklofiline bağlanması gerekmektedir. Kalsinörin enzimi bir defosfataz enzimidir. T hücrelerinde bulunan T hücreleri nükleer faktörden (NFAT) fosfat gruplarının ayrılmasını sağlar. Bunun sonucu olarak ta NFAT hücre çekirdeğine geçerek IL-2 geninin transkripsiyonun başlamasını sağlayan ilgili bölgesine bağlanarak IL-2 üretimini sağlar. Bu mekanizma siklosporinin kalsinörini inhibe etmesiyle durur. Olgunlaşmış T lenfositleri üzerinde yeterli etkiye sahip değildir. Bu nedenle 24 saat içinde kullanılmaya başlanmalıdır. Organ nakillerinde, nakilden 4-12 saat önce uygulanmaya başlanmaktadır. İntravenöz doz, oral dozun 1/3'ü kadardır. 2-6 saat kadar 3-5 mg/kg uygulanmaktadır. Nakil sonrası 2 hafta kadar devam edilir ve daha sonra oral idame doza geçilir. Nefrotoksisite, nörotoksisite, tromboemboli, hepatotoksisite ve hipertansiyon bilinen önemli yan etkileridir (23).

Takrolimus

Makrolit grubu bir antibiyotik olan takrolimus *Streptomyces tsukubensis*'ten elde edilmektedir. CD⁴⁺ tipi T lenfositleri üzerine olan etkileri *in vitro* ortamda siklosporine oranla 50-100 kat daha fazladır. Takrolimus, siklosporin gibi kalsinörin inhibitörüdür. Fakat T lenfositler üzerinde inhibitör etkilerini gösterebilmeleri için siklosporinin bağlandığı siklofilinden farklı olarak takrolimusun FK-bağlayan protein-12 (FKBP-12) molekülü olarak adlandırılan sitoplazmik reseptör ile kompleks yapması gerekmektedir. Takrolimus genellikle karaciğer nakillerinde kullanılmaktadır. Karaciğer nakillerini takiben organ fonksiyonlarında azalma meydana gelir. Safra salgılarında ve ardından da yağ absorpsiyonunda azalma gözlenir. Siklosporinin, takrolimusa göre suda daha az çözünmesi, takrolimusun absorpsiyonunun siklosporin gibi safra tuzlarının reabsorpsiyonuna bağımlı olmaması takrolimusun siklosporinden daha fazla tercih edilmesine neden olmaktadır. Böyle bir durumda takrolimus biyoyararlanım açısından siklosporinden üstündür. Diğer bir önemli fonksiyonu ise böbrek nakli sonrası, hasta

siklosporine karşı dirençli hale gelmişse ve akut red riski meydana gelmişse, kurtarıcı olarak kullanılmasıdır. Nörotoksisite, nefrotoksisite, duygu durum bozuklukları, gastrointestinal bozukluklar, elektrolit değişiklikleri, tromboembolik ve iskemik yan etkilere neden olmaktadır. Çocuklarda kardiyomyopatiye sebep olduğu öne sürülmüştür. Ayrıca glukoz metabolizmasını bozarak diyabete neden olabilir (23).

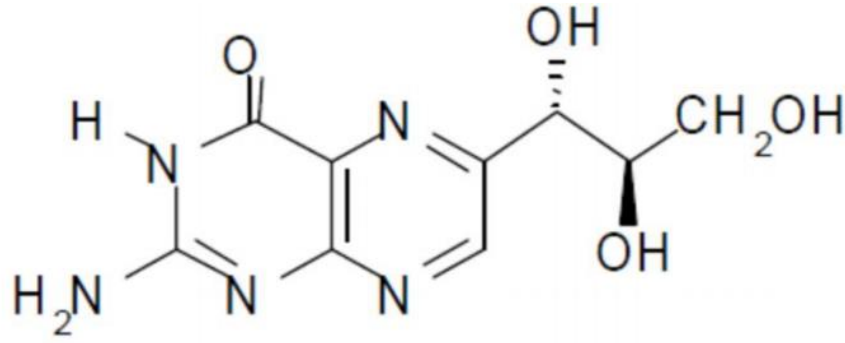
Sirolimus (Rapamisin)

Sirolimus, takrolimustan farklı olarak T lenfositlerde IL-2 üretimini durdurmaz. Oluşan IL-2'lerin, diğer CD⁴⁺ tipi lenfositlerin ve immün sistemin diğer hücrelerinde bulunan IL-2 reseptörlerinin uyarması ile oluşan reaksiyonları inhibe eder. Kalsinörin inhibitörü olarak işlev göstermezler. Etki gösterebilmesi için takrolimus gibi FKBP-12'ye bağlanmaları gerekmektedir. Oluşan FKBP-12+sirolimus kompleksi T hücrelerinin çoğalması için önemli bir yere sahip olan mTOR enzimini inhibe eder. Siklosporin ve/veya glukokortikoidlerle kombine olarak kullanılmaktadırlar. Venöz tromboembolizme, gastrointestinal yan etkilere, kan bozukluklarına, hiperlipidemiye ve akciğer bozukluklarına neden olur (23). Sirolimus karaciğer ve ince barsaklarda sitokrom p450 3A (CYP3A) enzim sistemi ile metabolize olur (27).

Everolimus

Everolimus, sirolimustan türetilen yeni bir inhibitördür. Everolimus yapı olarak 40 numaralı karbon atomunda bulunan 2 tane hidroksietil grubuna sahip olması ile sirolimustan farklılık gösterir. Bu farklılık farmakokinetik ve farmakodinamik değişikliklere neden olur. Oral yolla kullanıldığında absorpsiyon hızının daha iyi olduğu ve 2 saat içinde kanda en yüksek konsantrasyona ulaştığı tespit edilmiştir. Yarılanma süresi daha kısadır. Bu nedenle günde 2 doz kullanılmaktadır. Kanda kararlı durum konsantrasyonuna 4 günde ulaşır. Bu süre sirolimusun 6 günlük süresinden daha kısadır. Sirolimus gibi yükleme dozuna da gerek yoktur (26, 28).

2.7. Neopterin



Şekil 2.1. Neopterin' in kimyasal yapısı (29).

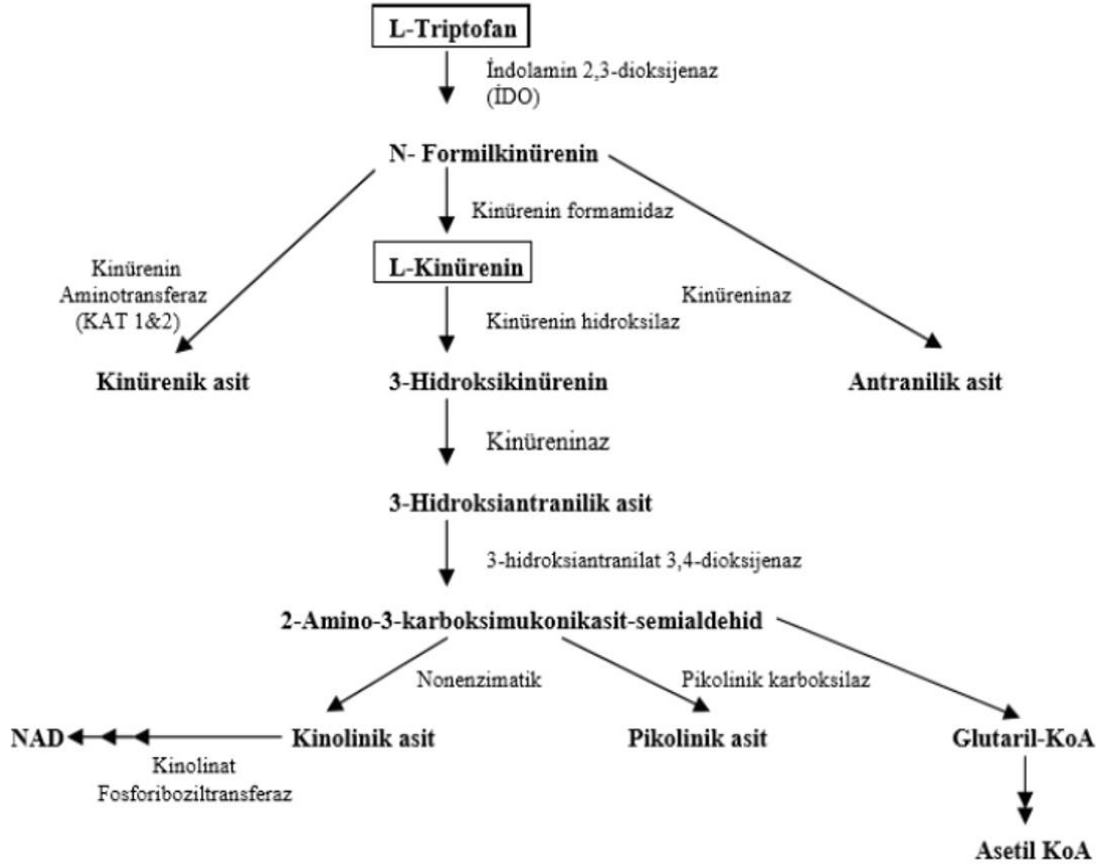
Pirazinoprimidin yapısında olan neopterin, hücresel boyutta bağışıklık yanıtın geliştiği durumlarda oldukça yaygın kullanılan bir biyolojik göstergedir (30). Neopterinin ilgi odağı olmasının sebebi; teşhis ve tedavi süreçlerinde biyogösterge olarak kullanılabilmesi, miktar tayinlerinin zor olmaması ve enfeksiyon hastalıklarında, kanserde ve çeşitli immünolojik hastalıklarda önemli yere sahip olması sayılabilir (31, 32). Başlangıçta 1967'de Sakurai ve Goto'nun çalışmalarıyla idrarda saptanmış olup, 1979'da bazı enfeksiyon ve viral hastalıklarda serum neopterin seviyesinde artış olduğu gözlenmiştir. Neopterin dihidroneopterin ve tetrahidroneopterin olarak bulunmaktadır. Neopterin insan ve primatlarda bulunurken, sıçanlarda bulunmamaktadır (33, 34). Neopterin sentezi GTP (guanozin trifosfat) siklohidrolaz-1 enzimi tarafından gerçekleştirilmektedir. GTP'den üretimi aktif monosit ve makrofajlarda gerçekleşmektedir ve interferon gama (IFN- γ) stimülasyonu ile artmaktadır. Tip-1 T lenfositler ve doğal öldürücü hücreler tarafından üretilen IFN- γ neopterin sentezini artıran önemli faktörlerden biridir. Bu sebeple bir bakıma neopterin seviyesi aynı zamanda IFN- γ 'nın da belirli bir düzeyde bulunduğunu ispat etmektedir (35-37). IFN- γ dışında IFN- α ve IFN- β 'nin da neopterin salınımına sebep olduğu fakat IFN- γ kadar etkili olmadıkları, neopterin salınımı için daha yoğun miktarlarda ortamada bulunmaları gerektiği açıklanmıştır (38). Yapılan çalışmalarda, neopterinin demir metabolizması üzerinde de etkili olduğu gösterilmiştir (39). Hücrede demir seviyesindeki azalma neopterin seviyesindeki artışla ilişkili bulunmuştur. Ayrıca eritrosit üretimi üzerinde de inhibe edici etkileri görülmüştür. Kronik hastalarda, neopterin seviyeleri ile ferritin arasında doğru orantı bulunurken; hemoglobin, transferrin ve demir arasında ters orantı bulunmuştur. Buna bağlı olarak kronik ve otoimmün kaynaklı hastalıklarda görülen

anemide neopterinin etkisi olduğu öne sürülmüştür (40). Bazı çalışmalarda neopterinin reaktif oksijen metabolitleriyle ve oksidatif stres ile bağlantılı olduğu belirtilmiştir. Neopterin seviyelerinin inflamasyon ve enfeksiyonlarda yükselişi immün sistemdeki önemli rolünü göstermektedir (41, 42). Neopterin sentezinde T lenfosit üretiminin maksimum seviyeye yükselmesinden üç gün önce, özgül antikor oluşumundan bir hafta önce, neopterin düzeylerinde artış olması nedeniyle pek çok patolojide erken biyogösterge olarak kullanılmaktadır (43). Organ ve doku nakillerinde, immünosüpresif tedavinin kesilmesi ile birlikte neopterin seviyelerinde artış olmaktadır. Özellikle böbrek nakli sonrası red reaksiyonunun gerçekleşmesinden 24 saat önce ve graft versus host (GVH) hastalığında klinik semptomlar oluşmadan 4 gün önce neopterin seviyelerinin pik yaptığı gözlenmiştir. Bu nedenle doku veya organ nakli süreçlerinde neopterin seviyelerinin incelenmesi önemlidir (44, 45).

2.8. İnterferon Gama

Tip-2 interferon sınıfından olan IFN- γ , antiviral etkinliğinin yanı sıra, immün yanıtın düzenlenmesinde önemli rolü olan, makrofajların aktive olmasını sağlayan bir sitokindir (46). IFN- γ insanda 12. kromozomda bulunur ve spesifik bağlantı reseptörleri tip-1 interferonlardan farklıdır. Hemen hemen tüm hücre tiplerinde IFN- γ için reseptörler yer almaktadır (47). 34 kilodalton (kD) ağırlığa sahip bir polipeptid olan IFN- γ , CD⁴⁺ Th1 lenfositler ile CD⁸⁺ T lenfositler ve doğal öldürücü hücreler tarafından üretilir (48, 49). Hem doğal hem de sonradan kazanılan immün sistemde önemli rollere sahiptir. Makrofajlar ve doğal öldürücü hücrelerin fagosite edici özelliklerini aktive ederler. NADPH oksidaz üretilmesini tetikleyerek serbest oksijen radikalleri aracılığı ile tümör hücreleri ve mikroorganizmaların öldürülmesinde rol oynarlar (50, 51). IFN- γ uyarımı ile B hücrelerince IgG sentezi gerçekleştirilir. Bunun yanı sıra IL-4'ün etkilerini önleyerek IgE sentezini engellerler (52, 53). Ayrıca hücrelerde sınıf-1 ve sınıf-2 MHC moleküllerinin sentezini artırarak antijen üretimini artırmakta ve immün cevabın artmasına sebep olmaktadır. Bazı çalışmalara göre, IFN- γ eksikliği ve fonksiyon bozukluğu durumlarında dirençli ve ciddi tüberküloz hastalığı oluşabilmektedir (46). IFN- γ 'nın düşük düzeylerde tümör oluşmasına zemin hazırlarken, yüksek seviyelerde tümör oluşumunu azalttığı görülmüştür (54).

2.9. İndolamin 2,3-dioksijenaz



Şekil 2.2. Triptofan metabolizması ve kinürenin yolağı (55).

Triptofan 2-amino-3-(1H-indol-3-il) propanoik asit şeklinde adlandırılan esansiyel amino asitlerden biridir. Triptofan hem hidrofobik hem de hidrofilik özellikleri sebebiyle %85-90 düzeyinde plazma albüminine bağlı durumdadır. Diğer kısmı ise serbest dolaşımda kalır. Triptofan, tirosin, fenilalanin, lösin, isölösin ve valin gibi nötral aminoasitler ile yarışmalı taşıma sistemi yoluyla beyne ulaşır. Bu sebeple bu aminoasitlerin fizyolojik olarak değişime uğramaları triptofanın geçişini ve dolaylı olarak da serotonin sentezini etkilemektedir (56-58). Triptofan esas olarak protein sentezi, serotonin sentezi ve kinürenin sentezi olmak üzere üç metabolik yolda kullanılır. En fazla kullanılan yolak ise triptofanın %99 oranında kullanıldığı oksidatif kinürenin yolağıdır. Bu yolak aracılığı ile kinürenik asit, antranilik asit, kinolinik asit gibi ara bileşikler ve nikotinamid adenin dinükleotid (NAD^+) gibi önemli bir koenzim oluşur (59). Triptofanın kinürene dönüşmesinde ilk basamağı N-formil-kinürene oksidasyonu oluşturur. Bu dönüşüm karaciğerde triptofan 2,3-dioksijenaz (TDO) enzimi

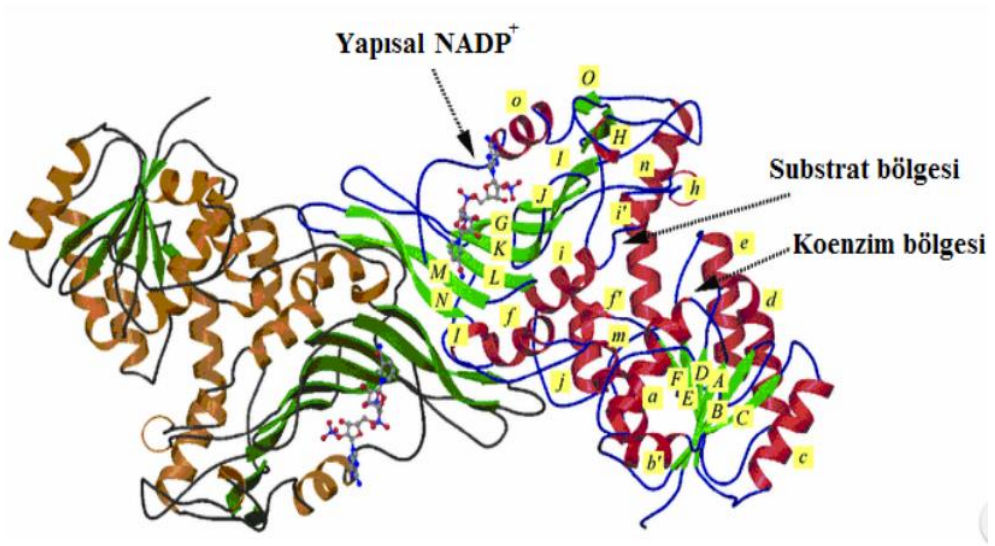
tarafından, karaciğer dışı dokularda ise indolamin 2,3-dioksijenaz (IDO) tarafından kataliz edilmektedir (60). İndolamin 2,3-dioksijenaz enzimi, insanlarda kromozom 8p12 üzerinde lokalize olan INDO (IDO-1) geni tarafından kodlanır. Enzim hem içeren ve 407 aminoasitten meydana gelen sitoplazmik bir proteindir. Mevcut IDO enzimi keseli ve plasental memelilerde baskın olarak bulunurken, tavuk ve balıklarda düşük aktivite gösteren IDO varyantlarına rastlanmıştır (61). 1950'li yıllarda triptofan metabolizmasının enfeksiyon hastalıkları ve kanser gibi patolojik durumlarda değişikliğe uğradığı gözlenmiştir (62). IDO üzerinde yapılan araştırmalarda bu enzimin sadece farklı dokularda bulunduğunu değil, aynı zamanda IDO'nun ekspresyonunun influenza gibi enfeksiyonlar, lipopolisakkaritler ve INF- γ gibi sitokinler tarafından indüklenebileceğini gösterilmiştir. INF- γ 'nın yanı sıra çeşitli enfeksiyon durumlarında oluşan tümör nekroze edici faktör alfa (TNF- α), INF- α , INF- β , IL-10 tarafından da indüklenebilmektedir (63-66). IDO, akciğer, plasenta, karaciğer, ince barsak, kalın barsak, dalak, kolon, beyin, mide ve böbrek hücrelerinde üretilebilmektedir ve INF- γ gibi sitokinler tarafından monositler, makrofajlar, dendritik hücrelerde ve tümör hücrelerinde üretimi uyarılabilmektedir. Bu nedenle dokularda IDO üretiminin, hücre içi ve hücre dışı organizmaların gelişimini engellediği in vitro olarak bulunmuştur (67). IDO indüksiyonu ve triptofan miktarının azalması ile birlikte dokuların mikro çevrelerinde, kanser hücreleri üzerinde ve toksoplazmozis, trypanosoma ve klamidy gibi patojen enfeksiyonlarda antiproliferatif etki meydana gelmiştir (68, 69). İmmün cevabın düzenlenmesinde, IDO enziminin, triptofan tüketilmesine ve triptofan yolağında oluşan metabolitlerin dokularda oluşturdukları etkilere bağlı olarak iki farklı etkisinden söz edilmektedir. İlk olarak, triptofan tüketilmesi, duyarlı patojenlerin, dönüştürülmüş hücrelerin ve aynı zamanda tümörü infiltre eden lenfositlerin proliferasyonunu yavaşlatmaktadır (70). Triptofan yolağında meydana gelen kinürenin, kinolinik asit ve pikolinik asit bileşiklerinin ise CD⁸⁺, TILs ve CD⁴⁺ T_H1 hücrelerine karşı toksik olduğu görülmüştür. Ancak bu bileşikler T_H2 hücrelerine aynı etkiyi göstermemektedir (71). Tümörü infiltre eden lenfositlerce üretimi uyarılan INF- γ 'ya cevap olarak oluşan IDO' nun miktarının tümörler tarafından artması sağlanır. İlerleyen triptofan eksikliği ve triptofan metabolitleri, antijen sunan hücreleri ve sitotoksik T hücrelerini tümörlere karşı güçsüz bırakarak immünoşüpresif etki oluşmasına sebep olur (72).

2.10. Antioksidan Enzimler

Antioksidan enzimler reaktif oksijen bileşiklerinin (ROS) oluşumunu önlemek, oluşturduğu zararları engellemek ve zararsız hale gelmelerini sağlamak amacıyla görev yapan enzimlerdir (69). Antioksidan enzimler endojen ve eksojen olarak iki sınıfa ayrılırlar. Endojen antioksidanlara süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon redüktaz (GR) gibi enzimatik antioksidanlar; glutatyon (GSH), melatonin, ürik asit, selenyum, transferrin gibi nonenzimatik antioksidanlar örnek gösterilebilir. Eksojen antioksidanlara α -tokoferol (vitamin E), β -karoten (vitamin A), C vitamini, folik asit gibi vitaminler; ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol), NADPH oksidaz inhibitörleri (lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokörleri, non-steroidal anti-inflamatuar ilaçlar) gibi ilaçlar örnek verilebilir (73, 74). Başlıca reaktif oksijen bileşiklerine tekli oksijen ($^1\text{O}_2$), süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil (OH $\cdot$), peroksi (ROO $\cdot$) ve alkoksi (RO $\cdot$) bileşikleri örnek verilebilir (75, 76). Belirli miktarlarda üretilen bu radikaller belirli seviyelerde hücre içinde sinyal aktarımı, apoptoz, bakterisit etki, immünomodülatör gibi çeşitli etkiler gösterirken, normalin üzerinde olması durumunda oksidatif strese ve metabolik olarak ciddi fonksiyon hasarlarına yol açabilmektedirler (77, 78). Başlıca glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PD), glutatyon S-transferaz (GST), glutatyon redüktaz (GR), katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) antioksidan enzimlere örnek gösterilebilirler. Canlılarda NADPH seviyesindeki düşüş sonucu glutatyon azalır ve hücre ölümüne neden olur. Bu nedenle G6PD NADPH sağladığı için dolaylı etki eden bir antioksidan enzim olarak kabul edilebilir (79-81).

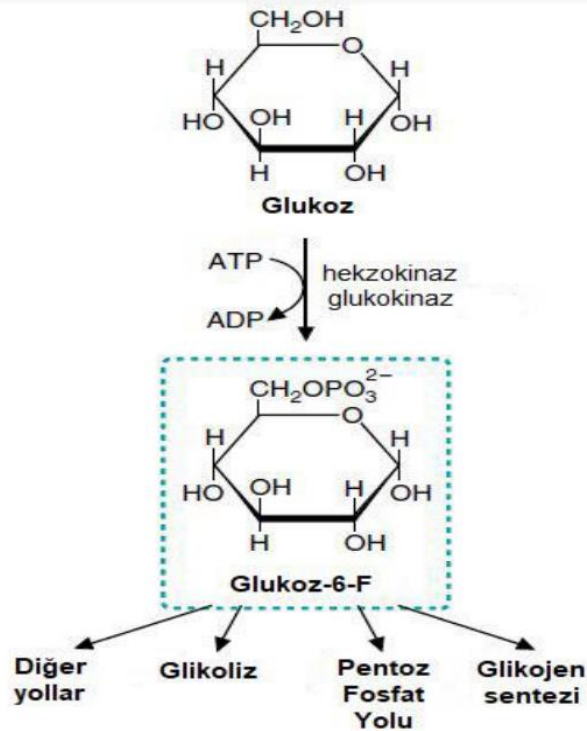
2.10.1. Glukoz 6-Fosfat Dehidrogenaz

Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz enzimi, bitkilerde, böceklerde, balıklarda, memelileri de kapsayan geniş bir popülasyonda bulunmaktadır. Hemen hemen bütün dokularda yer alan G6PD, eş monomerlerin birleşmesi ile dimerik, tetramerik, hegzamerik şekillerde olabilir. Daha çok dimerik yapıdadır. 59.256 dalton molekül ağırlığına sahiptir. Bu enzimin dimerik şekilde veya tetramerik şekilde bulunmasını sıcaklık, enzim miktarı ve NADPH gibi etkenler belirleyebilmektedir. Ortam pH'sının ve iyonik kuvvetin yüksek olması dimerik yapının, düşük olması ise tetramerik yapının meydana gelmesine sebep olmaktadır (82).



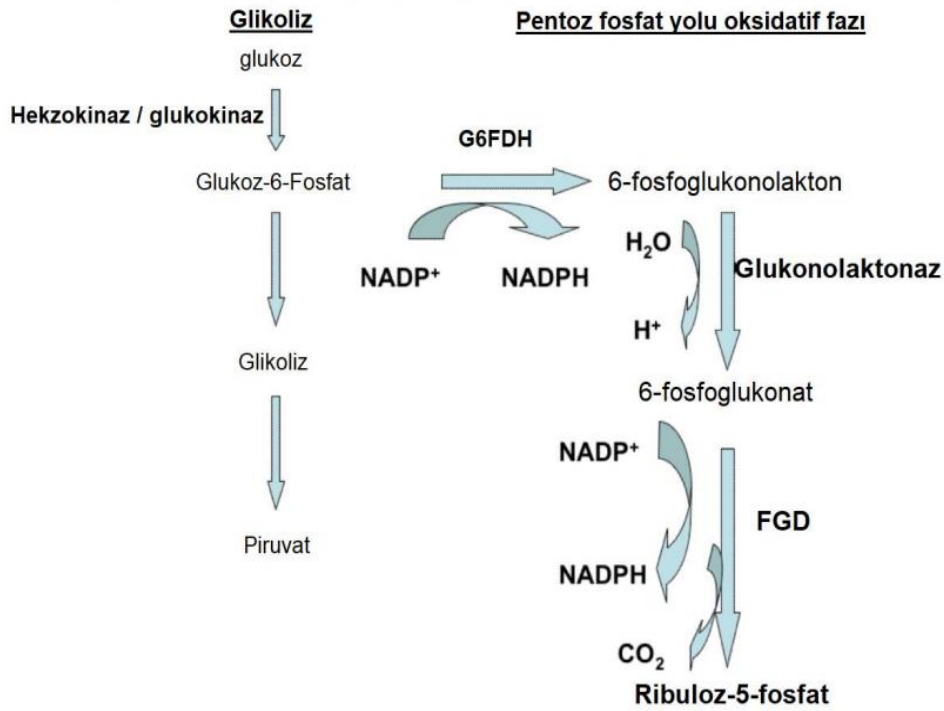
Şekil 2.3. Aktif G6PD dimerinin 3 boyutlu modeli (83).

Hücrelerde enerji üretimini gerçekleştirmek amacıyla hayati öneme sahip olan glikoz molekülünden, dokularda heksokinaz enzimi, karaciğer ile pankreas dokularında ise glukokinaz enziminin aracılığı ile glukoz 6-fosfat elde edilir (84).



Şekil 2.4. Glukoz 6-fosfat metabolizması (85).

Canlıların gereksinimine göre glikozun metabolik reaksiyon zinciri farklılık gösterir. Enerji ihtiyacını ortadan kaldırmak için prüvik asitin oluşumuna kadar uzanan glikoliz reaksiyon zinciri kullanılır. Glikoprotein, glikolipid, gibi büyük bileşiklerin üretimi için gerekli olan şeker bileşiklerinin sentez basamakları kullanılır. Bunun yanında DNA ile RNA üretimi için deoksiriboz ve riboz oluşumu, hücrelerde oksidatif dejenerasyonu önlemek amacıyla antioksidan reaksiyonlarda kullanımı önemli olan NADPH üretimi için pentoz fosfat yolağı kullanılır (84). Pentoz fosfat reaksiyon zinciri ilk defa 1931’de Otto Warburg tarafında açıklanmış ve sonrasında bütünü Fritz Lipmann, Frank Dickens, Bernard Horecker, Efraim Racker adlı bilim adamları tarafından açıklanmıştır. Glikolizin ilk basamağında glukozdan glukoz 6-fosfat elde edilirken, burada glukoz 6-fosfat dehidrogenaz enzimi aracılığı ile, pentoz fosfat yolağının oksidatif fazının başlangıcında, bir glukoz 6-fosfattan iki mol NADPH, 1 mol CO₂, ribüloz 5-fosfat sentezlenir. Devamında non oksidatif faz yolu ile de ribuloz 5-fosfat molekülünden karbonhidrat sentezi gerçekleşir. Bu şekilde, hücre sitoplazmasında, granüler endoplazmik retikulumda ve peroksizomlarda gerçekleştirilen pentoz fosfat yolağı aracılığı ile, antioksidan sistemlerin hücre hasarını önlemesi ve detoksifiye edici mekanizmalarını sağlıklı bir şekilde yürütebilmesi için gerekli NADPH elde edilmiş olur (85-87).

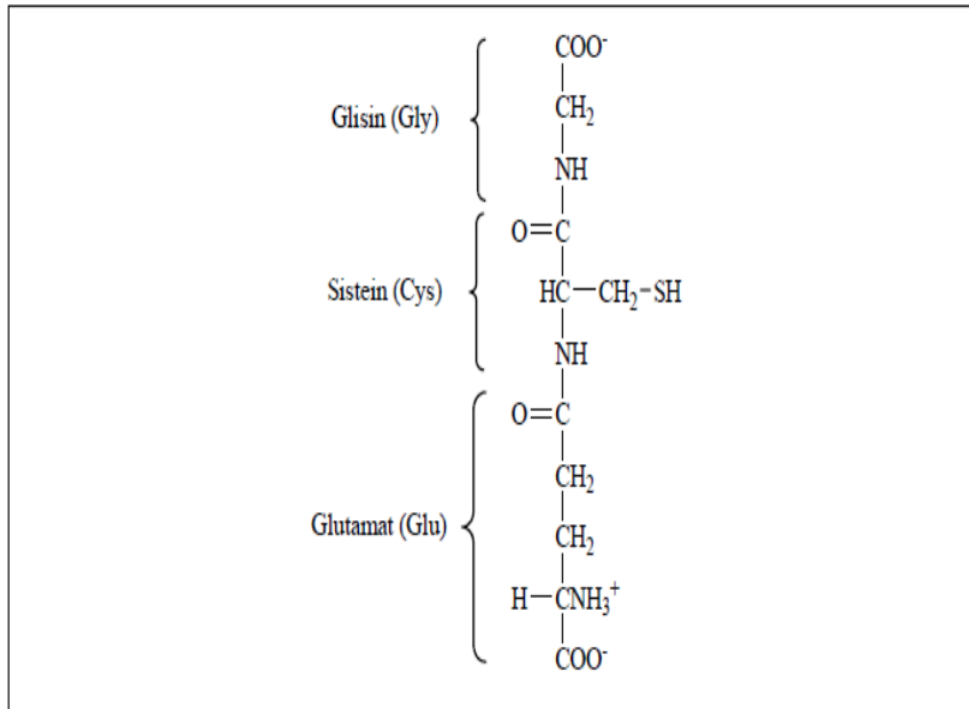


Şekil 2.5. Pentoz fosfat yolağının oksidatif fazı (88).

Oksidatif dejenerasyonun önlenmesi amacıyla, NADPH'nın sentezi, glutatyon redüktazın işlev görmesi için gereklidir. Çünkü glutatyon redüktaz reaksiyonları NADPH ile yürütülmektedir (89).

2.10.2. Glutatyon Redüktaz

Glutatyon, L-glutamat, L-sistein ve glisin aminoasitlerinden oluşmaktadır. Glutatyon sitoplazmada üretilen, hücrede çoğunlukla tripeptid yapısında olan önemli bir tiyol grubudur (90). Glutatyon sisteine bağlı sülfhidril (-SH) içerdiği için GSH olarak tanımlanabilmektedir. Okside halde (GSSG) ve indirgenmiş (GSH) olarak iki halde bulunmaktadır (91). 1888 yılında ilk defa maya hücrelerinde tespit edilmiştir. 1921 yılında Hopkins tarafından saflaştırılmış ve glutatyon redüktaz adını almıştır (91, 92). Glutatyon γ -glutamil sistein sentetaz (γ -GSS) ve glutatyon sentetaz (GS) enzimleri ile elde edilir. γ -GSS enzimi ile ilk basamakta, L-glutamat ile L-sisteinden γ -glutamil sistein sentezlenir. İkinci basamakta ise GS enzimi aracılığı ile γ -glutamil sistein ve glisinden glutatyon elde edilir (93).



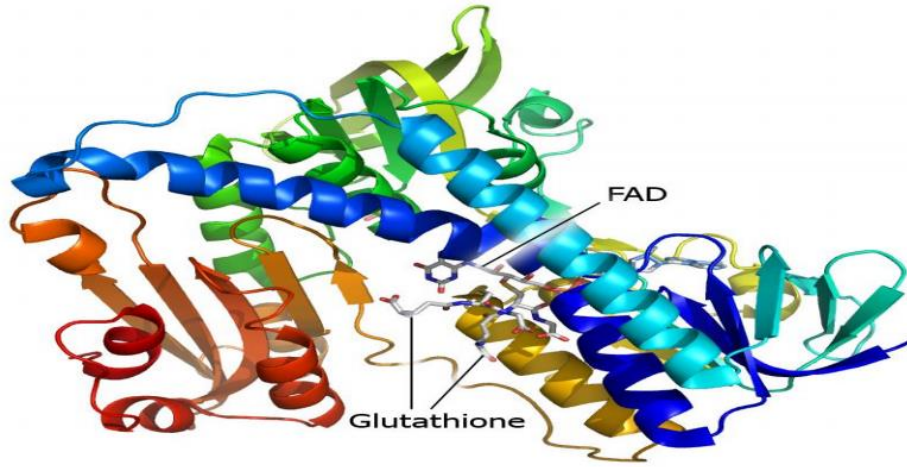
Şekil 2.6. Glutatyon' un yapısı (94).

Glutatyonun hücrelerde GSH/GSSG oranı oksidasyon açısından çok önemlidir. Glutatyon düzeyinin çok düşük olması durumunda oksidatif dejenerasyon ve devamında kanser, kistik fibrozis, nörolojik hasarlar, yaşlanma gibi olumsuz durumlarla

karşılaşılabılır (95). Glutasyon içerdığı -SH grubu ile okside bileşiklerin yıkıcı reaksiyonlarına karşı hücreleri korur. Glutasyonun serbest radikallerin zararının azaltılmasında, bazı enzim gruplarının tiyol gruplarının muhafaza edilmesinde, DNA ve protein sentezinde, kimyasal bileşikler, ilaçların ve metabolik ürünlerin detoksifiye edilmesinde rol oynaması nedeniyle canlılar için önemlidir (96). Fizyolojik şartlar içerisinde normal olarak GSH/GSSG oranı 10'dan büyüktür (97). Glutasyon redüktaz enzimi (E.C.1.8.1.7) 1951 yılında ilk kez açıklanmıştır. Glutasyon redüktaz disülfür substratlar ve indirgenmiş piridin nükleotidleri arasında elektron alışverişini gerçekleştirmektedir.



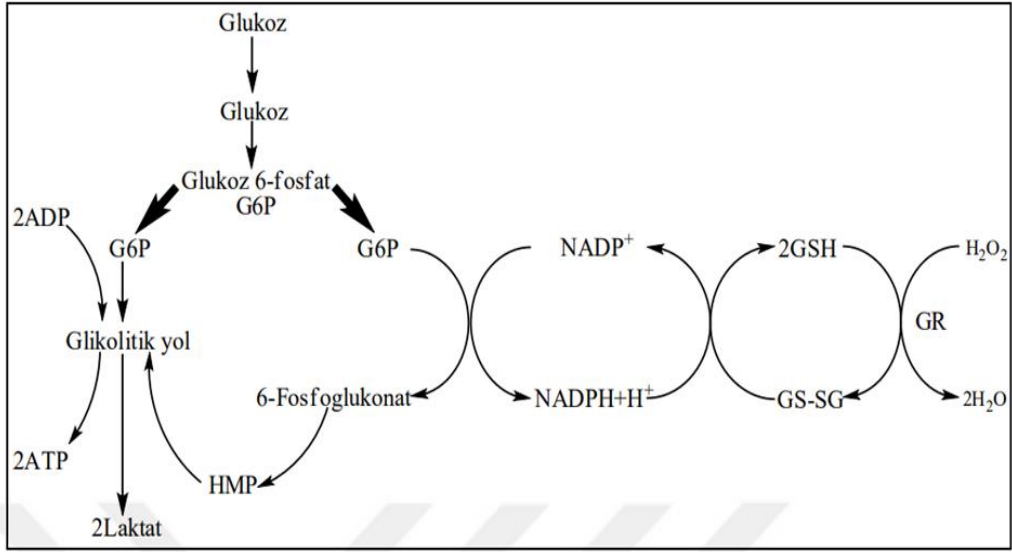
Glutasyon redüktaz enziminin asıl önemli görevi hücre içerisinde GSH/GSSG oranını belli oranda tutmaktır. Örneğin bu oran eritrositlerde 500/1 oranında tekabül eder. Düşük düzeylerde eritrositler hemolize uğramaktadır (98).



Şekil 2.7. Glutasyon redüktazın 3 boyutlu yapısı (99).

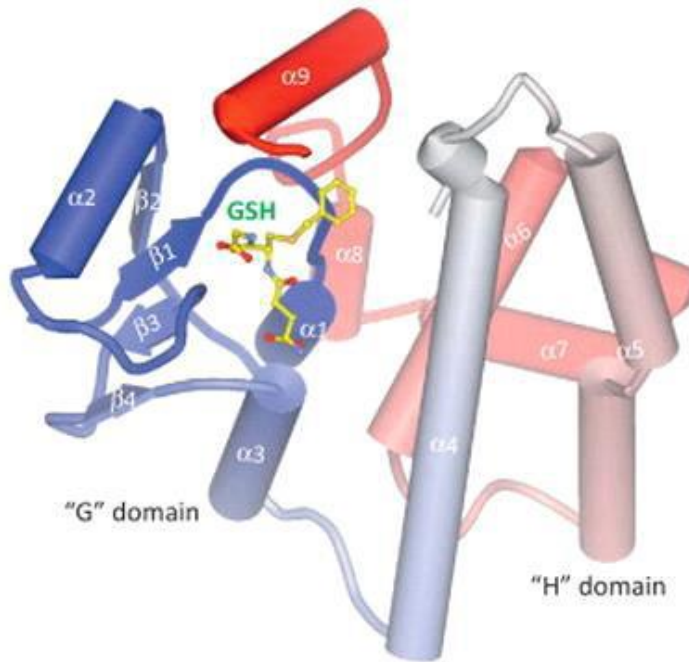
Örneğin antioksidan bir enzim olan glutasyon peroksidaz enziminin katalize ettiği reaksiyonlar sonucu oluşan peroksit bileşiklerinin detoksifiye edilmesi ve bileşiklerin indirgenmesi ile oluşan GSSG, glutasyon redüktaz aracılığı ile glutasyona çevrilerek GSH/GSSG oranı artırılır ve -SH/-SS düzeyi korunur (100). Bunun yanında ilaç kaynaklı hemolitik anemi, aplastik anemi, trombositopeni, oligofreni gibi klinik durumlar ile glutasyon redüktaz aktivitesinin düşüklüğü arasında ilişkiler tespit edilmiştir (101). Glutasyon redüktazın gerçekleştirdiği reaksiyonlarda NADPH

gereklidir. Hayvanlarda ve bitkilerde bu ihtiyaç bazı enzim sistemleri ile sağlanır. Pentoz fosfat yolu en iyi bilinen reaksiyon zinciridir (102).



Şekil 2.8. Glutasyon redüktaz ve pentoz fosfat yolu (98).

2.10.3. Glutasyon S-Transferaz



Şekil 2.9. GST enziminin 3 boyutlu yapısı (103).

Glutasyon S-transferaz, 20.000-25.000 dalton arası molekül ağırlığına sahip olan, 200-240 aminoasitten oluşan, hücresel boyutta makro molekülleri, radikal bileşiklere karşı koruyan, Faz-2 detoksifiye edici enzim grubundandır. İlk defa sıçanların

karaciğerinde Boyland ve arkadaşlarınca keşfedilmiş ve saflaştırılmıştır (104). Vücutta oluşan zararlı bileşikler ve dışarıdan alınan ilaç ve kimyasal maddeleri detoksifiye edici mekanizmalar iki faz olarak incelenmektedir. faz 1, faz 2 reaksiyonlarıdır. Faz 1 reaksiyonları genel olarak sitokrom p450 sistemi ile gerçekleştirilir ve hidroksillenme olarak adlandırılırlar (105). Faz 2 reaksiyonları ise, glukuronidasyon, sülfatasyon, glutatyonla konjugasyon, asetilasyon gibi konjugasyon reaksiyonlarını içerir. Faz 1 reaksiyonlarının metabolitleri ve ksenobiyotikler ile konjugasyon gerçekleştirilir. Glutatyon S-transferaz enzimi ile toksik bileşikler, ilaçlar, çoğunluğu karaciğer sitozollerinde olmak üzere glutatyon ile konjuge edilirler. Bu özelliği ile ilaçlara, kanserojen maddelere karşı çok önemli bir göreve sahiptir (106). Genel olarak glutatyon S-transferaz enziminin gerçekleştirdiği reaksiyon aşağıda belirtildiği şekilde gerçekleşir.



Enzim aktif olan kısımlarında glutatyonun sülfhidril grubunu aktive ederek elektrofilik bileşiklerle konjugasyonunu sağlamaktadır (107-109). Glutatyon S-transferazın, hidrofobik substratlara bağlanılabilecek bölgeye sahip olması ve izoenzim sayısının fazla olması, çok çeşitli bileşiklerin glutatyon ile konjuge edilmesini sağlamaktadır. Hidrofilik yapıda olan ve çoğu elektrofilik bölge taşıyan, kanserojenler, ilaçlar, lakton bileşikler, alkilleri, kinonlar, epoksitler bu bileşiklere örnek gösterilebilir. Elektrofilik özellikteki substratlar için H kısmı, glutatyon bağlanması için G kısmı bulunan iki alt birimden oluşur (110-112).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Gereçler

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Tablo 3.1. Kullanılan kimyasal maddeler.

Adı
Human serum GST- α ELISA kit
Human serum IFN- γ ELISA kit
Human serum neopterin ELISA kit
Human serum indolamin 2,3-dioksijenaz ELISA kit
DTNB (5,5'-Dithiobis (2-nitrobenzoic acid)
NADPH (β -Nicotinamide adenine dinucleotide 2'-phosphate reduced)
GSSG
Glukoz 6-fosfat
NADP (β -Nicotinamide adenine dinucleotide 2'-phosphate oxide form)
Magnesium klorür susuz

3.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

Tablo 3.2. Kullanılan araç ve gereçler

Mevcut Altyapı/Ekipman Türü, Modeli	Modeli
Buzdolabı	Arçelik
Santrifüj	YUDA 80-2A
Vorteks/Minishaker	SCIOLOGEX-MX-S
Derin Dondurucu/-80°C	NÜVE
Derin Dondurucu/-20°C	Arçelik
Orbital Çalkalayıcı	BOECO, PSU-2T
ELISA plak okuyucu	Bioteck ELx800
Spektrofotometre	PG Instruments-T60
Deiyonize distile su cihazı	Baunstead
Enzim-immünoassay plak okuyucu	Spectra Max M2
Enzim-immünoassay plak yıkayıcı	Sorin Biomedica
Manyetik karıştırıcı	Dottingen 7801
Mikrosantrifüj	Hettich Universal 30 RF
Otomatik örnekleyici	G 1313 A
Otomatik pipetler	Eppendorf
Ph metre	Cyberscan pH 500
Santrifüj	Hettich Universal 30 RF
Terazi	Mettler H54, AT201
Yazıcı	HP laser 1310

3.2. Yöntem

3.2.1. Numunelerin ve Verilerin Toplanması

Bu tez çalışması 2018/144 numaralı etik kurul onayı ve TDK -2019-1641 numaralı İnönü Üniversitesi BAP projesi desteği ile yürütülmüştür. Etik kurul onayı sonrası araştırma projesi kapsamında Turgut Özal Tıp Merkezi Karaciğer Nakil Enstitüsü'nden çalışmada kullanılmak üzere doku nakil alıcı ve vericilerine bilgilendirilmiş hasta onam formu imzalatılarak kan örnekleri alındı. Temin edilen kan örnekleri soğuk zincir kurallarına göre Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Araştırma Laboratuvarına getirildi. Antikoagülsiz biyokimya tüplerine alınan kan numuneleri eppendorf tüplerine konarak 3.500 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serum numuneleri ölçüm yapılarına kadar -20 °C'de muhafaza edildi. EDTA'lı tüplere alınan kanlar +4 C°'de muhafaza edilip, kan numuneleri eritrositlerin ayrılması

amacıyla 1 ml'lik ependorf tüplere konuldu ve 15 dakika 2500xg'de santrifüj edildi. Deney tüplerinin yukarı kısmında kalan plazma ve lökosit tabakaları damlalıkla alındı, daha sonra eritrositler 0.16 M'lık KCl çözeltisi ile üç defa yıkandı. Her yıkamada 2500xg'de santrifüj edildi ve süpernatant atıldı. Elde edilen eritrositler hacimlerinin beş katı kadar buzlu su ile hemoliz edildi ve bundan sonra hücre zarlarını uzaklaştırmak amacıyla +4 C°'de 10.000xg'de 20-30 dakika santrifüj edildi ve damlalıkla süpernatant atıldı. Böylece hemolizat hazırlanmış oldu. Bütün hastaların yaş, cinsiyet, kan grubu, tanı bilgileri, rejeksiyon varlığının olup olmadığı, sağ kalım ve ölüm durumları, ölüm tarihi, organ nakli gerçekleştirilen hastanın laboratuvar sonuçları kaydedildi. Ayrıca MELD skoru hesaplandı. Serum numunelerinde neopterin, INF- γ , IDO ve GST düzeyleri ELISA yöntemi ile analiz edildi. Hemolizat eldesi ile G6PD ve GR enzimlerinin aktivite tayinleri gerçekleştirildi.

3.2.2. Serum Numunelerinin Analizi

Glutasyon S-Transferaz Analiz Prosedürü

Glutasyon S-transferaz enzimi ELISA yöntemi ile analiz edildi. İnsan glutasyon S-transferaz alfa-1 antikoru ile önceden kaplanmış olan ELISA plakalarına numune eklendip, GST alfa-1 antikoruyla bağlanması sağlandı. Daha sonra biyotin ile konjuge GST alfa-1 antikoru eklenerek numunedeki GST alfa-1'e bağlanması sağlandı. Ardından streptavidin-HRP eklenip biyotinlenmiş GST alfa-1 antikoruyla bağlandı. İnkübasyonun ardından serbest olan streptavidin-HRP yıkılarak uzaklaştırıldı. Substrat solüsyonu ile birlikte GST alfa-1 miktarı ile orantılı olarak renklenme meydana geldi. Reaksiyon durdurma solüsyonu ile sonlandırılarak 450 nm' de absorbansı ölçüldü.

Neopterin Analiz Prosedürü

Neopterin ELISA yöntemi ile analiz edildi. Neopterin antikoru ile kaplı olan plakalara numune eklenmesi ile beraber numune de bulunan neopterinler antikorlara bağlandı. Daha sonra biyotin ile konjuge neopterin antikoru eklenerek numunedeki neopterin ile bağlanması sağlandı. Ardından streptavidin-HRP eklenerek biyotinlenmiş neopterin antikoruyla bağlandı. Belirli bir süre inkübasyondan sonra bağlanmamış streptavidin-HRP yıkama ile uzaklaştırıldı. Substrat solüsyonu eklenip neopterin miktarı ile doğru orantılı olarak renklenme gözlemlendi. Reaksiyon asidik durdurma solüsyonu ile durdurulup 450 nm' de absorbansı ölçülerek veriler kaydedildi.

İnterferon Gama Analiz Prosedürü

İnterferon gama ELISA yöntemi ile analiz edildi. IFN- γ antikoruna ile kaplı plakalara numunenin eklenmesi ile birlikte numunede bulunan IFN- γ , antikorlara bağlanmış olur. Ardından biyotin ile konjuge edilmiş IFN- γ antikoruna eklenerek onun da numunede bulunan IFN- γ bağlanması sağlandı. Daha sonra streptavidin-HRP eklenip biyotinlenmiş IFN- γ antikoruna bağlanması beklendi. Belirli bir inkübasyon süresi sonunda bağlanmamış streptavidin-HRP yıkama yapılarak uzaklaştırıldı. Ardından substrat solüsyonu eklenerek insan IFN- γ miktarıyla orantılı olarak renklenme gözlemlendi. Reaksiyon asidik durdurma solüsyonu ile sonlandırılarak 450 nm’de absorbanları ölçüldü.

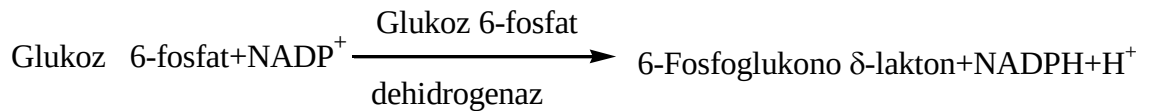
İndolamin 2,3-dioksijenaz Analiz Prosedürü

İndolamin 2,3-dioksijenaz enzimi ELISA yöntemi ile analiz edildi. Numuneler insan IDO antikoruna ile kaplı olan ELISA plakalarında bulunan kuyucuklara eklenip IDO antikoruna bağlandı. Ardından biyotin ile konjuge haldeki IDO antikoruna eklendi ve numunedeki IDO’ya bağlanması sağlanır. Ardından streptavidin-HRP eklenip biyotinlenmiş IDO antikoruna bağlandı. İnkübasyon sonrası bağlanmamış olan streptavidin-HRP yıkanarak uzaklaştırıldı. Substrat solüsyonu eklenerek IDO miktarı ile orantılı olarak renklenme gerçekleşti. Reaksiyon asidik durdurma solüsyonu ile sonlandırılıp 450 nm’de absorbanı ölçüldü.

3.2.3. Hemolizat Numunelerinin Analizi

Glukoz 6-Fosfat Dehidrogenaz Enzim Aktivitesinin Tayini

Çalışmalarda glukoz 6-fosfat dehidrogenaz aktivitesinin ölçümü aşağıdaki şekilde yapıldı. Enzim aktivitesi tayininde kullanılan spektrofotometrik yöntem aşağıdaki yöntemle dayanmaktadır.



Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADP⁺), glukoz 6-fosfat dehidrogenaz tarafından glukoz 6-fosfat varlığında indirgenir. NADPH’in oluşum oranı glukoz 6-

fosfat dehidrogenaz aktivitesine bağımlı olup 340 nm'deki absorbans artışı ile ölçülebilir.

Tayin işlemleri için şu prosedür uygulandı:

1.Küvet (Kör) :

1 M Tris-HCl, 5 mM EDTA (pH=8) = 250 µl

0.1 M MgCl₂ = 250 µl

2 mM NADP⁺ = 250 µl

1/20 Hemolizat = 50 µl

Saf su + = 1700 µl

Toplam 2500 µl

2.Küvet (Numune) :

1 M Tris-HCl, 5 mM EDTA (pH=8) = 250 µl

0,1 M MgCl₂ = 250 µl

2 mM NADP⁺ = 250 µl

1/20 Hemolizat = 50 µl

Su = 1450 µl

6 mM Glukoz 6-fosfat + = 250 µl

Toplam 2500 µl

çözeltileri eklendikten sonra 25 °C'de 5 dakika inkübe edildi. Sonra kontrole karşı numunenin absorbans artışları 3 dakika süreyle birer dakika arayla kaydedildi (113).

Glutasyon Redüktaz Enzim Aktivitesinin Tayini

Glutasyon redüktaz enziminin aktivite ölçümünde spektrofotometrik metod kullanıldı. 1 ml'lik küvetlerle yapılan ölçüm için; 5 mM EDTA içeren 1 M Tris-HCl (pH 8.0), 10 µM FAD, 33 mM GSSG, 2 mM NADPH, saf su ve enzim numunesi kullanılarak başlangıç ve 1 dakikalık zaman aralıklarında harcanan NADPH'tan dolayı azalan absorbanstan faydalanılarak aktivite ölçüldü (113).

3.2.4. İstatistiksel Değerlendirme

Güç analizi, gruplar arasındaki en büyük neopterin farkının 1.4 nmol/L (standart sapma, 0.7 nmol/L) olması durumunda, tip I hatanın 0.05 ve tip II hatanın 0.20 olması halinde her grupta en az 21 kişiye ihtiyaç duyulacağını göstermiştir. Çalışma grubunda yer alan bireyleri yaşları, ortalama değerler ve standart sapma (SS) ile, diğer sonuçlar ortalama değerler ve standart hata (SH) ile gösterildi. Verilerin normalliğini belirlemek için Shapiro-Wilk testi kullanıldı. Analiz için bağımsız iki örneklemlili t testi, Mann–Whitney U testi, Pearson χ^2 testi, Yates düzeltmeli χ^2 testi ve Fisher kesin χ^2 testi uygun şekilde kullanıldı. ROC analizi için İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıp Bilişimi Anabilim Dalı tarafından geliştirilen web tabanlı DTROC uygulaması kullanıldı. Değişkenler arasındaki korelasyonları değerlendirmek için Spearman rank korelasyon katsayısı kullanıldı. Analizler için SPSS versiyon 25 (IBM Corp., Armonk, NY, ABD) kullanıldı. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Çalışmaya dahil edilen bütün olguların demografik özellikleri

Tablo 4.1. Çalışmaya dahil edilen kontrol grubunun demografik özellikleri^a.

Karaciğer doku vericileri (kontrol grubu, n = 44)		
Yaş, yıl	32.82±8.12	32 (21 -50)
Cinsiyet	Kadın	17 (38.6)
	Erkek	27 (61.4)
Kan grubu	O (+)	19 (43.2)
	A (+)	16 (36.4)
	B (+)	8 (18.2)
	AB (+)	1 (2.3)

^a Veriler ortanca değer (minimum–maksimum), ortalama ± SS, veya % olarak sunulmuştur.

Kontrol grubunu oluşturan 44 bireyin yaş ortalaması 32.82±8.12 bulundu. Doku vericilerinin çoğunluğunu erkek bireyler oluşturmaktadır. Kan grubu dağılımına bakıldığında ise; kontrol grubundakilerin en çok sırasıyla O (+) ve A (+) kan grubuna sahip oldukları gözlenmiştir.

Tablo 4.2. Çalışmaya dahil edilen hasta grubunun demografik özellikleri^a.

Karaciğer doku alıcısı (hasta grubu, n = 44)		
Yaş, yıl	46.55±18.82	50.0 (3.0 - 72.0)
MELD skoru	23.02± 5.08	
Cinsiyet	Kadın	14 (31.8)
	Erkek	30 (68.2)
Kan grubu	O (+)	12 (27.3)
	A (+)	22 (50.0)
	B (+)	8 (18.2)
	AB (+)	2 (4.5)
Teşhis	Hepatit	14 (31.8)
	Siroz	14 (31.8)
	Karaciğer yetmezliği	16 (36.4)
Rejeksiyon	Pozitif	11 (25)
	Negatif	33 (75)
Operasyon sonucu	Sağ	33 (75)
	Ölü	11 (25)

^a Veriler ortanca değer (minimum–maksimum), ortalama ± SS, veya % olarak sunulmuştur.

Hasta grubunu oluşturan 44 bireyin yaş ortalaması kontrol grubuna kıyasla yüksek (46.55 ± 18.82) bulundu. Doku alıcılarının çoğunluğunu doku vericilerine benzer olarak erkek bireyler oluşturmaktadır. Kan grubu dağılımına bakıldığında ise; hasta grubundakilerin en çok sırasıyla A (+) ve O (+) kan grubuna sahip oldukları gözlenmiştir. Rejeksiyon negatif hastaların sağ oldukları tespit edilmiştir.

4.2. Hasta ve kontrol grubunun karşılaştırılması

Çalışmaya karaciğer doku alıcısı ve doku vericisi olmak üzere toplam 88 olgu dahil edildi. Her iki grubun ortalama yaş değerleri karşılaştırıldığında, farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu ($p < 0.001$). Hasta grubunun total bilirubin, direkt bilirubin, INR, AST, ALT, GGT, neopterin düzeyleri anlamlı olarak daha yüksek bulundu (tümü, $p < 0.001$). CRP düzeyleri doku vericilerinde daha yüksek bulundu ($p = 0.005$). IDO ve G6PD enzimlerinin aktivitesinde de karaciğer doku vericilerinde anlamlı bir artış bulundu (her ikisi, $p = 0.028$). GR enzim aktiviteleri ise benzer bulundu ($p = 0.006$). Kontrol grubuna kıyasla hasta grubunda düşük hemoglobin, trombosit ve albümin düzeyleri tespit edilmiştir (her ikisi, $p < 0.001$). Değişkenler üzerine cinsiyet veya kan grubu farklılığının etkisinin olmadığı gözlemlendi.

Tablo 4.3. Hasta ve kontrol grubu arasında biyobelirteçlerin karşılaştırılması ^a.

		Grup		p- değeri^b
		Karaciğer doku vericisi (kontrol grubu, n = 44)	Karaciğer doku alıcısı (hasta grubu, n = 44)	
		Ortanca (Min-Max)	Ortanca (Min-Max)	
Yaş, yıl		32 (21 - 50)	50 (3 - 72)	<0.001
Total Biluribin		1.45 (0.42 - 3.6)	5.45 (1.57 - 18.07)	<0.001
Direkt Biluribin		0.59 (0.15 - 1.83)	2.6 (0.77 - 11.32)	<0.001
INR		1.05 (0.85 - 2.08)	1.95 (1.05 - 9.86)	<0.001
Kreatinin		0.8 (0.5 - 1.23)	0.83 (0.39 - 2.05)	0.646
AST		170 (14 - 392)	461.5 (41 - 3133)	<0.001
ALT		188 (15 - 522)	370 (28 - 2434)	<0.001
GGT		20 (6 - 76)	54.5 (15 - 837)	<0.001
ALP		61.5 (30 - 200)	70 (25 - 655)	0.317
Hemoglobin		13.9 (10 - 18.6)	10.55 (5.2 - 18.1)	<0.001
Lökosit		19.3 (6.97 - 30.2)	16 (3.13 - 65.9)	0.185
Trombosit		244.5 (14 - 425)	113 (25 - 1294)	<0.001
CRP		0.32 (0.3 - 6.35)	0.53 (0.3 - 6.82)	0.005
GST		0.22 (0.13 - 2.99)	0.19 (0.05 - 2.89)	0.324
Neopterin		0.36 (0.27 - 2.91)	3.14 (0.31 - 8654)	<0.001
IFN		0.12 (0.02 - 2.81)	0.16 (0.02 - 2.78)	0.126
IDO		0.4 (0.17 - 1.76)	0.47 (0.05 - 1231)	0.028
G6PD		0.02 (0.02 - 0.03)	0.03 (0.02 - 0.03)	0.028
GR		0.05 (0.04 - 0.06)	0.05 (0.04 - 0.05)	0.006
		Ortalama ± SS	Ortalama ± SS	
Sodyum		136.77 ± 1.93	135.80 ± 3.27	0.058
Albumin		3.32 ± 0.42	2.41 ± 0.65	<0.001
		Sayı (Yüzde)	Sayı (Yüzde)	
Cinsiyet	Erkek	17 (38.6)	14 (31.8)	0.656
	Kadın	27 (61.4)	30 (68.2)	
Kan Grubu	0 (+)	19 (43.2)	12 (27.3)	0,414
	A (+)	16 (36.4)	22 (50.0)	
	B (+)	8 (18.2)	8 (18.2)	
	AB (+)	1 (2.3)	2 (4.5)	

^aVeriler ortanca değer (minimum–maksimum), ortalama ± SS, veya % olarak sunulmuştur.^b Kalın punto $p < 0.05$ göstermektedir.

Biyobelirteçlerin nakil sonrasında erken dönemde olası nakil komplikasyonlarını öngörme yeteneğini değerlendirmek için ROC eğrisi analizi yapıldı. Total bilirubin (AUC = 0.98, %95 CI, 0.95-1.00, $P < 0.001$), direkt bilirubin (AUC = 0.98, %95 CI, 0.97-1.00, $P < 0.001$), INR (AUC = 0.96, %95 CI, 0.90-0.99, $P < 0.001$), AST (AUC = 0.88, %95 CI, 0.79-0.94, $P < 0.001$), ALT (AUC = 0.84, %95 CI, 0.74-0.91, $P < 0.001$), GGT (AUC = 0.81, %95 CI, 0.71-0.89, $P < 0.001$), albümin (AUC = 0.88, %95 CI,

0.79-0.94, $P < 0.001$), hemoglobin (AUC = 0.81, %95 CI, 0.71-0.88, $P < 0.001$), trombosit (AUC = 0.85, %95 CI, 0.76-0.92, $P < 0.001$), CRP (AUC = 0.67, %95 CI, 0.56-0.77, $P = 0.03$), değerleri erken dönem komplikasyonlarını öngörmede etkili bulundu.



Tablo 4.4. Karaciğer nakli için biyobelirteçlerin öngörüsül değerini gösteren ROC analizi.

Değişkenler	Cutoff	Sensitivity	Specificity	LR+	LR-	PPV	NPV	AUC (95% CI)	P değeri ^a
Yaş, yıl	39.5	72.7 (0.56-0.84)	79.5 (0.30-0.93)	3.56	0.34	78.0	74.5	0.79 (0.68-0.89)	<0.001
Total bilirubin	2.77	0.95 (0.84-1.00)	0.89 (0.51-0.98)	8.40	0.051	89.4	95.1	0.98 (0.95-1.00)	<0.001
Direkt bilirubin	1.19	0.93 (0.73-1.00)	0.98 (0.85-1.00)	41.00	0.070	97.6	93.5	0.98 (0.97-1.00)	<0.001
INR	1.28	0.91 (0.78-0.98)	0.91 (0.78-0.98)	10.00	0.10	90.9	90.9	0.96 (0.90-0.99)	<0.001
Sodyum	134.5	0.37 (0.23-0.52)	0.89 (0.75-0.96)	3.20	0.72	76.2	58.2	0.62 (0.51-0.72)	0.058
Kreatinin	0.95	0.30 (0.17-0.45)	0.84 (0.70-0.93)	1.86	0.84	65.0	54.4	0.53 (0.41-0.65)	0.652
AST	289.5	0.80 (0.65-0.90)	0.93 (0.81-0.99)	11.33	0.24	91.9	80.4	0.88 (0.79-0.94)	<0.001
ALT	250.0	0.82 (0.67-0.92)	0.77 (0.62-0.88)	3.60	0.24	78.3	81.0	0.84 (0.74-0.91)	<0.001
GGT	41.5	0.64 (0.48-0.78)	0.89 (0.75-0.96)	5.60	0.41	84.8	70.9	0.81 (0.71-0.89)	<0.001
ALP	77.5	0.48 (0.33-0.63)	0.80 (0.65-0.90)	2.33	0.66	70.0	60.3	0.56 (0.45-0.69)	0.336
Albumin	2.75	0.68 (0.52-0.81)	0.95 (0.85-0.99)	15.00	0.33	93.8	75.0	0.88 (0.79-0.94)	<0.001
Hemoglobin	11.85	0.66 (0.50-0.80)	0.93 (0.81-0.99)	9.67	0.37	90.6	73.2	0.81 (0.71-0.88)	<0.001
Lökosit	14.75	0.48 (0.33-0.63)	0.82 (0.67-0.92)	2.63	0.64	72.4	61.0	0.58 (0.47-0.69)	0.197
Trombosit	185.0	0.84 (0.70-0.93)	0.91 (0.78-0.97)	9.25	0.18	90.2	85.1	0.85 (0.76-0.92)	<0.001
CRP	0.372	0.61 (0.45-0.76)	0.68 (0.52-0.81)	1.93	0.57	65.9	63.8	0.67 (0.56-0.77)	0.003

Kısıtlamalar: AUC, area under the curve; LR+, positive likelihood ratio; LR-, negative likelihood result; NPV, negative predictive value; PPV, positive predictive value.
^a Koyu punto $p < 0.05$ göstermektedir.

Kontrol ve hasta grubunda biyobelirteçler arasındaki korelasyonlar Tablo 4.5.'te verilmiştir. Kontrol grubunda yaş ile ALP arasında ($r_s = -0.642$, $P < 0.001$), GST ile neopterin ve IFN arasında ($r_s = 0.457$, $P=0.002$; $r_s = 0,320$, $P = 0,034$, sırasıyla), neopterin ile IFN arasında ($r_s = 0.332$, $P = 0.027$), IDO ile total bilirubin, albümin ve lökosit düzeyleri arasında ($r_s = 0.334$, $P=0.027$; $r_s = 0.457$, $P=0.002$; $r_s = 0.412$, $P = 0.005$, sırasıyla), G6PD ile ALP arasında ($r_s = -0.331$, $P= 0.028$), GR ile ALT ve trombosit düzeyleri arasında ($r_s = 0.334$, $P=0.027$; $r_s = -0.343$, $P = 0.023$, sırasıyla), total bilirubin ile direkt bilirubin, AST, ALT, hemoglobin ve lökosit arasında ($r_s = 0.827$, $P < 0.001$; $r_s = 0.400$, $P=0.007$; $r_s = 0.4127$, $P = 0,005$; $r_s = 0.357$, $P = 0.017$; $r_s = 0.379$, $P = 0.011$, sırasıyla), direkt bilirubin ile AST ve ALT arasında ($r_s = 0.441$, $P=0.003$; $r_s = 0.436$, $P = 0,003$, sırasıyla), INR ile trombosit düzeyleri arasında ($r_s = -0.459$, $P=0.002$), sodyum ile ALP arasında ($r_s = 0.388$, $P=0.009$), kreatinin ile hemoglobin arasında ($r_s = 0.537$, $P < 0.001$), AST ile ALT arasında ($r_s = 0.888$, $P < 0.001$), ALT ile GGT arasında ($r_s = 0.362$, $P = 0.016$), GGT ile hemoglobin arasında ($r_s = 0.379$, $P = 0.011$), ALP ile albümin ve hemoglobin arasında ($r_s = 0.323$, $P=0.032$; $r_s = 0.405$, $P = 0.006$, sırasıyla), albümin ile hemoglobin arasında ($r_s = 0.478$, $P = 0,001$), hemoglobin ile lökosit arasında ($r_s = 0.364$, $P = 0.015$), lökosit ile trombosit arasında ($r_s = 0.309$, $P = 0.041$) istatistiksel olarak anlamlı korelasyonlar bulundu.

Hasta grubunda yaş ile GST, neopterin, IFN, IDO, kreatinin, ALP ve lökosit arasında ($r_s = -0.473$, $P = 0.001$; $r_s = -0.367$, $P=0.014$; $r_s = -0.366$, $P = 0.015$; $r_s = -0.392$, $P=0.009$; $r_s = 0,519$, $P < 0.001$; $r_s = -0.534$, $P < 0.001$; $r_s = -0.406$, $P = 0.006$, sırasıyla), GST ile ve IFN, IDO, kreatinin ve ALP arasında ($r_s = 0.506$, $P < 0.001$; $r_s = 0.908$, $P < 0.001$; $r_s = -0.374$, $P = 0.012$; $r_s = 0.302$, $P=0.046$, $P = 0,006$, sırasıyla), neopterin ile GGT arasında ($r_s = 0.312$, $P = 0.039$), IFN ile IDO arasında ($r_s = 0.453$, $P = 0.002$), IDO ile kreatinin ve ALP arasında ($r_s = -0.367$, $P=0,014$; $r_s = 0.336$, $P=0.026$, sırasıyla), G6PD ile GR arasında ($r_s = -0.649$, $P < 0,001$), GR ile lökosit ve trombosit düzeyleri arasında ($r_s = -0.361$, $P=0.016$; $r_s = -0.323$, $P = 0.032$, sırasıyla), total bilirubin ile direkt bilirubin arasında ($r_s = 0.838$, $P < 0.001$), INR ile AST, ALT, GGT ve ALP arasında ($r_s = 0.346$, $P = 0.022$; $r_s = 0.324$, $P = 0.032$; $r_s = -0.331$, $P = 0.028$; $r_s = -0.400$, $P=0.007$, sırasıyla), kreatinin ile AST arasında ($r_s = -0.344$, $P = 0,022$), AST ile ALT, lökosit ve CRP arasında ($r_s = 0.852$, $P < 0.001$; $r_s = 0.510$, $P < 0.001$; $r_s = -0,318$, $P = 0.036$, sırasıyla), ALT ile lökosit ve CRP arasında ($r_s = 0,446$, $P = 0.002$; $r_s = -0,444$, $P = 0.003$, sırasıyla), GGT ile ALP ve trombosit arasında ($r_s = 0.540$, $P < 0.001$; $r_s = 0.308$, $P = 0.042$, sırasıyla), ALP ile hemoglobin ve trombosit arasında ($r_s = 0.399$,

$P=0.007$; $r_s = 0.591$, $P < 0.001$, sırasıyla), lökosit ile trombosit arasında ($r_s = 0.616$, $P < 0.001$) istatistiksel olarak anlamlı korelasyonlar bulundu.



Tablo 4.5. Hasta ve kontrol grubunda biyobelirteçler arasındaki korelasyonlar.

		GST	Neopterin	IFN	IDO	G6PD	GR	Total Bilurbin	Direkt Bilurbin	INR	Sodyu m	Kreatini n	AST	ALT	GGT	ALP	Albumi n	Hemoglobi n	Lökosi t	Trombosi t	CRP
Yas	r _s	0.039	-0.095	-0.022	0.045	0.210	0.018	-0.081	-0.015	0.113	-0.257	-0.221	0.194	0.098	0.039	-0.642	-0.167	-0.296	-0.016	0.111	0.230
	p-value	0.804	0.539	0.887	0.771	0.172	0.908	0.600	0.923	0.464	0.092	0.150	0.207	0.528	0.802	<0.001	0.279	0.051	0.919	0.474	0.134
GST	r _s	0.457	0.320	0.133	0.031	0.031	-0.237	0.060	0.072	0.118	0.267	-0.199	0.182	0.106	0.094	-0.015	-0.029	0.011	0.260	0.172	0.205
	p-value	0.002	0.034	0.389	0.841	0.122	0.122	0.701	0.641	0.447	0.079	0.196	0.236	0.494	0.545	0.923	0.852	0.944	0.089	0.264	0.183
Neopterin	r _s	0.332	0.201	-0.010	-0.092	-0.146	-0.092	-0.146	0.081	0.095	0.159	0.086	0.071	0.066	0.074	0.284	0.028	-0.097	0.205	0.163	0.049
	p-value	0.027	0.190	0.950	0.553	0.346	0.553	0.346	0.600	0.539	0.303	0.580	0.649	0.671	0.633	0.062	0.857	0.532	0.181	0.290	0.752
IFN	r _s	0.184	0.059	0.071	-0.011	0.008	0.101	0.229	-0.085	0.196	0.177	0.081	0.138	-0.050	0.095	0.151	-0.179	0.059	0.059	0.059	0.059
	p-value	0.233	0.705	0.647	0.943	0.961	0.515	0.135	0.585	0.202	0.249	0.602	0.370	0.747	0.540	0.329	0.246	0.705	0.705	0.705	0.705
IDO	r _s	-0.089	-0.029	0.308	0.295	0.005	-0.159	0.234	0.284	0.126	0.061	0.125	0.235	0.239	0.100	0.334	0.269	0.412	0.216	0.024	0.024
	p-value	0.567	0.849	0.042	0.052	0.974	0.303	0.126	0.061	0.125	0.119	0.517	0.027	0.078	0.005	0.159	0.875	0.078	0.159	0.875	0.875
G6PD	r _s	-0.061	-0.061	0.269	0.196	0.049	-0.060	0.240	0.166	0.206	0.025	-0.331	0.062	0.265	0.091	-0.055	0.117	0.265	0.091	-0.055	0.117
	p-value	0.694	0.078	0.078	0.202	0.753	0.699	0.116	0.282	0.180	0.874	0.028	0.688	0.082	0.556	0.725	0.451	0.082	0.556	0.725	0.451
GR	r _s	0.049	0.050	0.050	0.157	-0.086	0.213	0.260	0.334	0.102	-0.017	-0.072	0.074	-0.003	-0.343	0.166	0.166	-0.003	-0.343	0.166	0.166
	p-value	0.753	0.747	0.753	0.310	0.578	0.166	0.088	0.027	0.510	0.913	0.642	0.635	0.986	0.023	0.280	0.280	0.635	0.986	0.023	0.280
Total Bilurbin	r _s	0.827	0.827	0.827	0.827	0.827	0.827	0.827	0.827	0.827	0.827	0.827	0.827	0.827	0.827	0.827	0.827	0.827	0.827	0.827	0.827
	p-value	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Direkt Bilurbin	r _s	0.181	-0.081	0.212	0.441	0.436	0.233	-0.097	0.023	0.251	-0.086	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
	p-value	0.240	0.602	0.167	0.003	0.003	0.127	0.530	0.885	0.056	0.100	0.590	0.995	0.995	0.995	0.995	0.995	0.995	0.995	0.995	0.995
INR	r _s	-0.072	-0.147	0.213	0.214	0.201	-0.146	-0.240	-0.239	-0.459	0.157	0.157	0.157	0.157	0.157	0.157	0.157	0.157	0.157	0.157	0.157
	p-value	0.644	0.342	0.164	0.164	0.192	0.343	0.116	0.059	0.118	0.002	0.309	0.309	0.309	0.309	0.309	0.309	0.309	0.309	0.309	0.309

Kontrol

Sodyum	r _s	0.065	0.087	-0.027	0.019	0.388	-0.060	0.105	-0.029	0.206	0.030										
	p-value	0.675	0.576	0.864	0.903	0.009	0.699	0.498	0.853	0.179	0.845										
Kreatinin	r _s	0.079	0.123	0.254	0.211	0.253	0.537	0.277	0.082	0.171											
	p-value	0.608	0.427	0.097	0.170	0.097	<0.001	0.069	0.595	0.267											
AST	r _s	0.888	0.168	-0.172	-0.117	0.065	0.088	-0.048	0.039												
	p-value	<0.001	0.275	0.263	0.448	0.676	0.570	0.755	0.803												
ALT	r _s	0.362	-0.093	-0.020	0.209	0.190	-0.102	0.028													
	p-value	0.016	0.548	0.898	0.174	0.216	0.509	0.858													
GGT	r _s	0.275	0.037	0.379	0.181	0.171	0.074														
	p-value	0.071	0.810	0.011	0.239	0.267	0.633														
ALP	r _s	0.323	0.405	0.127	0.094	0.042															
	p-value	0.032	0.006	0.410	0.545	0.789															
Albumin	r _s	0.478	0.225	0.296	0.087																
	p-value	0.001	0.142	0.051	0.574																
Hemoglobin	r _s	0.364	-0.036	0.064																	
	p-value	0.015	0.815	0.679																	
Lökosit	r _s	0.309	0.076																		
	p-value	0.041	0.625																		
Trombosit	r _s	0.035																			
	p-value	0.822																			
Yaş	r _s	-0.473	-0.367	-0.366	-0.392	0.159	0.113	-0.082	-0.059	0.038	-0.198	0.519	0.203	-0.135	0.082	-0.534	-0.012	-0.086	-0.406	-0.259	0.278
	p-value	0.001	0.014	0.015	0.009	0.303	0.465	0.597	0.705	0.807	0.197	<0.001	0.187	0.383	0.597	<0.001	0.938	0.577	0.006	0.089	0.068
GST	r _s	-0.093	0.506	0.908	0.128	0.139	-0.199	0.203	0.128	0.032	-0.066	-0.374	0.020	0.033	0.023	0.302	0.042	-0.094	0.110	0.202	-
	p-value	0.547	<0.001	<0.001	<0.001	0.369	0.195	0.187	0.409	0.836	0.670	0.012	0.897	0.830	0.882	0.046	0.789	0.544	0.479	0.189	0.386

Hasta

Neopterin	r _s	0.118	-0.117	-0.167	-0.171	-0.011	-0.077	0.157	0.095	0.135	0.019	-0.119	0.312	0.287	-0.052	0.205	0.132	0.127	0.082
	p-value	0.445	0.449	0.278	0.267	0.942	0.620	0.307	0.541	0.381	0.905	0.442	0.039	0.059	0.737	0.182	0.394	0.410	0.599
IFN	r _s	0.453	0.039	-0.072	0.187	0.187	0.064	0.032	0.021	-0.187	0.076	-0.108	0.053	0.037	-0.139	-0.105	0.016	-0.064	0.160
	p-value	0.002	0.802	0.642	0.225	0.275	0.681	0.836	0.893	0.225	0.622	0.484	0.731	0.810	0.367	0.496	0.920	0.681	0.300
IDO	r _s	0.156	-0.142	0.275	0.172	0.275	0.172	0.007	-0.101	-0.367	0.046	-0.028	0.094	0.336	0.073	-0.062	0.032	0.187	0.024
	p-value	0.312	0.357	0.071	0.264	0.071	0.264	0.963	0.513	0.014	0.767	0.858	0.544	0.026	0.638	0.691	0.837	0.225	0.876
G6PD	r _s	-0.649	-0.127	-0.097	0.131	0.024	-0.039	0.015	0.043	0.063	-0.076	-0.032	0.063	-0.076	-0.032	-0.025	0.090	0.070	0.107
	p-value	<0.001	0.413	0.533	0.396	0.876	0.800	0.922	0.779	0.686	0.623	0.838	0.623	0.838	0.874	0.874	0.563	0.654	0.488
GR	r _s	0.106	0.059	0.027	0.074	0.091	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	-0.034	0.185	-0.219	0.000	-0.080	-0.361	-0.323	0.286
	p-value	0.495	0.706	0.861	0.635	0.557	0.948	0.828	0.228	0.153	0.998	0.608	0.016	0.032	0.060	0.060	0.016	0.032	0.060
Total_ Blurbin	r _s	0.838	0.117	-0.127	-0.082	0.003	-0.124	0.067	0.002	-0.003	0.004	0.021	-0.076	-0.003	0.004	0.021	-0.076	0.069	0.069
	p-value	<0.001	0.451	0.410	0.598	0.984	0.424	0.668	0.990	0.984	0.979	0.894	0.622	0.658	0.622	0.658	0.622	0.658	0.658
Direkt Blurbin	r _s	0.028	-0.093	-0.071	0.077	-0.055	0.022	0.060	-0.076	-0.126	0.125	0.080	0.119	0.060	-0.076	-0.126	0.125	0.080	0.119
	p-value	0.855	0.550	0.649	0.621	0.722	0.886	0.699	0.626	0.415	0.420	0.607	0.440	0.699	0.626	0.415	0.420	0.607	0.440
INR	r _s	0.104	-0.103	0.346	0.324	0.331	0.331	0.331	0.331	0.331	0.331	0.331	0.331	0.331	0.331	0.331	0.331	0.331	0.331
	p-value	0.504	0.507	0.022	0.032	0.028	0.028	0.028	0.028	0.028	0.028	0.028	0.028	0.028	0.028	0.028	0.028	0.028	0.028
Sodyum	r _s	-0.228	0.242	0.132	0.109	0.101	0.042	0.034	0.055	0.033	0.033	0.033	0.033	0.033	0.033	0.033	0.033	0.033	0.033
	p-value	0.137	0.113	0.392	0.479	0.515	0.786	0.825	0.722	0.830	0.830	0.830	0.830	0.830	0.830	0.830	0.830	0.830	0.830
Kreatinin	r _s	0.344	-0.293	0.064	0.352	0.048	0.076	-0.230	-0.172	0.260	0.260	0.260	0.260	0.260	0.260	0.260	0.260	0.260	0.260
	p-value	0.022	0.054	0.681	0.019	0.759	0.625	0.133	0.265	0.088	0.088	0.088	0.088	0.088	0.088	0.088	0.088	0.088	0.088
AST	r _s	0.852	0.138	0.182	-0.172	0.090	0.510	0.287	0.318	0.318	0.318	0.318	0.318	0.318	0.318	0.318	0.318	0.318	0.318
	p-value	<0.001	0.371	0.236	0.266	0.563	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
ALT	r _s	0.265	-0.026	-0.109	-0.199	0.446	0.204	0.444	0.444	0.444	0.444	0.444	0.444	0.444	0.444	0.444	0.444	0.444	0.444
	p-value	0.082	0.867	0.480	0.195	0.002	0.184	0.003	0.184	0.003	0.184	0.003	0.184	0.003	0.184	0.003	0.184	0.003	0.003

GGT	r _s	0.540	0.254	0.394	0.041	0.308	0.179
	p-value	<0.001	0.096	0.008	0.790	0.042	0.245
ALP	r _s	0.125	0.399	0.247	0.591	-	0.012
	p-value	0.419	0.007	0.106	< 0.001	0.936	0.936
Albumin	r _s	0.285	-0.002	0.188	0.060	0.060	0.060
	p-value	0.061	0.988	0.221	0.697	0.697	0.697
Hemoglobin	r _s	0.134	0.150	0.177	0.177	0.177	0.177
	p-value	0.387	0.332	0.250	0.250	0.250	0.250
Lökosit	r _s	0.616	0.616	0.616	0.616	0.616	0.616
	p-value	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Trombosit	r _s	-	-	-	-	-	-
	p-value	0.106	0.106	0.106	0.106	0.106	0.106
		0.493	0.493	0.493	0.493	0.493	0.493

5. TARTIŞMA

Kemik, deri, diş, ekstremit ve kalp gibi organların ilk nakil çalışmalarına eski tarihlere gidilerek Yunan, Hint, Roma ve Çin mitolojilerinde rastlamak mümkündür (114-116).

Bunun yanında altıncı yüzyılda rekonstrüktif cerrahi amacıyla deri nakli gerçekleştiren İtalyan bir cerrah olan Gasparo Tagliacozzi, farklı bir kişiden yapılan nakil sonucu meydana gelen immünolojik reaksiyonu tanımlamıştır. Bir diğer önemli Fransız cerrah olan Alexis Carrel yirminci yüzyılın başlarında vasküler anastomoz alanında yeni metodlar geliştirmiş, köpeklerde başarılı böbrek nakillerine imza atmıştır. İnsandan insana ilk organ nakli 1933 yılında Sovyetler Birliği'nde U.U. Voronoy tarafından gerçekleştirilmiştir fakat başarılı olamamıştır (117, 118).

Cerrahi yöntemlerin gelişme göstermesine rağmen organ nakil denemelerinin başarısız olması immünolojik açıdan eksikliklerin olduğunu gösteriyordu. İmmünoloji alanında uzmanlaşmış İngiliz Biyolog Sir Peter Brian Medawar deri nakli üzerine araştırmalar yapmış, doku transplantasyonunun babası olarak kabul görmesine sebep olan doku reddi ve immün tolerans üzerine önemli keşifler yapmıştır. 1951 ve 1952 yıllarında Hume ve arkadaşları tarafından, dokuz kez böbrek nakli gerçekleştirilmiş, immünosüpresyon amacı ile kortizon kullanılmasına rağmen doku reddi gerçekleşmiştir. Dr. Thomas Murray tarafından ilk başarılı böbrek nakli, tek yumurta ikizleri arasında gerçekleştirilmiş ve 8 yıl normal fonksiyonları ile hayatta kalmıştır. 1963 yılında ilk başarılı akciğer nakli Dr. James Hardy tarafından gerçekleştirilmiş ve 18 gün boyunca organ reddi oluşmamıştır. 1967 yılında ilk başarılı karaciğer nakli Dr. Thomas Starzl tarafından yapılmıştır. Aynı yıl içerisinde ilk kalp nakli Güney Afrika'da Dr. Christiaan Barnard tarafından gerçekleştirilmiş hasta 18 gün yaşamıştır. Daha sonrasında da 100'e yakın nakil denemeleri gerçekleştirilmiş fakat immünosüpresyon açısından başarısızlıklar oluşmuştur (119, 120).

İmmünosüpresyon sağlamak amacı ile ilerleyen zamanlarda 6-merkaptopürin kullanımı, ardından da azatioprin ve steroidlerin kombine kullanımı organ reddi sorunlarını büyük ölçüde ortadan kaldırmıştır. 1976 yılında ise siklosporinin keşfi ve 1984 yılında klinik kullanıma girmesi ile organ nakli açısından yeni bir sayfa açılmış ve sağ kalım oranları ciddi artış kaydetmiştir. Günümüzde takrolimus, sirolimus,

mikofenolik asit, everolimus gibi güncel ilaçlar ise sağ kalım açısından daha iyi sonuçlar sağlamıştır (118).

İmmün sistem tarafından oluşturulan yanıtın ölçülebilmesi için sitokin düzeylerinden faydalanılmaktadır. Fakat sitokinlerin önemli bir kısmı otokrin ve parakrin etki ederek kısa bir sürede ortamdan atılırlar. Bu sebeple meydana gelen immün tepkinin ölçülebilmesi için daha stabil biyogöstergelere ihtiyaç duyulmaktadır (121).

Bu tez çalışması kapsamında karaciğer nakli yapılan hastalarda, neopterin, INF- γ , IDO, GR, GST ve G6PD düzeyleri değerlendirilmiştir. Çalışmamıza karaciğer doku alıcıları ve vericileri olarak toplam 88 olgu katılmıştır. Yaş açısından karşılaştırılma yapıldığında farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir ($p<0.001$).

En önemli göstergelerden biri neopterinidir. Çünkü neopterin hem daha stabil hem de idrar yolu ile atıldığından dolayı kolay bir şekilde biyogösterge olarak kullanılabilir (122).

Neopterin miktarının, T hücrelerinin çoğalmasından üç gün öncesinden maksimum düzeye ulaşması ve enfeksiyon zamanlarında spesifik antikorların üretilmesinden 1 hafta öncesinden yüksek seviyelerde bulunması neopterin farklı kılmakta ve hücrel immün yanıtta biyogösterge olarak çok önemli olduğu belirtilmektedir. Böbrek, karaciğer, kalp, akciğer gibi solid organ nakillerinde de organ reddi ile neopterin seviyeleri arasında anlamlı bir ilişkinin bulunması, neopterin organ nakli açısından çok önemli bir noktaya yerleştirmektedir (123, 124).

Schäfer ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada böbrek nakli yapılan hastalardan geri dönüşümsüz olarak organ reddi gelişenlerde neopterin seviyeleri yükselmiş ve özellikle altı hastada red süreci boyunca diğer hastalarda görülmemiş düzeylere 500-1000 nmol/L gibi yüksek seviyelere ulaşmıştır (125).

Bunun yanında Müller ve ark. tarafından yapılan önemli bir çalışmada kalp nakli yapılan hastalarda serum neopterin seviyeleri incelenmiştir. Yapılan incelemeler sonucu stabil organ fonksiyonları gözlenen durumlarda düşük neopterin seviyeleri incelenmesine karşın organ reddi olguları sırasında neopterin seviyelerinde ciddi artışlar kaydedilmiştir (126).

Dokuz karaciğer nakli alıcısında safra neopterin konsantrasyonları, nakil sonrası erken dönemde (ortalama 25 gün) günlük olarak ölçülmüştür. Konsantrasyonların, reddedilme epizodları sırasında güçlü bir şekilde arttığı ve başarılı antirejeksiyon tedavisinden sonra hızla azaldığı gözlenmiştir. Üriner neopterin değişikliklerinin aksine,

sitomegalovirüs enfeksiyonu ve hepatit, biliyer neopterin konsantrasyonlarında bir artışa neden olmamıştır. Neopterinin safrada ve idrarda bulunması, karaciğer allogreft alıcılarında reddin enfeksiyöz komplikasyonlardan ayırt edilmesine yardımcı olabilir (127).

Karaciğer nakli alıcılarında ameliyat sonrası erken dönem serum neopterin düzeylerinin nakil sonrası bakteriyemi ve mortalite ile ilişkili olup olmadığını araştıran bir çalışmada; transplantasyonu takip eden 10. günde serum neopterin düzeyleri bakteriyemik hastalarda bakteriyemisi olmayan hastalara göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (128).

Kalp nakli alıcılarında nakil sonrası erken dönemde neopterin plazma düzeylerinin kısa ve uzun vadeli sonuçlar üzerindeki ilişkisini analiz etmek için tasarlanan bir çalışmaya; immünosupresif tedavi olarak steroidler, siklosporin A veya takrolimus ve mikofenolat mofetil alan hastalar dahil edilmiştir. Neopterin seviyelerinin, transplantasyon sonrası erken makrofaj aktivasyonu, kısa vadede akut selüler rejeksiyon (ACR) ve antikor-aracılı rejeksiyon (AMR) gelişimi için oldukça öngörülebilir ve kalp transplantasyonu sonrası uzun vadede kardiyak allogreft vaskülopati (CAV) gelişimi ile ilişkilidir (129).

Çalışmamızda karaciğer nakli gerçekleştirilen hastalarda, kontrol grubuna kıyasla alıcılarda neopterin seviyeleri anlamlı olarak yüksek tespit edilmiştir ($p<0.001$). Çalışma sonuçlarımız önceden yapılmış çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.

İnterferon gama, monosit ve makrofajlarca neopterin salınımını ve kinürenin yolağı aracılığı ile triptofan katabolizmasını gerçekleştiren IDO enziminin oluşumunu tetikler. Hücrel düzeyde immün yanıtın arttığı böyle durumlarda neopterin artışı ve triptofanın tüketilmesi INF- γ ve IDO'ı da önemli kılmaktadır (130).

İnterferon gama neopterin oluşumunda önemli bir yere sahip olan GTP siklohidrolaz I enziminin aktivasyonunda önemli bir yere sahiptir (131).

T lenfosit ve doğal öldürücü hücreler tarafından indüklenen INF- γ 'nın interferon alfa ve interferon beta kadar antiviral aktivitesi bulunmamaktadır. Fakat bunun yanında diğer tip interferonlardan 1000 kata kadar daha fazla immünomodülatör etkiye sahiptir (132).

Makrofaj aktive edici olarak da tanımlanan INF- γ antijenler, alloantijenler ve mitojenler aracılığı ile üretilirler. INF- γ yardımcı T hücreleri, sitotoksik T hücreleri ve doğal öldürücü hücreler tarafından üretilebilir. Makrofajların intraselüler aktivitelerinin artmasına sebep olur ve reaktif oksijen bileşiklerinin ve NADPH oksidaz oluşumunun

artışına sebep olurlar. Ayrıca major histokompatibilite proteinlerinin üretimini de artırarak antijen miktarını artırır (133, 134).

Greft infiltre eden doğal öldürücü hücrelerin (NK), IFN- γ 'nin ana kaynağı olduğu gösterilmiş ve serumdaki IFN- γ seviyelerinin, özellikle allogreft alıcılarında, transplantasyondan sonraki üçüncü günde belirgin şekilde arttığı tespit edilmiştir. Buna göre, NK hücrelerinin yokluğunda IFN- γ seviyeleri önemli ölçüde azalmaktadır. Ayrıca, greft sağkalımı önemli ölçüde uzamıştır. Bu nedenle, IFN- γ üreten NK hücrelerinin, transplantasyondan hemen sonra doğuştan gelen ve edinilmiş bağışıklık tepkileri arasında önemli bir bağlantı olduğu düşünülmektedir. IFN- γ , transplantasyondan sonraki üçüncü günde en yüksek serum seviyeleri ile transplantasyondan sonra erken üretilir. Konakçıda üretilen NK hücrelerinin ve çok daha az ölçüde donör NK hücrelerinin, transplantasyon sonrası erken dönemde üretilen IFN- γ 'nin çoğunun kaynağı olduğu gösterilmiştir. Önemli olarak, NK hücrelerinin yokluğunda IFN- γ 'nin serum seviyelerinin önemli ölçüde azaldığı ve greft sağkalımının önemli ölçüde uzadığı gösterilmiştir (135).

Karahanova ve ark. tarafından yapılan araştırmada karaciğer transplantasyonu olan hastalarda INF- γ düzeyleri incelenmiş ve en yakın preoperatif dönem INF- γ düzeylerinin erken organ disfonksiyonu için önemli bir parametre olarak kullanılabileceğini gösterdiklerini belirtmişlerdir (136).

Bunun yanında Nazari ve ark. böbrek nakli açısından stabil organ fonksiyonu olan ve olmayan hastalarda INF- γ salgılayan hücrelerin miktarı üzerinde çalışmalar yapmıştır. Bu çalışmanın neticesinde rejeksiyon gelişen hastalarda, stabil organ fonksiyonu olan hastalara nazaran yüksek seviyede INF- γ salgılayan hücre sayısı tespit edilmiştir (137).

Çalışmamızda karaciğer nakli gerçekleştirilen hastalar ile kontrol grubu arasında INF- γ seviyeleri açısından anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0.05$).

Triptofan esansiyel bir aminoasittir. Diyetlerle birlikte alınan triptofanın yüzde 3'ü vücutta yüzde 1'i ise beyinde kullanılarak hidrosilasyon yoluyla birlikte serotonine dönüştürülür. Triptofan, triptofan 5-hidroksilaz enzimi ile 5-OH triptofana hidroksillenir, L-aminoasit dekarboksilaz enzimi aracılığıyla dekarboksilasyona uğrar ve serotonin oluşur. Serotonin gastrointestinal sistemde, trombositlerde ve beyinde oluşur (138).

Triptofan metabolizmasının yüzde 90'ının gerçekleştiği oksidasyon yoluyla bir diğer adıyla kinürenin yolunda ise triptofandan triptofan 2,3-dioksijenaz ve indolamin

2,3 dioksijenaz enzimleri aracılığı ile N-formil kinürenin oluşur. Devamında ise farklı enzimler ile çeşitli fizyolojik etkilere sahip 3-hidroksiantranilik asit, kinolinik asit, kinürenik asit gibi ara bileşikler meydana gelir (139).

Sekizinci kromozomda lokalize halde INDO geni tarafından kodlanan IDO enzimi normalde sağlıklı bireylerde düşük seviyelerdedir. Fakat enfeksiyon, inflamasyon ve immün cevabın artışına bağlı olarak indüklenir ve triptofan katabolik ürünleri artmaya başlar.

İndolamin 2,3 dioksijeneaz enzimi immün yanıtın düzenlenmesinde önemli yere sahiptir (140).

Yapılan bir çalışmada belataseptinin transplant alıcılarında IDO'yu yukarı regüle edip etmediği araştırılmıştır. Her protokolda ve tedavi amaçlı analizlerde belatasept ve takrolimus ile tedavi edilen hastalar arasında kinürenin/triptofan oranında ve IDO aktivitesinde anlamlı bir fark bulunamamıştır. Ayrıca, belataseptin insan dendritik hücrelerinde (DC) in vitro olarak IDO'yu etkilediğine dair hiçbir kanıt bulunamadı. Bu veriler, takrolimus ile tedavi edilen hastalarla karşılaştırıldığında klinik transplant ortamında belataseptinin saptanabilir IDO indüksiyonu ile ilişkili olmadığını göstermiştir (141).

Uzun yıllardır, IDO'nun virüslerin, bakterilerin, hücre içi patojenlerin veya kötü huylu hücrelerin büyümesini yerel mikroçevreden triptofanı çekerek sınırlayan doğuştan gelen bir savunma mekanizması olduğu bilinmektedir. Son zamanlarda, çok sayıda deneysel çalışma, immün yanıtların düzenlenmesinde, immün toleransın oluşturulmasında veya T-hücre yanıtsızlığının indüklenmesinde IDO'nun önemli bir rolü olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, kupfer hücrelerinin IDO geninin immünolojik rolü hakkında çok az şey bilinmektedir. Bir çalışmada sıçan karaciğer allograft modellerinde hepatik morfolojik değişiklikler ve IDO'nun akut red epizodlarında tolerans indüksiyonuna karşı immünolojik rolü ele alınmıştır. Kupfer hücrelerinde IDO ekspresyonunda, hem akut rejeksiyonda hem de karaciğer greftlerinin immün toleransındaki patofizyolojik değişikliklerle korele olan dinamik değişiklikleri, immünosupresyon kullanmadan ameliyattan 1, 3, 5 ve 7 gün sonra gözlenmiştir. Son çalışmalar, alerji, tümör immünolojisi, otoimmünite, HIV enfeksiyonu ve transplant bağışıklığı dahil olmak üzere birçok yanıtta IDO'nun derin bir immün düzenleyici rolü olduğunu öne sürmüştür. IDO'nun immün yanıtı nasıl düzenlediğini açıklamak için iki teori ele alınmıştır: (1) yerel triptofan tükenmesi, çünkü triptofan birçok hücreyel organizmanın hayatta kalması ve bölünmesi için gereklidir ve (2) triptofan

metabolitlerinin birikmesi, döngüsel allo-yanıt veren T hücrelerini durdurarak onları apoptoza duyarlı hale getirir. Mevcut veriler ışığında, IDO aracılı immün modülasyon, transplant tolerans indüksiyonu çalışmalarında kullanım için çekici bir indeks gibi görünmektedir (142).

Suarez-Fuentetaja ve ark. IDO'nun kalp transplantasyonunda rejeksiyon açısından etkilerini araştırmak amacıyla bir çalışma yapmıştır. Bu çalışmada kalp transplantasyonu olan hastalarda 1 ay sonra serum IDO aktivitesi ölçülmüş ve akut rejeksiyon olan hasta grubunda, akut rejeksiyon olmayan gruba kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunduğu belirtilmiştir (143).

Yılmaz ve ark. yaptığı bir çalışmada kontrol grubuna kıyasla böbrek transplantasyonu gerçekleştirilen hastalarda anlamlı bir şekilde IDO seviyelerinin arttığı gözlenmiştir (144).

Kaden ve ark.'nın gerçekleştirdiği başka bir çalışmada ise böbrek transplantasyonu sonrası IDO aktivitesine bağlı olarak oluşan kinürenin seviyeleri araştırılmış, akut rejeksiyon olan hastalarda kinürenin seviyesinin yükseldiği tespit edilmiştir. Erken aşamada güvenilir bir tanı aracı olabileceğini belirtmişlerdir (145).

Çalışmamızda karaciğer nakli gerçekleştirilen hastalar ile kontrol grubu arasında IDO seviyeleri incelendiğinde, IDO seviyelerinin alıcılarda kontrol grubuna göre daha yüksek seviyelere ulaşabildiği görülmüştür ($p<0.05$). Bu sonuç Suarez-Fuentetaja ve arkadaşlarının, Yılmaz ve arkadaşlarının ve Kaden ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaları desteklemektedir.

Antioksidan enzimler reaktif oksijen bileşiklerinin meydana gelmelerini engellemek, sebep oldukları zararları önlemek ve vücuttan atılmalarını sağlamak amacıyla çalışırlar. Bu enzim sistemlerine antioksidan savunma sistemleri de denebilir (146).

Faz II detoksifiye edici bir enzim olan GST, oksidatif stres ürünleri gibi elektrofilik bileşiklerin detoksifikasyonunda işlev görür ve karaciğer dokusunda yüksek oranda eksprese edilir. GST, hücreleri ROS hasarına karşı korumak için glutatyon kullanımını düzenleyebilir. GST'in aşırı ekspresyonu, kanser hücrelerini kemoterapötik ilaçlardan apoptoza karşı korur. Bir çalışmada, karaciğer transplantasyonundan sonra tekrarlayan hepatoselüler karsinoma tümörleri geliştiren hepatoselüler karsinoma alıcılarının erken faz karaciğer dokularında GST- α geninin en fazla regüle edilen gen olduğu bulunmuştur (147).

GST enzimleri, hücre içi sitozolik enzimlerdir. Bu nedenle, protein ekspresyonundan ziyade GST serum seviyeleri, hücre hasarını veya hücre dönüşümünü yansıtır. GST'nin yarı ömrü kısadır (<90 dakika), bu nedenle GST düzeylerindeki değişiklikler devam eden karaciğer hücresi ölümüyle yakından ilişkilidir. Özellikle akut karaciğer yetmezliğinde GST- α oldukça yükselir ve daha kötü sonuçlarla ilişkilidir. GST- α seviyeleri, karaciğer transplantasyonundan sonra orta veya şiddetli rejeksiyon gelişen karaciğer transplant alıcılarında, hafif rejeksiyonu olan veya olmayan alıcılara kıyasla önemli ölçüde yükselir. Ayrıca, GST- α 'nın ALT, AST ve bilirubin ile pozitif korelasyon gösterdiği ve genel olarak karaciğer hasarı ile seruma GST- α salınımı arasında bir bağlantı anlamına gelebilir. In vitro veriler, farklı ilaçlara yanıt olarak GST- α ekspresyonunun arttığını göstermiştir. Ancak immünosupresif ajanların GST- α ekspresyonu üzerindeki etkisi şimdiye kadar test edilmemiştir. Jochum ve ark.'nın yaptığı çalışmada iyi sonuç alınan alıcıların GST- α seviyeleri, bağışıklığı baskılayıcı ilaç almayan donörlerinkine benzer bulunmuştur. Birlikte ele alındığında, sonuçları kötü olan alıcılardaki yüksek GST- α değerleri, bozulmuş karaciğer fonksiyonu ile daha yüksek hücre ölümünü yansıtır gibi görünmektedir (148). Bu nedenle çalışmamızda GST izoenzimleri arasında GST- α düzeylerini ölçtük.

Glutasyon S-transferaz ailesi dimerik ve büyük oranda sitozolik olan bir enzim grubudur. Bu enzim grubunun hem detoksifiye edici hemde hücre içinde bağlayıcı ve taşıyıcı özelliği vardır. Ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda çok önemli yere sahiptirler ve detoksifikasyon işleminde glutasyonun birçok elektrofilik bileşik ile konjuge olmasını sağlarlar. Konjugasyon yolu ile bileşikler atılır ya da merkaptürik asitlere dönüştürülürler. Ayrıca GST enzimleri kanserojen ve mutajenik bileşiklerin detoksifikasyonunda da yer alırlar (149, 150).

Nagral ve ark.'nın yaptığı çalışmada GST- α enziminin akut hücresel reddin hassas bir belirteci olduğu ve karaciğer hasarının hassas bir göstergesi olduğu fakat reddi teşhis ve tedavi etmek amacıyla etkin ve spesifik olmadığı açıklanmıştır (151).

Dickson ve ark GST- α ve pi-GST enzimleri ile karaciğer transplantasyonundan sonra erken allograft üzerinde çalışmış ve GST- α seviyelerini şiddetli red durumlarında daha yüksek seviyelerde tespit etmiş, pi-GST açısından anlamlı bir tespit yapamamışlardır (152).

Çalışmamızda kontrol grubu ile alıcı hastalar arasında GST- α enzimi açısından anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$).

En önemli antioksidan enzimlerden biri olan GR ise 1951 yılında bulunmuştur. GR disülfür substratları ile indirgenmiş piridin nükleotidleri arasında elektron transferini gerçekleştirir. GR enziminin en önemli görevlerinden biri de hücre içerisindeki indirgenmiş glutatyonun yükseltgenmiş glutatyona oranını stabil tutmaktır. Bu oran eritrosit hücrelerinde 500/1'dir. Oran bozulduğunda eritrosit hemoliz olmaktadır. Hidroperoksitlerin detoksifikasyonu ve diğer bazı reaktif bileşiklerin indirgenmesi sonucu oluşan GSSG formunun indirgenmesi önemlidir. GR hücre içinde GSSG/GSH oranını yükselterek -SH/-SS oranını muhafaza eder (153, 154).

Villegas ve ark. hepatit C virüsü sirozu olan karaciğer nakilli hastalarda nakil sonrası oksidatif stese bağlı olarak GR seviyelerinin arttığı ve üç gün sonra maksimuma ulaştığını kaydetmişlerdir (155).

Karaciğer nakli alıcılarında antioksidan enzim aktivitelerinin zamansal varyasyonlarını değerlendirmek amacıyla yapılan bir çalışmada; GR düzeylerinin transplantasyondan 1 saat sonra biraz arttığı ancak daha sonra çalışma sırasında azaldığı bulunmuştur. Azalan GR aktivitesi, daha önce yapılan çalışmalarda belirtildiği gibi, bazı hastaların pentoz fosfat yolunda bir blokaj sergilediği hipotezini desteklemektedir. GR'nin etkisi, NADPH'yi gerektirir ve GSH'yi yeniden üretir. Pentoz fosfat yolundaki ilk adımı katalize eden ve aktivitesi NADP konsantrasyonu tarafından düzenlenen bir enzim olan G6PD'nin bu durumda bloke edilmesi mümkün olabilir (156).

Yapılan incelemelerde çalışmamızda karaciğer organ alıcılarını ve kontrol grubunu kıyasladığımızda GR seviyelerinde önemli düşüş tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Önemli bir antioksidan enzim de G6PD'dir. Bu enzim tüm hücrelerde bulunur fakat eksikliğinde en çok eritrositler etkilenir. G6PD eksikliği en çok görülen kalıtsal hastalıklardandır ve X'e bağlı kalıtsal geçiş özelliği taşır. Bu sebeple erkekler daha fazla risk altındadır (156, 157).

Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz enzimi glutatyonun hücre içinde belirli bir seviyede tutulabilmesi için gerekli olan NADPH'nin yapımında önemli bir göreve sahiptir. G6PD eksikliğinde meydana gelen oksidasyon sonucu yeterli indirgenmiş glutatyon bulunamadığından eritrositlerde hemoliz gelişir. Bu sebeple G6PD hayatı öneme sahiptir. Asetanilid, doksorubisin, niridazol, nitrofurantoin, furazolidon, fenazopiridin, metilen mavisi, primakin, sülfametoksazol gibi kimyasal bileşiklerin G6PD eksikliğinde hemolize yol açtıkları kesin olarak açıklanmıştır (158).

Milman N. tarafından yapılan bir çalışmada, böbrek fonksiyonu normal olan 10 adet böbrek nakilli hastada G6PD seviyelerine bakılmış ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde farklı olmayan değerler bulunmuştur (152).

Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre alıcı hasta grubu ile kontrol grubunu karşılaştırdığımızda G6PD enzim seviyelerinde anlamlı bir artış görülmüştür ($p<0.05$).



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, karaciğer nakli olan hastaların serum neopterin, INF- γ , IDO, GST düzeylerinin ve hemolizat numunelerinde G6PD ve GR enzimlerinin aktivite tayinleri değerlendirilmesi ve teşhis açısından bu değerlerin birbirleri ile ilişkilerini değerlendirmeyi amaçladık.

Küçük örneklem büyüklüğü ve tek merkezli hasta grubunun çalışmaya dahil edilmesi çalışmamızı sınırlandırmıştır. Ancak yeni ve rutin protein biyobelirteçlerini birlikte değerlendiren ilk çalışma olması çalışmamızın güçlü yönlerindendir. Diğer bir güçlü yönü ise ileriye dönük bir kohort çalışmadır. Alıcılarda anlamlı olarak daha yüksek serum neopterin, IDO ve G6PD seviyeleri bulundu; bu bulgular, canlıdan canlıya karaciğer nakil operasyonları için yeni tanısal belirteçlerin tanımlanmasını kolaylaştırabilir.

KAYNAKLAR

1. Andrews PA. Renal Transplantation. *Br Med J* 2002, 324: 530-4.
2. Fox AN, Brown RS Jr. Is the patient a candidate for liver transplantation? *Clin Liver Dis* 2012, 16(2): 435-48.
3. Starzl TE, Marchioro TL, Vonkaulla KN, Hermann G, Brittain RS, Waddell WR. Homotransplantation of the liver in humans. *Surg Gynecol Obstet* 1963, 117: 659-76.
4. Starzl TE, Putnam CW, Koep LJ. Current status of liver transplantation. *South Med J* 1977, 70(4): 389-90.
5. Yanaga K, Shimada M, Gordon RD, Tzakis AG, Makowka L, Marsh JW, Stieber AC, Todo S, Iwatsuki S, Starzl TE. Liver transplantation: an unfinished product. *Transplant Proc* 1989, 21(2): 2197-200.
6. Fung JJ, Todo S, Jain A, McCauley J, Alessiani M, Scotti C, Starzl TE. Conversion from cyclosporine to FK 506 in liver allograft recipients with cyclosporinerelated complications. *Transplant Proc* 1990, 22(1): 6-12.
7. Timbrell JA, Biomarkers in toxicology. *Toxicology* 1998, 129(1): 1-12.
8. Waterfield CJ, Timbrell JA. Biomarkers-an overview. In: Ballantyne B, Marrs TC, Syversen T (eds). *General and Applied Toxicology*, 2nd ed. New York, Grove's Dictionaries INC, 199: 1841-54.
9. Demirhan EA. Organ aktarmaları. Tıbbi Deontoloji ve Genel Tıp Tarihi. Bursa, Güneş ve Nobel Yayınları, 1996: 9-117.
10. Kutlay N. Yaşayanla Yaşayan Etik Açısından Organ ve Doku Aktarımı. Türkiye Organ Nakli Derneği II. Bilimsel Transplantasyon Kongresi. Ankara, 1994: 245-55.
11. Örs Y. Organ Aktarımının Temel Etik Yönleri. *Tübitak Bilim ve Teknik Dergisi* 1994, 57: 324-57.
12. Sanyel D. Yaşamın Bittiği Yerde Bir Diğeri Başlayabilir: Organ Nakli. *Tübitak Bilim ve Teknik Dergisi* 1994, 57: 54-9.

13. Kahan BD. Pien Ch'iao, the legendary exchange of hearts, traditional Chinese medicine, and the modern era of cyclosporine. *Transplant Proc* 1988, 20(2): 2-12.
14. Learoyd P. The history of blood transfusion prior to the 20th century--part 2. *Transfus Med* 2012, 22(6): 372-6.
15. Merrill JP, Murray JE, Harrison JH, Guild WR. Successful homotransplantation of the human kidney between identical twins. *J Am Med Assoc* 1956, 160(4): 277-82.
16. Starzl TE. The saga of liver replacement, with particular reference to the reciprocal influence of liver and kidney transplantation (1955–1967). *J Am Coll of Surg* 2002, 195(5): 587-610.
17. Doğan P. Afyon Kocatepe Üniversitesi Öğrencilerinin Organ Bağışı Konusundaki Bilgi, Tutum ve Davranışları. Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç Hastalıkları Hemşirelik Anabilim Dalı.Yüksek lisans tezi, Afyonkarahisar: Afyon Kocatepe Üniversitesi, 2009.
18. Erdoğan G, Başkal N. Pankreas ve pankreas adacık hücresi transplantasyonu. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences* 1989, 9(4): 267-71.
19. Kälble T, Lucan M, Nicita G, Sell R, Revilla FB, Wiesel M. EAU guidelines on renal transplantation. *European Urology* 2005, 47(2): 156-166.
20. Sandwijk MS, Bemelman FJ, Berg IJM. Immunosuppressive Drugs After Solid Organ Transplantation. *Netherlands The Journal of Medicine* 2013, 71(6): 281-9.
21. Schaefer HM, Helderma HJ. Current and Emerging Maintenance Immunosuppressive Therapy. *Türkiye Klinikleri Nefroloji Özel Dergisi* 2012, 5(3): 1-9.
22. First MR. Immunosuppressive agents and their actions. *Transplant Proc* 2002, 34: 1369-71.
23. Calne RY. The Development of immunosuppressive therapy. *Transplant Proc* 1981, 13: 44-9.
24. Kayaalp O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. İçinde: Kayaalp O (editör). *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, 10. Baskı. Ankara: Pelikan Tıp Teknik Yayıncılık; 2002: 416-8.

25. Kuby J. Transplantation immunology. In: Kuby J (eds). *Immunology*, 3rd ed. New York WH, Freeman Company, 1997: 563-66.
26. Titiz I. Immunosuppression. In: Titiz I (eds). *Transplantation immunology*, 2nd ed. İstanbul, 2003: 33-53.
27. Taylor Al, Watson CJE, Bradley JA. Immunosuppressive agents in solid organ transplantation: Mechanism of action and therapeutic efficacy. *Crit Rev Oncol Hematol* 2005, 7: 23-46.
28. Lampen A, Zhang Y, Hackbarth I, Benet LZ. Metabolism and transport of the macrolide immunosuppressant sirolimus in the small intestine. *J Pharmacol Exp Ther* 1998, 285: 1104-12.
29. Pascual J, Diekmann F, Fernández-Rivera C, Gómez-Marqués G, Gutiérrez-Dalmau A, Pérez-Sáez MJ, Sancho-Calabuig A, Oppenheimer F. Recommendations for the use of everolimus in de novo kidney transplantation: False beliefs, myths and realities. *Nefrología (English Edition)* 2017, 37(3): 253-66.
30. Windholz M, Budavari S, Stroumstos, LY, Fertig MN. The Merck index. *An encyclopedia of chemicals and drugs* 1976.
31. Hoffmann G, Schobersberger W. Neopterin: A mediator of the cellular immune system. *Pteridines* 2004, 15(3): 107-12.
32. Wachter H. *Neopterin: Biochemistry, Methods, Clinical Application*. 1st ed. Berlin: Walter de Gruyter 1992. 1-305.
33. Renneberg R, Chan CP, Nie YM, Leung MF, Bergmann A, Ip M, Rainer T, Schennach H. Neopterin screening to improve safety of blood transfusion. *Pteridines* 2006, 17(4): 103-4.
34. Wachter H, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Werner ER. Neopterin as a marker for activation of cellular immunity: immunological basis and clinical application. *Adv Clin Chem* 1989, 27: 81-20.
35. Fuchs D, Weiss G, Reibnegger G, Wachter H. The role of neopterin as a monitor of cellular immune activation in transplantation, inflammatory, infectious and malignant disease. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1992, 29: 307-41.

36. Berdowska A, Zwirska-Korczala K. Neopterin measurement in clinical diagnosis. *J Clin Phar Ther* 2001, 26: 319-29.
37. Hamerlinck FFV. Neopterin: a review. *Exp Dermatol* 1999, 8: 167–176.
38. Müller MM, Curtius HC, Herold M, Huber CH. Neopterin in Clinical Practice. *Clinical Chim Acta* 1991, 201: 1-16.
39. Wirleitner B, Reider D, Ebner S, Bock G, Widner B, Jaeger M. Monocytederived dendritic cells release NP. *J Leukoc Biol* 2002, 72: 1148–53.
40. Hoffmann G, Wirleitner B, Fuchs D. Potential role of immun system activation associated production of NP derivatives in humans. *Inflamm Res* 2003, 52: 313-21.
41. Weiss G, Widner B, Zoller H, Schobersberger W, Fuchs D. Immune response and iron metabolism. *Bri J Anaesthesia* 1998, 81: 6-9.
42. Baier-Bitterlich G, Fuchs D, Wachter H. Chronic immune stimulation, oxidative stres and apoptozis in HIV infection. *Biochem Pharmacol* 1997, 53: 755–63.
43. Dhont JL, Walter MP, Bauters F, Jouet JP. Neopterins in clinical medicine. *Lancet* 1988, 1: 509-11.
44. Arat-Altındağ ZZ, Şahin G. Neopterin and its clinical importance. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 1993, 13(3): 224-30.
45. Murr C, Widner B, Wirleitner B, Fuchs D. Neopterin as a marker for immune system activation. *Curr Drug Metab* 2002, 3(2): 175-87.
46. Abbas AK, Litchman AH. Cytokines. In: Abbas AK, Litchman AH (eds). *Cellular and molecular immunology*. 5nd ed. Philadelphia, Elsevier Saunders, 2005: 243-74.
47. Schoenborn JR, Wilson CB. Regulation of interferon- γ during innate and adaptive immune responses. *Adv Immun* 2007, 96: 41-101.
48. Boehm U, Klamp T, Groot M, Howard JC. Cellular responses to interferon-gamma. *Annu Rev Immunol* 1997, 15: 749–95.
49. Farrar MA, Schreiber RD. The molecular cell biology of interferon gamma and its receptor. *Annu Rev Immunol* 1993, 11: 571–611.
50. Ivashkiv LB. IFN γ : signalling, epigenetics and roles in immunity, metabolism, disease and cancer immunotherapy. *Nat Rev Immunol* 2018, 18(9): 545-58.

51. Hodny Z, Reinis M, Hubackova S, Vasicova P, Bartek J. Interferon gamma/NADPH oxidase defense system in immunity and cancer. *Oncoimmunology* 2015, 5(2): e1080416.
52. Glimcher LH, Murphy KM. Lineage commitment in the immune system: the T helper lymphocyte grows up. *Genes Dev* 2000, 14: 1693–711.
53. Peng SL, Szabo SJ, Glimcher LH. T-bet regulates IgG class switching and pathogenic autoantibody production. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002, 99: 5545–50.
54. He YF, Wang XH, Zhang GM, Chen HT, Zhang H, Feng ZH. Sustained low-level expression of interferon- γ promotes tumor development: potential insights in tumor prevention and tumor immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother* 2005, 54(9): 891-7.
55. Tayfun F, Şadan G. Kinürenin yolağı metabolizmasındaki bozukluklara bağlı hastalıklar ve tedavi yaklaşımları. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2005, 25(1): 93-7.
56. Garattini S, Mennini T, Samanin R. Deduction of food Intake b, manipulation of central serotonin. *Bitish J. Psychiatry* 1989, 155 (8): 41-51.
57. Leibowitz SF. The role of serotonin in eating disorders. *Dugs* 1990, 39(3): 33-48.
58. Femstrom JD. Aromatic acids and monoamine syntnthesis in the central nervous system: influence of diet *J Nutr Biochem* 1990, 1: 508-17.
59. Richard DM, Dawes MA, Mathias CW, Acheson A, Hill-Kapturczak N, Dougherty DM. L-Tryptophan: basic metabolic functions, behavioral research and therapeutic indications. *Int J Tryptophan Res* 2009, 2: 45-60.
60. King NJ, Thomas SR. Molecules in focus: indoleamine 2,3- dioxygenase. *Int J Biochem Cell Biol* 2007, 39(12): 2167-72.
61. Yuasa HJ, Takubo M, Takahashi A, Hasegawa T, Noma, H, Suzuki, T. Evolution of vertebrate indoleamine 2,3-dioxygenases. *J Mol Evol* 2007; 65:705–14.
62. Spacek M. Kynurenine in disease, with particular reference to cancer. *Can Med Assoc J* 1955; 73: 198–201.
63. Yoshida R, Hayaishi O. Induction of pulmonary indoleamine 2,3-dioxygenase by intraperitoneal injection of bacterial lipopolysaccharide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978, 75: 3998– 4000.

64. Yoshida R, Urade Y, Tokuda M, Hayaishi O. Induction of indoleamine 2,3-dioxygenase in mouse lung during virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979, 76: 4084–6.
65. Mellor AL, Munn DH. IDO expression by dendritic cells: tolerance and tryptophan catabolism. *Nat Rev Immunol* 2004, 4(10): 762-74.
66. Munn, DH, Mellor AL. Indoleamine 2,3-dioxygenase and tumorinduced tolerance. *J Clin Investig* 2007, 117: 1147-54.
67. Taylor MW, Feng G. Relationship between interferon- γ , indoleamine 2,3-dioxygenase, and tryptophan catabolism. *FASEB Journal* 1991, 5: 2516-22.
68. Burke F, Knowles RG, East N, Balkwill FR. The role of indoleamine 2,3-dioxygenase in the anti-tumour activity of human interferon-gamma in vivo. *Int J Cancer* 1995, 60: 115–22.
69. Knubel CP, Martínez FF, Fretes RE, Lujan CD, Theumer MG, Cervi L, Motrán, CC. Indoleamine 2, 3-dioxigenase (IDO) is critical for host resistance against *Trypanosoma cruzi*. *The FASEB Journal* 2010, 24(8): 2689-701.
70. Munn DH, Sharma MD, Baban B, Hardin HP, Zhang Y, Ron D, Mellor, AL. GCN2 kinase in T cells mediates proliferative arrest and anergy induction in response to indoleamine 2,3-dioxygenase. *Immunity* 2005, 22: 633– 42.
71. Frumento G, Rotondo R, Tonetti M, Damonte G, Benatti U, Ferrara GB. Tryptophan-derived catabolites are responsible for inhibition of T and natural killer cell proliferation induced by indoleamine 2,3-dioxygenase. *J Exp Med* 2002; 196: 459-68.
72. Muller AJ, Sharma MD, Chandler PR, DuHadaway JB, Everhart ME, Johnson III BA, Kahler DJ, Pihkala J, Soler AP, Munn DH, Prendergast GC, Mellor AL. Chronic inflammation that facilitates tumor progression creates local immune suppression by inducing indoleamine 2,3 dioxygenase. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008, 105: 17073–8.
73. Şener G, Yeğen Berrak Ç. İskemi Reperfüzyon Hassarı. *Klinik Gelişim Dergisi* 2009, 22: 5-13.
74. Aydemir B, Karadağ Sarı E. Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile ilişkisi. *Kocatepe Veterinary Journal* 2009, 2(2): 56-60.

75. Collin F. Chemical basis of reactive oxygen species reactivity and involvement in neurodegenerative diseases. *Int J Mol Sci* 2019, 20(10): 2407.
76. Kaur C, Kapoor HC. Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium's ealth. *Int J Food Sci Tech* 2001, 36: 703-25.
77. Canbay E, Çelik K, DökmetsS, Karadayı K, Turan M, Kelestemur F, Sen M. Tiroid kanserli hastalarda değişen antioksidan enzim aktivitesi ve lipid peroksidasyonu. *CÜ Tıp Fakültesi Dergisi* 2003, 25 (4): 151-6.
78. Gürgöze S, Sahin T, Durak MH. Memelilerde ortalama yaşam süresi ve yaslanma sürecinde serbest radikallerin rolü. *İstanbul Üni Vet Fak Derg* 2007, 33(1): 43-9
79. Srivastava SK, Beutler E. Glutathione metabolism of the erythrocyte. The enzymic cleavage of glutathione-haemoglobin preparations by glutathione reductase. *Biochem J* 1970, 119(3): 353-7.
80. RA Kozar, CJ, Weibel J. Cipolla AJ, Klein MM. Haber MZ. Abedin SZ. Trooskin. Antioxidant enzymes are induced during recovery from acute lung injury. *Crit Care Med* 2000, 28: 2486.
81. Yarıktas M, Döner F, Doğru H, Aynalı G, Yönden Z, Delibas N. Bas- boyun maling tümörlerinde malondialdehit düzeyleri ve antioksidan enzim aktiviteler. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi* 2003, 10(4): 65-7.
82. Levy HR. Glucose 6-phosphate dehydrogenase. *Adv Enzymol* 1979, 48: 97-192.
83. Kotaka M, Gover S, Vandeputte-Rutten L, AU SW, Lam VM, Adams MJ. Structural studies of glucose-6-phosphate and NADP⁺ binding to human glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Acta Crystallogr Sect D: Biol Crystallogr* 2005, 61: 495-504.
84. Chambe PC, Harvey DE, Ferrier DE. *Biyokimya lippincott's illustrated reviews*, 3. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi, 2007: 384-7.
85. Marks DB, Smith C. *Marks basic medical biochemistry: A clinical approach*, 5th ed China, Philadelphia, PA, 2004:1-999.
86. Horecker BL. Pathways of carbohydrate metabolism and their physiological significance. *Journal Chem Educ* 1965, 42(5): 244.

87. Frederiks WM, Vreeling-Sindelárová H. Localization of glucose-6- phosphate dehydrogenase activity on ribosomes of granular endoplasmic reticulum, in peroxisomes and peripheral cytoplasm of rat liver parenchymal cells. *The Histochemical Journal* 2001, 33(6): 345-53.
88. Stanton RC. Glucose-6-phosphate dehydrogenase, NADPH, and cell Survival. *IUBMB life* 2012, 64(5): 362-9.
89. Clark, MARCIA, Root RK. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and infection: a study of hospitalized patients in Iran. *YJBM* 1979, 52(2): 169.
90. Appenzeller-Herzog C. Glutathione-and non-glutathione-based oxidant control in the endoplasmic reticulum. *J Cell Sci* 2011, 124(6): 847-55.
91. Gill SS, Anjum NA, Hasanuzzaman M, Gill R, Trivedi DK, Ahmad I, Pereira E, Tuteja N. Glutathione and glutathione reductase: a boon in disguise for plant abiotic stress defense operations. *Plant Physiol Biochem* 2013, 70: 204- 12.
92. Açıan L. Koyun Beyni Glutatyon Redüktazının Saflaştırılması Ve Bazı Özelliklerinin İncelenmesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Ankara: Hacettepe Üniversitesi, 1990.
93. Richman PG, Meister A. Regulation of γ - glutamylcysteine synthetase by nonallosteric feed back inhibition by glutathione. *J Biol Chem* 1975, 250: 1422- 6.
94. Champe PC, Harvey RA. Glikozaminoglikanlar. Tokullugil A, Dirican M, Ulukaya E (eds). *Lippincott's illustrated reviews serisinden: Biyokimya*. 2. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 1997. 147-56.
95. Townsend DM, Kenneth D, Tew KD, Tapiero H. The importance of glutathione in human disease. *Biomed Pharmacother* 2003, 57: 145-55.
96. Knapen MF, Zusterzeel PL, Peters WH, Steegers EA. Glutathione and glutathione-related enzymes in reproduction. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1999, 82: 171-84.
97. Griffith OW. Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis. *Free Radic Biol. Med* 1999, 27: 922–35.
98. Couto N, Wood J, Barber J. The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homoeostasis network. *Free Radic Biol Med* 2016, 95: 27-42.

99. Toribio F, Martinet LE, Pascual P, Lopez BJ. Methods for purification of glutathione peroxidase and related enzymes. *J Chromatog B* 1996, 684: 77-97.
100. Beütler E. Effect of flavin compound on Glutathione Reductase Activity; In vivo and in vitro studies. *J Clin Invest* 1969, 48: 1957–66.
101. Halliwell B, Gutteridge J. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3th ed. New York. Oxford University Press, 1999.
102. Wang L, Zhang S, Cheng H, LvH, Cheng G, Ci X. Nrf2-mediated liver protection by esculetinside a against acetaminophen toxicity through the AMPK/Akt/GSK3 β pathway. *Free Radic Biol Med* 2016,101:401-12.
103. Hayes JD, Flanagan JU, Jowsey IR. Glutathione transferases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2005, 45: 51-88.
104. Snyder R. Cytochrome P450, the oxygen-activating enzyme in xenobiotic metabolism. *Toxicol Sci* 2000, 58 (1): 3-4.
105. Kamachi T, Yoshizawa K. A theoretical study on the mechanism of camphor hydroxylation by compound I of cytochrome P450. *J Am Chem Soc*, 2003, 125(15): 4652-61.
106. Armstrong RN. Structure, catalytic mechanism, and evolution of the glutathione transferases. *Chem Res Toxicol* 1997, 10: 2-18.
107. Eaton DL, Bammler TK. Concise review of the glutathione S-transferases and their significance to toxicology. *Toxicol Sci* 1999, 49(2): 156-64.
108. Hayes JD, Flanagan JU, Jowsey IR. Glutathione transferases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2005, 45: 51-88.
109. Cnubben NHP, Rietjens IMCM, Wortelboer H, van Zanden J, van Bladeren J. The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *Environ Toxicol Pharmacol* 2001, 10: 141-52.
110. Özaslan MS, DemirY, Küfrevioğlu OI, Çiftci M. Some metals inhibit the glutathione S-transferase from Va Lake fish gills. *J Biochem Mol Toxicol* 2017, 00: e21967.
111. Beutler E. Red Cell metabolism manual of biochemical methods. *Academic Press London* 1971, 19: 68.

112. Shayan H. Organ transplantation: from myth to reality. *J Investig Surg* 2001, 14: 135–8.
113. Bergan A. Ancient myth, modern reality: a brief history of transplantation. *J Biocommun* 1997, 24: 2–9.
114. Barker CF, Markmann JF. Historical overview of transplantation. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2013, 3: a014977.
115. Linden PK. History of solid organ transplantation and organ donation. *Crit Care Clin* 2009, 25:165–84.
116. Hume DM, Merrill JP, Miller BF, Thorn GW. Experiences with renal homotransplantation in the human: report of nine cases. *J Clin Invest* 1955, 34:327–82.
117. Watson CJ, Dark JH. Organ transplantation: historical perspective and current practice. *Br J Anaesth* 201, 108: 29–42.
118. Bezinover B, Saner F. Organ transplantation in the modern era. *BMC Anesthesiology* 2019, 19: 1–4.
119. Ghisoni K, de Martins RP, Barbeito L, Latini A. Neopterin as a potential cytoprotective brain molecule. *J Psychiatr Res* 2015, 71:134-9.
120. Murr C, Widner B, Wirleitner B, Fuchs D. Neopterin as a marker for immune system activation. *Current Drug Metabolism* 2002, 3:175-87.
121. Fuchs D, Weiss G, Reibnegger G, Wachter H. The role of neopterin as a monitor of cellular immune activation in transplantation, inflammatory, infectious and malignant disease. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1992, 29: 307-41.
122. Schäfer AJ, Daniel V, Dreikorn K, Opelz G. Assessment of plasma neopterin in clinical kidney transplantation. *Transplantation* 1986, 41(4): 454-9.
123. Müller TF, Vogl M, Neumann MC, Lange H, Grimm M, Müller MM. Noninvasive monitoring using serum amyloid A and serum neopterin in cardiac transplantation. *Clin Chim Acta* 1998, 276(1): 63-74.
124. Hausen A, Aichberger C, Königsrainer A, Weiss G, Margreiter R, Wachter H. Biliary and urinary neopterin concentrations in monitoring liver-allograft recipients. *Clin Chem* 1993, 39(1): 45-7.

125. Oweira H, Lahdou I, Daniel V, Hofer S, Mieth M, Schmidt J, Schemmer P, Opelz G, Mehrabi A, Sadeghi M. Early post-transplant neopterin associated with one year survival and bacteremia in liver transplant recipients. *Hum Immunol* 2016, 77(1): 115-20.
126. Shevchenko OP, Orlova OV, Mironkov BL, Iljinsky IM, Kuprijanova AG, Kormer AJ, Gautier SV. Neopterin Predicts Poor Short-and Long-Term Outcomes in Heart Transplant Recipients. *J Heart Lung Transplant* 2013, 32(4): 52.
127. Huber C, Fuchs D, Hausen A. Pteridines as a new marker to detect human T cells activated by allogeneic or modified self major histocompatibility complex determinants. *J Immunol* 1983, 130: 1047-50.
128. Huber C, Batchelor JR, Fuchs D, Hausen A, Lang A, Niederwieser D, Reibnegger, G, Swetly P, Troppmair J, Wachter H. Immune response-associated production of neopterin. Release from macrophages primarily under control of interferon-gamma. *J Exp Med* 1984, 160: 310-6.
129. Pace JL, Russell SW, LeBlanc PA, Murasko, DM. Comparative effects of various classes of Mouse interferons on macrophage activation for tumor cell killing. *J Immunol* 1985, 34: 977-81.
130. Ivashkiv LB. IFN γ : signalling, epigenetics and roles in immunity, metabolism, disease and cancer immunotherapy. *Nat Rev Immunol* 2018, 18(9): 545-58.
131. Hodny Z, Reinis M, Hubackova S, Vasicova P, Bartek J. Interferon gamma/NADPH oxidase defense system in immunity and cancer. *Oncoimmunology* 2015, 5(2): e1080416.
132. Obara H, Nagasaki K, Hsieh CL, Ogura Y, Esquivel CO, Martinez OM, Krams SM. IFN-gamma, produced by NK cells that infiltrate liver allografts early after transplantation, links the innate and adaptive immune responses. *Am J Transplant* 2005, 5(9): 2094-103.
133. Karakhanova S, Oweira H, Steinmeyer B, Sachsenmaier M, Jung G, Elhadedy H, Schmidt J, Hartwig W, Bazhin AV, Werner J. Interferon- γ , interleukin-10 and interferon-inducible protein 10 (CXCL10) as serum biomarkers for the early allograft dysfunction after liver transplantation. *Transpl Immunol* 2016, 34: 14-24.

134. Nazari B, Amirzargar A, Nikbin B, Nafar M, Ahmadpour P, Einollahi B, Lesan Pezeshki M, Khatami SM, Ansaripour B, Nikuinejad H, Mohamadi F, Mahmoudi M, Soltani S, Nicknam MH. Comparison of the Th1, IFN- γ secreting cells and FoxP3 expression between patients with stable graft function and acute rejection post kidney transplantation. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2013, 12(3): 262-8.
135. Richard DM, Dawes MA, Mathias CW, Acheson A, Hill-Kapturczak N, Dougherty DM. L-tryptophan: Basic metabolic functions, behavioral research and therapeutic indications. *Int J Tryptophan Res* 2009, 2(1): 45–60.
136. McNally L, Bhagwagar Z, Hannestad J. Inflammation, glutamate, and glia in depression: A literature review. *CNS Spectrums* 2008, 13(6): 501–10.
137. Yuasa HJ, Takubo M, Takahashi A, Hasegawa T, Noma H, Suzuki T. Evolution of vertebrate indoleamine 2,3-dioxygenases. *J Mol Evol* 2007, 65(6): 705–14.
138. Bigenzahn S, Juergens B, Mahr B, Pratschke J, Koenigsrainer A, Becker T, Fuchs D, Brandacher G, Kainz A, Muehlbacher F, Wekerle T. No augmentation of indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) activity through belatacept treatment in liver transplant recipients. *Clin Exp Immunol* 2018, 192(2): 233-41.
139. Luan X, Liao W, Lai X, He Y, Liu Y, Gong J, Li J. Dynamic changes of indoleamine 2,3-dioxygenase of Kupffer cells in rat liver transplant rejection and tolerance. *Transplant Proc* 2012, 44(4): 1045-7.
140. Suarez-Fuentetaja N, Domenech-Garcia N, Paniagua-Martin MJ, Marzoa-Rivas R, Barge-Caballero E, Grille-Cancela Z, Pombo-Otero J, Muñiz-García J, Castro-Beiras A, Crespo-Leiro MG. Indoleamine, 2-3 dioxygenase activity could be an early marker of graft rejection in heart transplantation. *Transplant Proc* 2012, 44(9): 2645-8.
141. Yilmaz N, Ustundag Y, Kivrak S, Kahvecioglu S, Celik H, Kivrak I, Huysal K. Serum indoleamine 2,3 dioxygenase and tryptophan and kynurenine ratio using the UPLC-MS/MS method, in patients undergoing peritoneal dialysis, hemodialysis, and kidney transplantation. *Ren Fai*. 2016, 38(8): 1300-9.
142. Kaden J, Abendroth D, Völp A, Marzinzig M. Dynamics and Diagnostic Relevance of Kynurenine Serum Level after Kidney Transplantation. *Ann Transplant* 2015, 20: 327-37.

143. Şener G, Yeğen Berrak Ç. İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Klinik Gelişim Dergisi* 2009, 22: 5-13.
144. Ng KT, Yeung OW, Lam YF, Liu J, Liu H, Pang L, Yang XX, Zhu J, Zhang W, Lau MYH, Qiu WQ, Shiu HC, Lai MK, Lo CM, Man K. Glutathione S-transferase A2 promotes hepatocellular carcinoma recurrence after liver transplantation through modulating reactive oxygen species metabolism. *Cell Death Discov* 2021, 7: 188.
145. Jochum C, Beste M, Sowa JP, Farahani MS, Penndorf V, Nadalin S, Saner F, Canbay A, Gerken G. Glutathione-S-transferase subtypes α and π as a tool to predict and monitor graft failure or regeneration in a pilot study of living donor liver transplantation. *Eur J Med Res* 2011, 27: 34-40.
146. Tolman KG, Rej R. Liver function. In: Burtis CA, Ashwood ER (eds). *Tietz textbook of clinical chemistry*, 3rd ed. Philadelphia, WB Saunders, 1999.
147. Marcus CJ, Habig WH, Jakoby WB. Glutathione transferase from human erythrocytes. *Arch Biochem Biophys* 1978, 188: 287-93.
148. Nagral A, Butler P, Sabin CA, Rolles K, Burroughs AK. Alpha-glutathione-S-transferase in acute rejection of liver transplant recipients. *Transplantation* 1998, 15: 401-5.
149. Dickson RC, Lauwers GY, Rosen CB, Cantwell R, Nelson DR, Lau JY. The utility of noninvasive serologic markers in the management of early allograft rejection in liver transplantation recipients. *Transplantation* 1999, 27: 247-53.
150. Keha E, Küfrevioğlu Öİ. *Biyokimya*, 13. Baskı, Erzurum, Aktif Yayınevi, 2010: 653
151. Toribio F, Martinet LE, Pascual P, Lopez BJ. Methods for purification of glutathione peroxidase and related enzymes, *J. Chromatog B* 1996, 684: 77-97.
152. Villegas T, Olmedo C, Muffak-Granero K, Comino A, Garrote D, Bueno P, Ferrón JA. Perioperative levels of glutathione reductase in liver transplant recipients with hepatitis C virus cirrhosis. *Transplant Proc* 2012, 44(6): 1542-4.
153. Hassan L, Bueno P, Ferrón-Celma I, Ramia JM, Garrote D, Muffak K, García-Navarro A, Mansilla A, Villar JM, Ferrón JA. Time course of antioxidant enzyme activities in liver transplant recipients. *Transplant Proc* 2005, 37(9): 3932-5.

154. De Angioletti M, M, Rovira A, Notaro R, Camacho Vanegas O, Sadelain M, Luzzatto L. Glucose-6-phosphate dehydrogenase expression is less prone to variegation when driven by its own promoter. *Gene* 2001, 267: 221-31.
155. Reclos GJ, Hatzidakis CJ, Schulpis KH. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency neonatal screening: preliminary evidence that a high percentage of partially deficient female neonates are missed during routine screening. *Journal of Medical Screening* 2000, 7(1): 46-51.
156. Glader BE. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and related disorders of hexose monophosphate shunt and glutathione metabolism. In: *Wintrobe's clinical hematology*. 10nd ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 2008: 1176-90.
157. Milman N. Erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase in chronic renal failure and after renal transplantation. *Scand J Haematol* 1980, 24(4): 307-14.
158. Reclos GJ, Hatzidakis CJ, Schulpis KH. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency neonatal screening: preliminary evidence that a high percentage of partially deficient female neonates are missed during routine screening. *Journal of Medical Screening* 2000, (7)1: 46-51.

EKLER

EK-1. Özgeçmiş



EK-2. Etik Kurul Belgesi





