

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

NAKİL BEKLEYEN KRONİK BÖBREK HASTALARINDA
T LENFOSİT HÜCRE AKTİVASYONU İLE HIF-1 α GEN
EKSPRESYONU VE PROTEİN SEVİYESİNİN
ARAŞTIRILMASI

Burcu KARAKUŞ TURAN

DOKTORA TEZİ

2025-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

NAKİL BEKLEYEN KRONİK BÖBREK HASTALARINDA
T LENFOSİT HÜCRE AKTİVASYONU İLE HIF-1 α GEN
EKSPRESYONU VE PROTEİN SEVİYESİNİN
ARAŞTIRILMASI

Burcu KARAKUŞ TURAN

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Fahri UÇAR

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TDK-2021-5782 proje numarası ile desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezinden yararlanılabilir”

2025-ANTALYA

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Tıbbi Genetik Programında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir. 08/01/2025

İmza

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Fahri Uçar
Akdeniz Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Tülün Çora
Selçuk Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Ayşe Esra Manguoğlu
Akdeniz Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Sezin Yakut Uzuner
Akdeniz Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Burcu Yücel
İstanbul Medeniyet üniversitesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve/..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.

Burcu KARAKUŞ TURAN

İmza

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Fahri UÇAR

İmza

TEŞEKKÜR

Lisans üstü eğitimim ve tez çalışmam süresince her türlü bilgi ve deneyimini benimle paylaşan, desteğini ilgisini ve yardımını esirgemeyen danışmanım Sn. Prof. Dr. Fahri UÇAR' a,

Doktora eğitimim sürecinde, destek ve bilgileri ile bana büyük katkıları olan, değerli zamanını ayıran bölümümüzün tüm kıymetli hocalarına ve birlikte çalışma fırsatı bulduğum asistan arkadaşlarıma,

Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Organ Nakli Merkezindeki hastalara ve hasta verilerine ulaşmamı sağlayan Sn. Prof. Dr. Hüseyin KOÇAK'a ve Doku Tipleme Laboratuvarı çalışanlarına,

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürüne, sekreterine ve tüm çalışanlarına,

Bu günlere ulaşmam için bana her türlü maddi ve manevi destek veren, her zaman yanımda olarak bana güç veren sevgili eşim ve kıymetli aileme,

En içten teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım...

Burcu KARAKUŞ TURAN

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada nakil bekleyen PRA pozitif KBH'larında antikor gelişimiyle ilişkili aktif T lenfosit (%) hücre düzeylerinin ve bu hücrelerde metabolik düzenleyici olarak görev alan HIF-1 α gen ekspresyon seviyesinin belirlenmesi amaçlandı. Ayrıca bu hastalarda HIF-1 α 'nın T hücre aktivasyonu, immünolojik riskler ve klinik sonuçlar ile ilişkisi araştırıldı.

Yöntem: Çalışma örneklemi; PRA pozitif KBH'ları (n=20), PRA negatif KBH'ları (n=16) ve kontrol bireylerinden (n=20) oluşmaktadır. Olguların periferik kan örneklerinden, Gerçek Zamanlı Kantitatif PZR ile HIF-1 α gen ifade seviyesi ile Akım Sitometri ile aktif T lenfositlerin ekspresyon (%) düzeyleri değerlendirildi. Verilerin analizi IBM SPSS 25.0 programı kullanılarak istatistiki sonuçlar elde edildi

Bulgular: Akım Sitometri sonuçlarına göre PRA pozitif KBH'ları ile kontrol grupları arasında CD3⁺CD25⁺CD69⁺HIF-1 α ⁺ hücre yüzdelерinin istatistiki bir farklılık gösterdiği (χ^2 (2) = 7.592, p = .022) belirlendi. PRA Pozitif KBH grubu kendi içerisinde kıyaslandığında PRA Sınıf I & PRA Sınıf II grubuna göre PRA Sınıf I grubunda hücre yüzdeleri anlamlı olarak daha daha yüksek tesbit edildi (p=0.038). Ancak HIF-1 α gen ekspresyon seviyelerinde çalışma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi (χ^2 (2) = 4.513, p=0.105).

Sonuç: Elde edilen veriler, KBH'larında HIF-1 α 'nın T hücre aktivasyonu ve alloantijenlere karşı gelişen bağışıklık yanıtı ile ilişkili olabileceğini göstermektedir. CD3⁺CD25⁺CD69⁺ aktive T hücrelerinde gözlemlenen HIF-1 α artışı, T hücrelerinin fonksiyonunu etkileyerek alloantijenlere karşı daha etkili bir bağışıklık yanıtı oluşturmaya yol açabilir. HIF-1 α 'nın antikor oluşumu üzerindeki etkisi ve rejeksiyon riskini kontrol etmek için seçici inhibisyonunu hedefleyen terapötik yaklaşımlar, ileriye dönük araştırmaların konusu olabilir.

Anahtar Kelimeler: Kronik Böbrek Hastalığı, PRA, HIF-1 α , CD3⁺CD25⁺CD69⁺ T hücresi

ABSTRACT

Objective: This study aimed to determine the active T lymphocyte (% cell levels) associated with antibody development and the HIF-1 α gene expression levels, which serve as metabolic regulators in these cells, in PRA-positive chronic kidney disease (CKD) patients awaiting transplantation. Additionally, the relationship between HIF-1 α , T cell activation, immunological risks, and clinical outcomes was investigated in these patients.

Method: The study sample consists of PRA-positive CKD patients (n=20), PRA-negative CKD patients (n=16), and control individuals (n=20). Peripheral blood samples from the subjects were analyzed for HIF-1 α gene expression levels using Real-Time Quantitative PCR, and the expression (%) levels of active T lymphocytes were assessed using Flow Cytometry. Data analysis was performed using IBM SPSS 25.0 software to obtain statistical results.

Results: According to the Flow Cytometry results, a statistically significant difference was found between the PRA positive CKD patients and the control groups in the percentages of CD3⁺CD25⁺CD69⁺HIF-1 α ⁺ cells ($\chi^2(2) = 7.592$, $p = .022$). When the PRA-positive CKD group was compared within itself, the cell percentages were significantly higher in the PRA Class I group compared to the PRA Class I & PRA Class II group ($p=0.038$). However, no statistically significant difference was observed in the HIF-1 α gene expression levels between the study groups ($\chi^2(2) = 4.513$, $p=0.105$).

Conclusion: The obtained data suggest that HIF-1 α in CKD may be associated with T cell activation and the immune response developed against alloantigens. The observed increase in HIF-1 α in CD3⁺CD25⁺CD69⁺ activated T cells may affect T cell function, leading to a more effective immune response against alloantigens. Therapeutic approaches targeting selective inhibition of HIF-1 α to control its effect on antibody formation and rejection risk may be the subject of future research.

Keywords: Chronic Kidney Disease, PRA, HIF-1 α , CD3⁺CD25⁺CD69⁺ T cell

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLolar DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kronik Böbrek Hastalığı	3
2.1.1. Evreler ve Klinik Seyir	3
2.1.2. Etiyoloji ve Risk Faktörleri	3
2.1.3. Patofizyoloji	4
2.1.4. Biyobelirteçler ve Erken Tanı	5
2.2. Tedavi	5
2.2.1. Diyaliz	5
2.2.2. Böbrek Nakli	6
2.3. Nakil Bekleyen Hastalarda İmmünolojik Süreçler	7
2.3.1. ABO Kan Grubu Uyumu	8
2.3.2. HLA Doku Grubu Uyumunun Değerlendirilmesi	9

2.3.3. Anti- HLA Antikorlarının (PRA) Varlığının Tespiti	14
2.3.4. Lenfosit Çapraz Karşılaştırma Testleri	16
2.4. Böbrek Nakli Sonrası Komplikasyonlar	19
2.4.1. Hiperakut Rejeksiyon	20
2.4.2. Akut Rejeksiyon	21
2.4.3. Kronik Rejeksiyon	22
2.5. Hipoksi-İndüklenebilir Faktör 1 (HIF-1)	22
2.5.1. HIF'in Yapısı ve Fonksiyonu	23
2.5.2. HIF'in Hedef Genleri	26
2.5.3. HIF'in İmmün Yanıt Üzerindeki Etkisi	26
2.6. T Hücre Aktivasyonu	28
2.6.1.T Lenfosit Aktivasyonunda HIF-1 α 'nın Rolü	31
2.6.2. Nakil Bekleyen Kronik Böbrek Hastalarında T hücre Aktivasyonunda HIF-1 α 'nın Rolü	33
3. GEREÇ ve YÖNTEM	37
3.1. Hasta ve Kontrol Grubunun Belirlenmesi	37
3.2. Etik Kurul Onayı	37
3.3. Numunelerin Alımı ve Hazırlanması	38
3.4. Gerçek Zamanlı Kantitatif PZR: Optimizasyon Çalışmaları	38
3.4.1. Periferik Kandan RNA İzolasyonu	38

3.4.2. cDNA Sentezi	39
3.4.3. Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu	40
3.4.4. Relatif Kantitasyon Hesaplanması	41
3.5. Akım Sitometri Çalışması	43
3.5.1. Periferik Kan Mononükleer Hücre İzolasyonu Aşamaları	44
3.5.2. Hücre Yüzey Boyama Prosedürü	45
3.5.3. Hücre İçi Boyama Prosedürü	45
3.6. Verilerin İstatistiksel Analizi	47
4. BULGULAR	48
5. TARTIŞMA	57
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	63
KAYNAKLAR	66
EKLER	102
ÖZGEÇMİŞ	105

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 3.1.	cDNA Sentezi Master Mix Bilgileri	39
Tablo 3.2.	cDNA Sentez Reaksiyon Koşulları	39
Tablo 3.3.	Gerçek Zamanlı Kantitatif PZR’de Kullanılan Primerler	39
Tablo 3.4.	Gerçek Zamanlı Kantitatif PZR’de Kullanılan MasterMix Bilgileri	40
Tablo 3.5.	Gerçek Zamanlı Kantitatif PZR’de PZR Reaksiyon Koşulları	40
Tablo 4.1.	Çalışma Gruplarının Demografik Özelliklerine İlişkin Sonuçlar	47
Tablo 4.2.	Çalışma Gruplarındaki Bireylerin Yaş Dağılımına Ait Sonuçlar	48
Tablo 4.3.	Çalışma Gruplarının Akım Sitometri Sonuçlarının (%) Düzeylerine ve HIF-1 α Gen Ekspresyon Seviyelerine Ait Betimsel Sonuçlar	49
Tablo 4.4.	Çalışma Gruplarının Akım Sitometri Sonuçlarının (%) Düzeylerine ve HIF-1 α Gen Ekspresyon Seviyelerine Ait Betimsel Sonuçları (devam)	50
Tablo 4.5.	Total Lenfosit Hücre Yüzdelерinin Çalışma Gruplarına Göre Kruskal-Wallis H Testi Sonuçları	51
Tablo 4.6.	CD3 ⁺ CD25 ⁺ CD69 ⁺ T Hücre Yüzdelерinin Çalışma Gruplarına Göre Kruskal-Wallis H Testi Sonuçları	51
Tablo 4.7.	CD3 ⁺ CD69 ⁺ T Hücre Yüzdelерinin Çalışma Gruplarına Göre Kruskal-Wallis H Testi Sonuçları	51
Tablo 4.8.	CD3 ⁺ CD69 ⁺ T Hücre Yüzdelерinin Çalışma Gruplarına Göre Kruskal-Wallis H Testi Sonuçları	52

Tablo 4.9.	HIF-1 α Ekprese Eden T Hücre Yüzdelерinin Çalışma Gruplarına Göre Kruskal-Wallis H Testi Sonuçları	52
Tablo 4.10.	CD3 ⁺ CD25 ⁺ CD69 ⁺ HIF-1 α ⁺ T Hücre Yüzdelерinin Çalışma Gruplarına Göre Kruskal-Wallis H Testi Sonuçları	52
Tablo 4.11.	Çalışma Gruplarında HIF-1 α Gen Ekspresyon Ölçümleri	54
Tablo 4.12.	HIF-1 α Gen Ekspresyon Düzeylerinin Çalışma Gruplarına Göre Kruskal-Wallis H Testi Sonuçları	54
Tablo 4.13.	PRA Pozitif KBH Grubunda Yer Alan Bireylerin İmmün Hücre Aktivasyon (Akım Sitometri) ve Gen Ekspresyon Parametre Değerlerinin PRA Sınıflandırmasına Göre Kruskal-Wallis H Testi Sonuçları	54
Tablo 4.14.	HIF-1 α Gen Ekspresyonunun Hücre Yüzdeleri ile Korelasyonları (Spearman's rho)	56

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Glomerulusun Reabsorpsiyon ve Sekresyon Sürecindeki Fonksiyonunun Diyagramatik Gösterimi	4
Şekil 2.2.	6. Kromozom Üzerindeki HLA Gen Bölgesinin Yerleşimi	11
Şekil 2.3.	İnsan HIF Alt Birimlerinin Yapısı	24
Şekil 2.4.	Von Hippel-Lindau Tümör Baskılayıcı Protein (VHL) Aracılı HIF-1 α Sinyal Yolları	25
Şekil 2.5.	T Hücre Aktivasyonu için Gerekli Birincil ve İkincil Sinyaller	29
Şekil 2.6.	T Hücre Farklılaşmasında ve Fonksiyonunda HIF-1 α stabilizasyonu	32
Şekil 3.1.	Olguların HIF-1 α Gerçek Zamanlı Kantitatif PZR Amplifikasyon Eğrisi	42
Şekil 3.2.	Beta Aktin Geni Amplifikasyon Eğrisi	43
Şekil 4.1.	Çalışma Gruplarında CD3 ⁺ CD25 ⁺ CD69 ⁺ HIF-1 α ⁺ T Hücre Yüzdeleri	53
Şekil 4.2.	Çalışma Gruplarında HIF-1 α Gen Ekspresyon Ölçümleri	53
Şekil 4.3.	PRA Sınıf I (+), PRA Sınıf II (+), PRA Sınıf I (+) & PRA Sınıf II (+) Hasta Gruplarında CD3 ⁺ CD25 ⁺ CD69 ⁺ HIF-1 α ⁺ T Hücre Yüzdeleri	56

SİMGELER ve KISALTMALAR

ABMR	: Antikor Aracılı Red
ACE	: Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
AP-1	: Aktivatör Protein 1
ARB	: Anjiyotensin Reseptör Blokerleri
ARNT	: Aril Hidrokarbon Reseptörü Nükleer Translokatorü
ASH	: Antijen Sunan Hücreler
BAP	: Bilimsel Araştırma Projeleri
BCR	: B Hücre Reseptörü
Bf	: Properdin Faktör B
CDC-XM	: Serolojik Lenfosit Çapraz Karşılaştırma
CMR	: Hücre Aracılı Rejeksiyon
CMV	: Sitomegalovirüs
CTLA-4	: Sitotoksik T Lenfosit İlişkili Antijen-4
CTS	: İşbirlikçi Transplant Çalışması
DNA	: Deoksiriboz Nükleik Asit
DSA	: Donör Spesifik Antikor
DTT	: Ditiotreitol
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
EPO	: Eritropoetin

FCXM	: Akım Sitometrisi ile Yapılan Çapraz Karşılaştırma
GFH	: Glomerüler Filtrasyon Hızı
GLUT1	: Glukoz Taşıyıcı Protein 1
HIF	: Hipoksi İndükleyici Faktör
HIF-1	: Hipoksi İndükleyici Faktör 1
HIF-1α	: Hipoksi İndükleyici Faktör 1 Alfa
HIF-1β	: Hipoksi İndükleyici Faktör 1 Beta
HIF-2α	: Hipoksi İndükleyici Faktör 2 Alfa
HIF-3α	: Hipoksi İndükleyici Faktör 3 Alfa
HLA	: Human Lökosit Antijen
HO-1	: Heme Oksijenaz-1
HRE	: Hipoksiye Cevap Elementi
IFNγ	: İnterferon Gama
Ig	: İmmunglobulin
IL	: İnterlökin
ITAM	: İmmünoresptör Tirozin Bazlı Aktivasyon Motifleri
IVIG	: İntravenöz İmmunglobülin
Kb	: Kilobaz
KBH	: Kronik Böbrek Hastalığı
KIM-1	: Böbrek Hasar Molekülü-1

LAT	: Aktive Edilmiş T Hücrelerinin Bağlayıcısı
LCK	: Lenfosit Protein Tirozin Kinaz
MFI	: Ortalama Floresan Yoğunluğu
NFAT	: Aktive T Hücrelerinin Nükleer Faktörü
NF-Kb	: Nükleer Faktör Kappa B
NGAL	: Nötrofil Jelatinaz İlişkili Lipokalin
NK	: Doğal Öldürücü Hücreler
PD-1	: Programlanmış Hücre Ölümü-1
PHD	: Prolil Hidroksilaz
PI3K	: Fosfatidilinositol 3-kinaz
PKMH	: Peripheral Kan Mononükleer Hücreleri
PLCγ1	: Fosfolipaz Cγ1
PMN	: Polimorfonükleer
PRA	: Panel Reaktif Antikor
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAS	: Renin-Anjiyotensin Sistemi
RNA	: Riboz Nükleik Asit
RORγt	: RAR ile İlişkili Yetim Reseptör Gama
ROS	: Reaktif Oksijen Türevleri
SBT	: Dizileme Tabanlı Tipleme

SDBY	: Son Dönem Böbrek Yetmezliği
SLP-76	: 70 kDa'lık SH2 Alanı İçeren Lökosit Protein
SSO	: Diziye Özgü Nükleotid
SSP	: Diziye Özgü Primer
STAT3	: Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörü 3
TCMR	: Akut T Hücre Aracılı Rejeksiyon
TCR	: T Hücre Reseptörü
Th	: Yardımcı T Hücresi
Th1	: T yardımcı hücresi 1
Th17	: T yardımcı hücresi 17
TLR	: Toll Benzeri Reseptör
TNF	: Tümör Nekroz Faktörü
TNFα	: Tümör Nekroz Faktör Alfa
Treg	: Regülatör T Hücresi
VEGF	: Vasküler Endotel Büyüme Faktörü
VHL	: Von Hippel-Lindau Proteini
VXM	: Sanal Çapraz Eşleştirme
ZAP-70	: 70 kDa'lık ζ Zinciriyle İlişkili Protein Kinaz

1. GİRİŞ

Kronik böbrek hastalığı (KBH), böbrek hasarının varlığı veya hasar ile ilişkili olarak glomerüler filtrasyon hızının (GFH) en az 3 ay süreyle 60 ml/dk/1,73 m²'nin altına düşmesiyle tanımlanır (Andrassy, 2013). Yüksek morbidite ve mortalite oranlarıyla bireylerin ve ailelerinin yaşam kalitesini olumsuz etkilerken aynı zamanda teşhis ve tedavi maliyetleriyle sağlık sistemine ciddi ekonomik yükler getirmektedir (Chen ve ark., 2023). Kronik böbrek yetmezliğinin bilinen en etkili tedavisi böbrek naklidir (Sumida ve Kovesdy, 2017). Ancak nakil bekleyen hastalarda, nakil başarısını azaltabilecek veya sonrasında rejeksiyona neden olabilecek Anti-HLA (İnsan Lökosit Antijenleri) antikorlarının ayrıntılı şekilde değerlendirilmesi büyük önem taşır (Soyöz ve ark., 2017; Salhi ve ark., 2024). Böbrek nakli öncesi rutin olarak yapılan Panel Reaktif Antikor (PRA) testi, nakil adaylarında HLA'lara karşı bulunan antikor varlığını tanımlayabilen bir tarama testidir. PRA testi ile bu antikora duyarlılaşma seviyesi belirlenebilir (Premasathian ve ark., 2008; Ruhi ve ark., 2016). Kan transfüzyonları, gebelikler ve daha önceki nakil öyküleri nedeniyle HLA ile karşılaşmanın bir sonucu olarak alloreaktif T ve B hücreleri oluşur (Ayhan ve Ağın, 2020). Alloreaktif T ve B hücreleri, bireyleri patojenlere karşı korumada son derece etkili olurken güçlü alloimmün yanıtlara sebep olarak transplantasyonların başarısını etkileyebilir (Karahana ve ark., 2020; Yi ve ark., 2022). Nakil bekleyen hastalarda HLA antijenlerine karşı önceden gelişmiş antikorlar akut, kronik ve hiperakut rejeksiyonlara sebep olmaktadır (Best ve ark., 2013; Alelign ve ark., 2018). Rejeksiyona neden olan bağışıklık yanıt mekanizmaları; doğal ve adaptif bağışıklıktır (Shrestha, 2017; Etxebarria ve ark., 2022). Bağışıklık yanıtının ilk aşamasına adaptif bağışıklık sistemi aracılık eder. Bu yanıtın başlama süresi çok hızlıdır. Makrofajlar, nötrofiller ve dendritik hücreler dahil miyeloid hücreler bu bağışıklık yanıtında görev alır (Shi ve ark., 2001; Jonkman ve ark., 2024). Adaptif bağışıklık yanıtı ise adaptif immün yanıtın sonucunda ortaya çıkarak T ve B lenfosit hücreleri aktif bir rol oynar (Abbas ve ark., 2016; Li ve Lan, 2023). Anti-HLA antikorlarının panel reaktif tarama ve tanımlama testlerinden elde edilen sonuçlar doğrultusunda uygun donör seçimi yapılabilmekte ve bu sayede yüksek düzeyde duyarlılaşmış hastaların bile nakil olma şansı artırılabilir (Kolonko ve ark., 2018; Bae ve ark., 2022). Yapılan son çalışmalar da

hipoksi ile indüklenen faktörler (HIF)'lerin, immün hücrelerin metabolizması ve fonksiyonunda transkripsiyon faktörleri olarak anahtar rol oynadığı gösterilmiştir (McNamee ve ark., 2013; Zhao ve ark., 2023). HIF-1 α ; makrofaj, nötrofil, dendritik hücreler ve lenfositlerde eksprese edilirken HIF-2 α ; endotelyal hücreler, tümörle ilişkili makrofajlarda eksprese edilir (Palazon ve ark., 2014; Toledo ve ark., 2023). Hipoksi koşullarında HIF transkripsiyon faktörleri, metabolik değişiklikler aracılığıyla, düşük oksijen mevcudiyetinde hücrel adaptasyonu yönlendirir (Cramer ve ark., 2003; Faivre ve ark., 2023). Adaptif bağışıklık hücreleri ise oksijenden bağımsız mekanizmalar yoluyla HIF 1 α 'yı stabilize edebilir (Nizet ve Johnson., 2009; McGettrick ve O'Neill, 2020). Yapılan çalışmalarda, makrofajlarda bakteriyel antijenler ve farklı patojenler varlığında oksijen mevcudiyetinde de HIF-1 α ekspresyonunun indüklendiği gösterilmiştir (Takeda ve ark., 2010; Semenza, 2014). Benzer şekilde, T hücrelerinde antijen sunumu ile T hücre reseptörü (TCR) ligasyonu, oksijen varlığında bile HIF 1 α 'nın transkripsiyonel indüksiyonuna ve protein birikimine yol açar (Deng ve ark., 2013). Literatürde, TCR ve sitokin aracılı sinyallerin birlikteliği ile oksijen mevcudiyetinden bağımsız bir şekilde yardımcı T hücresi (CD4⁺) ve efektör T (CD8⁺) hücresi farklılaşmasında HIF-1 α 'nın anahtar rolü vurgulanmıştır (Doedens ve ark., 2013). Bu bulgular, HIF-1 α 'nın T hücresi aracılı inflamasyonunu teşvik etmede potansiyel bir rolü olduğunu vurgulayan çalışmalara ışık tutmuştur (Nakamura ve ark., 2005; Duette ve ark., 2018; Tang ve ark., 2023).

Literatürde HIF-1 α 'nın kanser, inflamatuvar ve otoimmün hastalıklarda immün yanıtların kritik bir düzenleyicisi olarak görev aldığı gösterilmiştir (Musleh Ud Din ve ark., 2024; Tang ve ark., 2023). Adaptif bağışıklık yanıtında önemli bir rol oynayan T lenfositlerin alloreaktivitesinin belirlenmesi ve immün yanıtta etkili olan HIF-1 α gibi genetik faktörlerin işlevlerinin açıklığa kavuşturulması, nakil başarısını artırabilecek yenilikçi terapötik yaklaşımlara rehberlik edebilir. Çalışmamızda, nakil bekleyen PRA pozitif kronik böbrek hastalarında antikor oluşumunda kritik bir role sahip T hücrelerinde transkripsiyon faktörü olarak işlev gören HIF-1 α 'nın mRNA ekspresyon seviyeleri ile aktive T hücreleri yüzdeleri ve bu hücrelerdeki HIF-1 α protein düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kronik Böbrek Hastalığı

Kronik böbrek hastalığı (KBH), böbrek fonksiyonlarının yavaş ve genellikle geri dönüşsüz bir şekilde azalmasıyla karakterize bir klinik sendromdur (Parmar, 2002). KBH, gelişmiş ülkeler kadar gelişmekte olan ülkelere de ciddi bir halk sağlığı sorunu olarak kabul edilmektedir (Kovesdy, 2022). Böbrek fonksiyonundaki bozulmalar, uzun vadede ciddi komplikasyonlara yol açarak hastaların yaşam kalitesini düşürmekte ve mortalite oranlarını artırmaktadır (Jha ve ark. 2013). Dünya genelinde yaklaşık 850 milyon kişinin kronik böbrek yetmezliği ile yaşadığı tahmin edilmektedir ve son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) vakaları artış göstermektedir (Kovesdy, 2022).

2.1.1. Evreler ve Klinik Seyir

KBH, glomerüler filtrasyon hızı (GFH) değerleri temel alınarak beş evreye ayrılır.

- Evre 1: $GFH \geq 90$ mL/dk, ancak yapısal veya fonksiyonel anormallikler mevcut.
- Evre 2: Hafif azalmış GFH (60-89 mL/dk).
- Evre 3: Orta derecede azalmış GFH (30-59 mL/dk).
- Evre 4: Ağır azalmış GFH (15-29 mL/dk).
- Evre 5: $GFH < 15$ mL/dk, bu evre genellikle SDBY olarak kabul edilir ve hastalar yaşamı sürdürebilmek için diyaliz veya böbrek nakline ihtiyaç duyarlar (Levey ve ark., 2003). KBH uzun yıllar asemptomatik kalabilir ve hastalar genellikle ileri evrelerde teşhis edilir (<https://www.merckmanuals.com/professional/genitourinary-disorders/chronic-kidney-disease/chronic-kidney-disease>, Erişim Tarihi: 10 Kasım 2024).

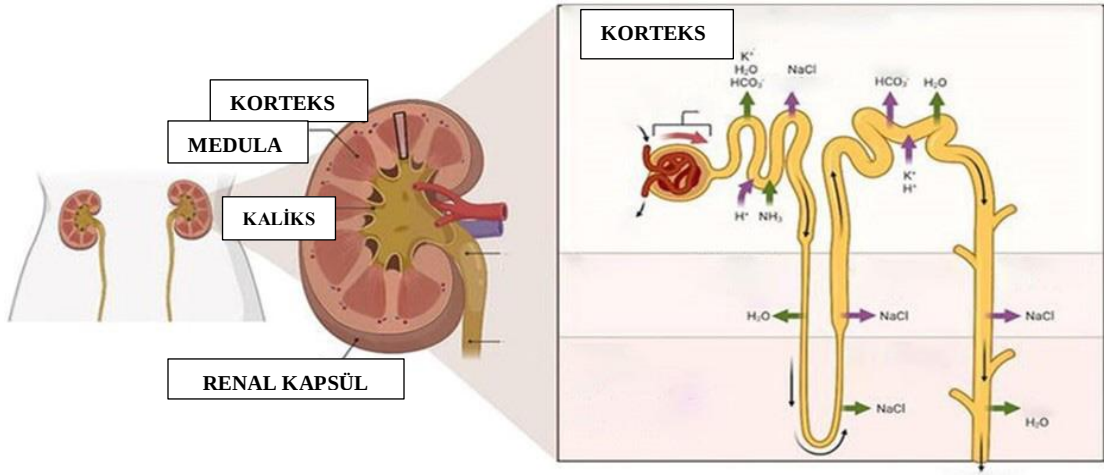
2.1.2. Etiyoloji ve Risk Faktörleri

KBH'nin gelişiminde çok sayıda faktör rol oynar. Bunların arasında en yaygın olanları diyabet ve hipertansiyondur (Saran ve ark., 2017). Diyabetik nefropati, kronik böbrek hastalığının en yaygın nedenlerinden biridir ve dünya genelindeki KBH vakalarının %40'ını oluşturur (Reutens, 2013). Diyabet, böbreklerdeki glomerüllerde ve kan damarlarında yapısal hasara yol açarak filtrasyon mekanizmasının bozulmasına neden olur. Hipertansiyon, KBH gelişiminde ikinci en yaygın risk faktörü olup yüksek tansiyon böbrek arterlerinde hasara yol açarak böbrek fonksiyonunu bozar (Ritz ve ark., 2011).

Bunlara ek olarak, kardiyovasküler hastalıklar, obezite, ileri yaş, sigara kullanımı, genetik faktörler ve nefrotoksik ilaç kullanımı da KBH gelişimini tetikleyen faktörler arasında yer almaktadır (Luttrupp ve ark., 2009; Matovinović, 2009). Ayrıca sosyoekonomik durum, eğitim düzeyi ve sağlık hizmetlerine erişim de hastalığın seyrini etkileyen önemli sosyal belirleyicilerdir (Coresh ve ark., 2007).

2.1.3. Patofizyoloji

KBH'nin patofizyolojisi, böbreklerdeki filtrasyon birimleri olan nefronların progresif kaybı ile ilişkilidir. Nefron kaybı ile glomerüler filtrasyon azalır ve kalan nefronlar hiperfiltrasyona zorlanır (Yu, 2003). Bu durum, zamanla glomerüler hipertrofiye, glomerüler skleroz ve tübüler atrofiye yol açarak böbreğin yapısal bütünlüğünü bozar (Liu, 2011). Ayrıca KBH sürecinde böbreklerde interstisyel fibrozis gelişimi, hücresel hasarın ve doku kaybının önemli bir göstergesidir (Matovinović, 2009). Glomerulusun reabsorpsiyon ve sekresyon sürecindeki fonksiyonunun diyagramatik olarak Şekil 2.1.'de gösterilmiştir (Palleschi ve Rossi, 2024).



Şekil 2.1. Glomerulusun Reabsorpsiyon ve Sekresyon Sürecindeki Fonksiyonunun Diyagramatik Gösterimi.

Palleschi G, 2024 (<http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.1002113>, Erişim Tarihi: 25 Ekim 2024)

KBH sadece böbrek fonksiyonlarının bozulmasına değil, aynı zamanda vücutta sistemik komplikasyonlara da yol açabilir. Özellikle üremik toksinlerin birikimi kalp, damar, sinir ve kemik sistemlerine zarar verir (Vanholder ve ark., 2018). KBH hastalarının %50'den

fazlası kardiyovasküler nedenlerle hayatını kaybeder ve bu hastalar kalp yetmezliği, aritmiler ve damar sertliği gibi komplikasyonlara eğilimlidir (Tonelli ve ark., 2012).

2.1.4. Biyobelirteçler ve Erken Tanı

KBH'nin erken tanısı için biyomarker kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır. Böbrek fonksiyonlarını değerlendirmek için en yaygın kullanılan biyomarkerlar arasında serum kreatinin ve üre düzeyleri bulunur (Giacoman ve Madero, 2015). Bununla birlikte böbrek hasarının daha erken evrelerde tespit edilmesi amacıyla sistatin C, Nötrofil Jelatinaz İlişkili Lipokalin (NGAL) ve Böbrek Hasar Molekülü-1 (KIM-1) gibi biyomarkerlar üzerinde de çalışmalar devam etmektedir (Zhang ve Parikh, 2019; Canki ve ark., 2024).

2.2. Tedavi

Kronik böbrek hastalığının yönetimi, hastalığın ilerlemesini yavaşlatmayı ve komplikasyonları önlemeyi amaçlar (Kakitapalli ve ark., 2020). KBH'nin erken evrelerinde tedavi, kan basıncı kontrolü, diyabet yönetimi ve diyet düzenlemelerini içeren yaşam tarzı değişikliklerine dayanır (KDIGO, 2024). Hipertansiyonu olan hastalarda Renin-Anjiyotensin Sistemi (RAS) Blokajı uygulanması önerilir. Bu amaçla kullanılan Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim (ACE) inhibitörleri ve Anjiyotensin Reseptör Blokerleri (ARB), böbreklerdeki protein kaybını azaltarak hastalığın ilerlemesini yavaşlatabilir (Izzo ve Weir, 2011). SDBY hastalarında ilerlemiş evrelerde, hastalığın ilerleyişini durdurmak zorlaşır ve diyaliz veya böbrek nakli kaçınılmaz hale gelir (Williams ve Stanton., 2018).

2.2.1. Diyaliz

Diyaliz, böbreklerin düzgün çalışmadığı durumlarda kandan atık ürünleri ve fazla sıvıyı uzaklaştırmak için yapılan bir işlemdir (<https://www.kidney.org/kidney-topics/dialysis> Erişim tarihi: 11 Eylül 2024). KBH'lerinde böbreklerin fonksiyon kaybı sonucunda vücuttaki toksinlerin ve fazla sıvının atılamaması hayati riskler doğurur. Diyaliz böbreklerin bu işlevini geçici olarak yerine getirir (Vadakedath ve Kand, 2017). İki ana tip diyaliz vardır: hemodiyaliz ve periton diyalizi. Hemodiyaliz, böbreklerin işlevini yitirdiği veya böbrek yetmezliğinin ilerlediği durumlarda, kanı toksinlerden ve fazla sıvıdan arındırmak için uygulanan bir renal replasman tedavi yöntemidir. Bu işlemde hastanın kanı vücut dışına alınarak bir diyaliz makinesine aktarılır ve burada yarı geçirgen bir zar aracılığıyla toksinler ve fazla sıvılar filtrelenir. Hemodiyaliz sırasında üre,

kreatinin, potasyum gibi atık maddeler ve fazla elektrolitler makine yardımıyla uzaklaştırılır. Böylece homeostazda süreklilik sağlanır (Habas ve ark., 2021). Periton diyalizi hastanın karın boşluğuna yerleştirilen bir kateter aracılığıyla gerçekleştirilir. Periton vücudun doğal bir filtresi olarak kullanılır ve karın boşluğuna verilen özel sıvı yardımıyla toksinler temizlenir (Andreoli ve Totoli, 1992; Vadakedath ve Kandi, 2017).

Diyaliz, böbrek fonksiyonlarının tamamen kaybolduğu ya da yetersiz olduğu durumlarda yaşamı sürdürmek için gereklidir. Ancak diyaliz böbrek fonksiyonlarını tamamen yerine getirmede ve yaşam kalitesini düşürdüğü için geçici bir tedavi yöntemidir (Evens ve ark., 2022). Bu bağlamda böbrek nakli hastaların yaşam süresini ve kalitesini arttırmadan önemli bir alternatif olarak öne çıkmaktadır.

2.2.2. Böbrek Nakli

Böbrek nakli süreci, yaklaşık bir asır önce hayvan deneyleri ve ksenotransplantasyonlarla başlamıştır. İnsandan insana böbrek nakli girişimlerinin ilki, 1930'larda ve 1940'larda Yuri Voronoy ve Jean Hamburger isimli öncü doktorlar tarafından yapılmıştır. Ancak bu denemelerin çoğu başarısızlıkla sonuçlanmıştır (Voronoy, 1938). İlk başarılı canlı böbrek nakli, 1953 yılında Boston'daki Brigham Hastanesi'nde Joseph Murray ve John P. Merrill tarafından tek yumurta ikizleri arasında gerçekleştirilmiştir. Bu başarı ileride gerçekleştirilecek canlı donör nakillerinin önünü açmıştır. (Harrinson ve ark., 1956; Murray, 1976; Cheigh ve ark., 1977; Barker ve Markmann, 2013).

1960'ların ortalarına gelindiğinde bağışıklık sistemini baskılayan ilaçların keşfi (özellikle siklosporin'in 1983 yılında klinik kullanıma girmesi) böbrek nakli başarı oranlarını artırarak bu tedavi yönteminin daha geniş bir hasta kitlesine uygulanabilirliği sağlamıştır (Diniz ve ark., 2019). Siklosporin, nakledilen organın bağışıklık sistemi tarafından reddedilmesini önlemede olarak organ nakli tarihinin en kritik dönüm noktalarından biri olarak görülmektedir (Starzl ve ark., 1979; Kyriakides ve Miller, 2004).

Günümüzde böbrek nakli yaşam süresini ve kalitesini artıran en etkin tedavi yöntemlerinden biri olarak kabul edilmektedir (Augustine, 2018). İmmünosupresif tedavilerin geliştirilmesi ve cerrahi tekniklerdeki ilerlemeler, nakil sonrası komplikasyonları azaltarak böbrek nakli olan hastaların sağkalım oranlarını yükseltmiştir

(Sherstha ve ark., 2017). Ek olarak doku tipleme ve PRA testleri, çapraz testler gibi immünolojik faktörler, alıcı ve donör arasındaki uyum daha doğru bir şekilde değerlendirilebilmekte ve böylece nakil başarısı arttırılmaktadır (Dash ve ark., 2024).

2.3. Nakil Bekleyen Hastalarda İmmünolojik Süreçler

Böbrek nakli, son dönem böbrek hastalığı olan hastalar için yaşam kalitesini artıran en etkili tedavi seçeneklerinden biri olarak kabul edilse de nakil süreci genellikle uzun bir bekleme dönemini ve çeşitli komplikasyonları içerir. Özellikle organ nakli için uygun bir donör bulunması zaman alabilir ve nakilden sonra reddi önlemek için immüsupresif tedavi uygulanması gereklidir (Shrestha, 2017). İmmüsupresif tedavi organ reddi riskini azaltmak için bağışıklık sisteminin baskılanmasını sağlar. Ancak aynı zamanda hastaları enfeksiyonlar ve diğer bağışıklık sistemi ile ilişkili komplikasyonlara karşı daha duyarlı hale getirebilir. Bu nedenle böbrek nakli sürecinde nakil başarısını artırmak amacıyla bağışıklık sisteminin yönetimi üzerine yapılan araştırmalar sürekli olarak devam etmektedir (Szumilas ve ark., 2023; Knoedler ve ark., 2024).

Böbrek nakli bekleyen hastalarda, immünolojik süreçler büyük ölçüde immünizasyon etkilerine, antikor üretimine ve donöre karşı gelişen hassasiyete dayanır (Abu Jawdeh ve ark., 2014). Bu süreç genellikle önceki nakiller veya kan transfüzyonları gibi etmenler nedeniyle hastaların bağışıklık sisteminin duyarlı hale gelmesine neden olur. Bu hastalarda, yüksek düzeyde antikor bulunur ve bu durum, nakil başarısını olumsuz yönde etkileyebilir. Bu hastalar için nakil hazırlık aşamasında, çeşitli tedavi yaklaşımları kullanılarak bu immünolojik sensitizasyon en aza indirilmeye çalışılmaktadır. Bu tedavi yöntemleri arasında plazma değişim terapileri ve immüsupresif tedaviler yer almaktadır. Plazma değişimi, yüksek düzeydeki antikorların vücuttan uzaklaştırılmasına yardımcı olurken, immüsupresif tedavi bağışıklık sisteminin aşırı yanıtını engellemeyi hedefler. Bu stratejiler, organ reddini önlemeye ve nakil başarısını artırmaya yönelik önemli adımlardır (Gaiffe ve ark., 2023).

Jean Dausset'in HLA sistemini keşfi ve Paul Terasaki'nin kompleman bağımlı çapraz eşleştirme (CDC) tekniği gibi önemli gelişmeler, böbrek nakli sonuçlarını iyileştirmiştir. Dausset, 1963 yılında HLA sistemini tanımlayarak, organ nakli için alıcı ve donör arasında uyumlu bir ilişki kurmanın temelini atmıştır. Bu, organ reddi riskini azaltarak

donör ve alıcı arasındaki immün uyumu daha doğru bir şekilde belirlemeyi mümkün kılmıştır. Paul Terasaki'nin geliştirdiği çapraz eşleştirme tekniği ise, alıcıda bulunan antikorları tespit ederek nakil öncesinde reddi engellemek için daha hassas bir değerlendirme yapılmasına olanak tanımıştır (Dousset J., 1958; Terasaki ve ark., 1996).

Günümüzde nakil öncesi immununolojik risk değerlendirmesi: ABO kan grubu antijenleri uyumu, HLA doku grubu uyumunun değerlendirilmesi, Anti- HLA antikorlarının varlığının test edilmesi, lenfosit çapraz karşılaştırma testleri olmak üzere dört ana başlık altında toplanabilir (Tait ve ark., 2009).

2.3.1. ABO Kan Grubu Uyumu

ABO kan grubu uyumu, organ nakillerinde özellikle böbrek naklinde, kritik bir immünolojik faktördür. Böbrek nakli öncesi hem alıcı hem de donör arasındaki kan grubu uyumunun sağlanması, naklin başarısını doğrudan etkileyen unsurlardan biridir. ABO sistemine göre kan grubu uyumsuzluğu, immünolojik reddi tetikleyebilir ve greft kaybına yol açabilir. Bu nedenle, kan grubu uyumu, organ nakli sırasında ilk olarak değerlendirilen önemli bir kriterdir (Daniels ve Reid., 2010).

ABO kan grubu sistemi, Avusturyalı bilim insanı Karl Landsteiner tarafından 1901 yılında keşfedilmiş olup dört ana kan grubundan oluşmaktadır: A, B, AB ve O. ABO antijenleri, yalnızca eritrositlerde değil, aynı zamanda endotel hücrelerinde, lenfositlerde ve böbrek dokusu gibi diğer hücresel yapılarda da bulunur (<http://www.nobelprize.org.tr>, Erişim tarihi: 11 Eylül 2014). Bu nedenle, ABO uyumsuzluğu, sadece kan transfüzyonunda değil, organ nakillerinde de ciddi sorunlara yol açabilir (Holt ve ark., 2020).

ABO uyumsuzluğuna sahip bireylerde, alıcının kanında donör kan grubuna karşı doğal antikorlar (izoaglutininler) bulunmaktadır. Bu antikorlar, nakil sonrasında donör organına saldırarak akut veya hiperakut rejeksiyon riskini artırabilir. Literatürde, bu tür uyumsuzlukların, plazmaferez ve intravenöz immünoglobulin gibi çeşitli desensitizasyon stratejileri ile yönetildiği bildirilmiştir (Montgomery ve ark., 2009). Ancak ABO uyumlu böbrek nakillerinde, ABO uyumsuz böbrek nakillerine kıyasla daha başarılı sonuçlar elde edilmektedir. Bir çalışmada, ABO uyumlu nakillerde greftin uzun dönem hayatta kalma

oranlarının daha yüksek olduğu ve komplikasyon risklerinin daha düşük olduğu gösterilmiştir (Tanabe ve ark., 2013).

Sonuç olarak ABO kan grubu uyumu, organ nakillerinde immünolojik uyumun sağlanması ve nakil başarısının artırılması için kritik bir faktördür (Salvadori ve Tsalouchos, 2020). Kan grubu uyumsuzlukları, desensitizasyon teknikleri ile yönetilebilse de, kan grubu uyumunun sağlanması hem alıcı hem de donör için daha güvenli ve başarılı sonuçlar doğurur (Koo ve Yang, 2015).

2.3.2. HLA Doku Grubu Uyumunun Değerlendirilmesi

Büyük doku uyum kompleksi (MHC) ilk olarak farelerde, organ naklinin kabulü veya reddi ile ilişkili bir genetik bölge olarak Gorer ve Snell tarafından keşfedilmiştir (Gorer, 1936; Snell, 1937). Birçok kez kan transfüzyonu yapılan hastaların lökositlerinde antijenlere karşı eksprese edilen antikörlerin varlığının saptanması sonucunda 1954 yılında Jean Dausset ve Jan van Rood tarafından insanlarda da aynı genetik sistem tanımlanmış ve insan lökosit antijenleri (HLA) olarak adlandırılmıştır (Dausset J, 1958). HLA sistemi Şekil 2.3.'de gösterildiği üzere, 6. kromozomun kısa kolunda (6p21.3) yaklaşık 4.000 kilobaz (kb) DNA'yı kapsayan bir bölgede yer almaktadır (Rhodes ve Trowsdale, 1999). Antijen sunan HLA molekülleri 3 ana sınıfa ayrılır. Sınıf I HLA molekülleri, merkezi sinir sistemi hariç tüm çekirdekli hücrelerin yüzeyinde transmembran glikoproteinler olarak bulunur. Sınıf I HLA molekülleri bir beta-2 mikroglobulin molekülüne bağlı bir alfa ağır zincirden oluşur. Ağır zincir, 2 peptit bağlayıcı alandan, bir immünoglobulin (Ig) benzeri alandan ve sitoplazmik kuyruğu olan bir transmembran bölgeden oluşur. Sınıf I molekülünün ağır zinciri, HLA-A, HLA-B ve HLA-C lokuslarındaki genler tarafından kodlanır. Bazı sınıf I MHC (HLA) genleri, fetüsü maternal bağışıklık tepkisinden korumada rol oynayabilen HLA-G ve doğal öldürücü (NK) hücrelerdeki reseptörlere peptitler sunan HLA-E gibi klasik olmayan MHC moleküllerini de kodlar (Dendrou ve ark., 2018; Medhasi ve ark., 2022).

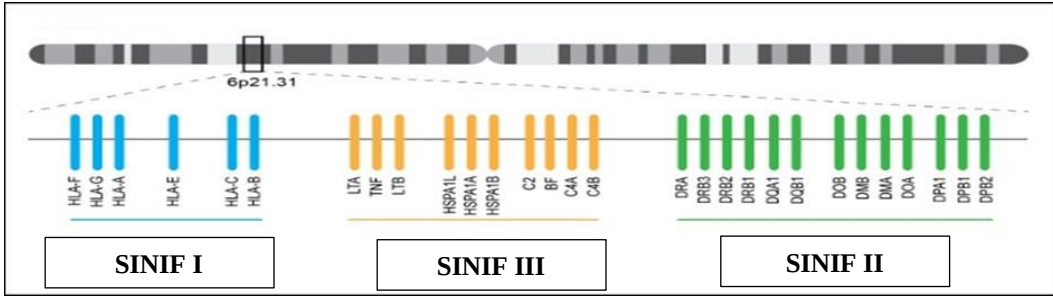
HLA sınıf II antijenleri B lenfositleri, dendritik hücreler, makrofajlar, monositler, Langerhans hücreleri, endotelial hücreler ve aktive edilmiş T hücreleri gibi antijen sunan hücrelerde (ASH) eksprese edilmektedir. Sınıf II MHC molekülleri 2 polipeptit (alfa ve beta) zincirinden oluşur; her zincir bir peptit bağlanma alanına, bir Ig benzeri alana ve

sitoplazmik kuyruğu olan bir transmembran bölgeye sahiptir. Her iki polipeptit zinciri de 6. kromozomun HLA-DP, HLA-DQ veya HLA-DR bölgesindeki genler tarafından kodlanır (Cluskey ve Peh, 1999). HLA sınıf III bölgesinden ise properdin faktör B (Bf), C2, C4A, C4B, tümör nekroz faktör alfa (TNF- α), Steroid 21 hidroksilaz A ve B, protein homeostazını korumaya yardımcı olan ısı şok proteini gibi inflamasyonda önemli olan bazı molekülleri kodlanır (Goldsb, 2003).

HLA gen bölgesinin yüksek polimorfizm göstermesi nedeniyle spesifik HLA alloantijenlerinin tanımlanması, uyumlu hücre, doku ve organ donörlerinin seçilmesi, otoimmün hastalıkların teşhisi ve immünoterapilerin yönlendirilmesi için kritik öneme sahiptir (Matzaraki ve ark.,2017; Dehn ve ark., 2019; Wiebe ve ark., 2020).

HLA polimorfizmlerini tanımlamada standart bir adlandırma sistemine ihtiyaç duyulmuştur. HLA tiplene yöntemlerinin serolojik ve hücresel analizlerinden DNA dizilemesine kadar ilerlemesiyle birlikte bir adlandırma sistemi oluşturulmuştur. Yeni bir alel raporlamak için gereken veri standartlarının geliştirilmesi ve alellere isim verilmesi sorumluluğu, Dünya Sağlık Örgütü tarafından desteklenen bir uluslararası HLA nomenklatür komitesine aittir (Bodmer, 1997). HLA alel sayıları sürekli güncellenmekte olup, Kasım 2024 itibariyle tanımlanan HLA alel sayısı HLA sınıf I için 27,717, HLA Sınıf II 11,910 ve HLA sınıf III için 39,627' dir (<http://hla.alleles.org/nomenclature/index.html>, Erişim Tarihi: 12 Kasım 2024). Bu komite, HLA sistemindeki sınıf I ve sınıf II gen lokusları tarafından kodlanan serolojik olarak tanımlanmış antijenler için standart adlandırmalar belirler. Örneğin, HLA-A1, -B5, -C1 ve -DR1 gibi kodlamalar bu standartlar çerçevesinde isimlendirilir. DNA dizilemesi ile belirlenen yeni aleller, gen ve alel grubunu tanımlayan özel bir adlandırma sistemiyle isimlendirilir (Williams, 2001). İsimlendirmeye önce genin adı ile başlanır ve ardından alel grubunu temsil eden ve bu alelin kodladığı serolojik antijenle ilişkili sayılar gelir. Bu grup, bir asteriks (*) işareti ile gen adından ayrılır ve genellikle belirli bir alleli tanımlayan iki sayı ile devam eder. Örneğin, A*02:01 ve DRB1*01:03 alelleri gibi. Aynı proteini kodlayan fakat küçük varyasyonlar içeren alelleri ayırt etmek için iki nokta üst üste (:) kullanılarak ek sayılar eklenebilir. Eğer intronlarda ya da 5' veya 3' çevrilmemiş bölgelerde farklılık gösteren

polimorfizmler varsa, bu varyantlar için ilave sayılar eklenir. Örneğin, A02:101:01:02 ve DRB103:01:01:02 (Robinson ve ark., 2015; Braschi ve ark., 2019; Hurley ve ark., 2021).



Şekil 2.2. 6. Kromozom Üzerinde HLA Gen Bölgesi Yerleşimi

(<http://sciscogenetics.com/technology/human-leukocyte-antigen-complex/>, Erişim Tarihi: 13 Eylül 2024)

HLA molekülleri, vücudun bağışıklık sisteminin kendi hücreleri ile yabancı hücreleri ayırt etmesine yardımcı olan ve nakil sonrası bağışıklık yanıtını düzenleyen yüzey proteinleridir (Takemoto ve ark., 2004). Böbrek naklinde donör seçiminde HLA uyumu, transplantasyon sürecinde akut ya da kronik rejeksiyonları etkileyen önemli bir faktördür (Gramlick ve ark., 2022). HLA uyumu, greftin uzun süreli hayatta kalma oranını artırır ve bağışıklık sisteminin donör böbreğini yabancı doku olarak tanımasını ve saldırmasını önler (Manaski ve ark., 2019).

HLA uyumu, hem kısa vadeli hem de uzun vadeli greft sağkalımı üzerinde önemli bir etkiye sahiptir (Kim ve ark., 2021). Çeşitli çalışmalar donör ve alıcı arasında tam HLA uyumunun sağlanmasının, greftin hayatta kalma süresini uzattığını ortaya koymuştur. Cheigh ve ark., 1977; Richie ve ark., 1979; Terasaki ve ark., 1996; Hafeez ve ark., 2023).

Süsel ve Opelz tarafından 2002 yılında yapılan bir çalışmada, HLA-DR lokusunda uyumun, böbrek nakillerinde uzun dönem greft sağkalımı üzerinde diğer HLA lokuslarına kıyasla daha belirleyici olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda HLA-DR uyumu olan hastalarda ise greft sağkalım oranlarının belirgin şekilde yüksek olduğu belirtilmiştir. (Süsel ve Opelz, 2002). Morris ve ark. tarafından yürütülen bir başka çalışma da İşbirlikçi Transplant Çalışması (CTS) verileri kullanılarak HLA uyumu ve greft sağkalımı arasındaki ilişki incelenerek HLA-A, HLA-B ve HLA-DR lokuslarında tam uyumlu olan alıcılarda greft sağkalım oranlarının %90'a kadar çıkabildiğini göstermiştir (Morris ve

ark., 1999). Uyumun sağlanması, rejeksiyon riskini azaltırken greftin sağkalımını artırmakta ve immünsupresif tedavi ihtiyacını minimize etmektedir. HLA uyumunun sağlandığı nakillerde, siklosporin vb immünsupresif ilaçlara daha düşük dozlarda ihtiyaç duyulduğu ve böylece ilaçların yan etkilerinin azaltılabildiği bildirilmiştir (Hariharan ve ark. 2000).

HLA doku tipleme yöntemleri, doku ve organ naklinde immünolojik uyumu belirlemek için kritik öneme sahiptir (Chee, 2002). Bu yöntemler serolojik yöntemler ve moleküler yöntemler olarak gruplandırılır (Edgerly ve ark., 2018).

a. Serolojik Yöntemler; 1960'larda geliştirilen bu yöntem HLA tiplemesi için kullanılan temel tekniklerden biridir (Mulley ve ark., 2019). Donör veya alıcıdan alınan lenfositler dansite-gradient santrifüj yöntemi ile izole edilerek HLA antijenlerine karşı geliştirilmiş spesifik antikorlar eklenir. Bu aşamadan sonra tavşan serumundan elde edilen kompleman eklenerek kompleman sistemi aktive edilir. Bu da antikorla kaplanmış hücrelerin lizisine neden olur. Formaldehid eklenmesiyle reaksiyon durdurulur ve eosin eklenerek hücre lizisine uğrayan hücreler boyanır. Çalışmada kullanılan bu yöntemde ölü hücrelere göre değerlendirme yapılır (Otten ve ark., 1995; Woszczek ve ark., 1997). Hızlı ve düşük maliyetli bir yöntem olmasına karşın, düşük çözünürlüğe sahiptir. Özellikle nadir HLA alellerini veya alt gruplarını tespit etmede yeterli değildir. Dolayısıyla moleküler varyasyonları yakalama yeteneği sınırlıdır (Althaf ve ark., 2017).

b. PZR-SSO: Diziye Özgü Oligonükleotidler Kullanılarak HLA Tipleme; Yöntemin temeli HLA genlerinin spesifik bölgelerinin polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile çoğaltılmasından sonra elde edilen PZR ürünlerinin, oligonükleotid problemlerle hibridizasyonuna (PZR-SSO) dayanır (Trachtenberg ve Erlich, 1996). Diziye özgü oligonükleotidler kullanılarak PZR ile elde edilen hibridizasyon ürünleri, streptavidin-biyotin veya floresan (FITC, PE) tabanlı tespit sistemleri ile izlenebilir. Daha hızlı, güvenilir, otomatik bir tipleme elde etmek için mikroboncuk ve floresan tespit teknolojisi bir araya getirilmiş ve bu alana dahil edilmiştir (XMAP™ teknolojisi). Her lokus için, iki dahili floresan boyadan kaynaklanan özgül renkleriyle tanınabilen maksimum 100 boncuk kullanılır. Her boncuk, biyotin etiketli tamamlayıcı ampikonla hibridizasyon yapabilen tek bir prob ile birleştirilir. Hibridizasyon gerçekleştiğinde, boncuklar tarafından

yakalanan floresan (Streptavidin-PE) etiketli amplikonlardan kaynaklanan floresan sinyali yoluyla niceliksel olarak belirlenebilir (Dunckley, 2012; Dalva ve Bektaş, 2014). Bu yöntem daha yüksek çözünürlük sağlar ve çeşitli HLA alellerinin tanımlanmasında başarılıdır. Fakat laboratuvar koşullarında yüksek maliyet ve zaman gerektirebilir (Robinson ve ark., 2003).

c. PZR- SSP: Diziye Özgü Primerler Kullanılarak HLA Tipleme; HLA tiplemesi için en yaygın kullanılan diğer teknik, ilk olarak 1990'ların başında ortaya çıkan polimeraz zincir reaksiyonu-sekans spesifik primer (PZR-SSP) yöntemidir. Bu yöntem hedef HLA geni içindeki polimorfizmleri hedefleyen çoklu PZR reaksiyonlarını kapsar (Olerup ve ark., 1992; Bunce ve ark., 1995). Bu yöntemin prensibi diziye özgü bir primerin PZR reaksiyonunda bir veya daha fazla uyumsuz primerden daha etkili olmasıdır. 3' tek baz uyumsuzluğunun özgül olmayan bir reaksiyonun başlaması engellenerek diziye özgü primerler ile özgülük sağlanır. Taq polimeraz enzimi 3'→5' ekzonükleaz aktivitesinin olmaması nedeniyle uyumsuz primerler bir amplikonunun üretimiyle sonuçlanmaz. Bu nedenle yalnızca gerekli alel çoğaltılır. Üretilen amplikonlar örnek DNA'da hedef polimorfizmin varlığının göstergesidir ve genellikle etidyum bromür ile agaroz jel elektroforezinde görselleştirilir (Bunca ve Passay., 2013). Bu yöntemin avantajları arasında minimum DNA miktarı ve maliyet etkinliği sağlayan esnek bir yöntem olması gelir. Bir diğer avantajı ise PZR-SSO ile karşılaştırıldığında bu teknik ile belirsiz sonuçların sayısının azalmasıdır (Welsh ve Bunce, 1999).

d. SBT: Sekans Bazlı HLA Tipleme; Alelik düzeyde kesin ve net bir HLA tipi yalnızca dizileme tabanlı tipleme (SBT) ile elde edilebilir (Hoppe ve ark., 2005). HLA sınıf I için hem 2. hem de 3. ekzonun dizilenmesi esastır. HLA-DRB1 alel tiplemesi için ise DRB1'in 2. ekzonu analiz edilmelidir (Kotsch ve ark., 1999). Bazı durumlarda, doğru alel tanımlamasını elde etmek için ek ekzonların dizilenmesi gerekir. Bu ek ekzonlardaki donör ve alıcı arasındaki farklılıkların tanımlanmasının henüz nakil sonucu üzerinde doğrudan bir etkisi olduğu gösterilmemiş olsa da, karşılık gelen gendeki varyasyonlar nedeniyle ifade edilmeyen aleller önemli bir rol oynayabilir (Voorter ve ark., 2014).

PZR-SBT'nin bir dezavantajı, iki alel arasındaki DNA dizilerindeki tek bazlı farklılıkları tespit edebilmelerine rağmen, varyasyonun prob tarafından tespit edilen belirli bölgede

olmaması durumunda yeni tanımlanmamış alelleri tespit etme olasılıklarının daha düşük olmasıdır (Claas ve ark., 2003).

2.3.3. Anti-HLA Antikorlarının (PRA) Varlığının Tespiti

HLA uyumu sağlanamadığında, alıcıda donör spesifik antikorlar (DSA) gelişebilir. Bu antikorlar, grefti hedef alarak akut ve kronik rejeksiyon riskini artırır (David-Neto ve ark., 2012). Daha önceki nakiller, kan nakli veya gebelik gibi nedenlerle HLA antikorlarına duyarlılaşmış hastalar böbrek nakli için yüksek risk grubunda kabul edilir (Park ve ark., 2021). Tambur ve ark tarafından yapılan çalışmada, DSA pozitif hastalarda rejeksiyon riskinin belirgin şekilde arttığı ve greft sağkalım oranlarının düştüğü gösterilmiştir (Tambur ve ark., 2015).

Sensitize hastaların böbrek nakli için uygun hale getirilebilmesi amacıyla kullanılan desensitizasyon protokolleri literatürde önemli bir yer tutmaktadır. Montgomery ve arkadaşları tarafından 2011 yılında yapılan bir çalışmada, plazmaferez ve intravenöz immünoglobulin (IVIG) gibi desensitizasyon yöntemlerinin, DSA pozitif hastalarda başarılı bir şekilde kullanılabileceği ve bu sayede transplantasyon başarısının artırılabilceği gösterilmiştir (Montgomery ve ark., 2011).

Organ nakli süreçlerinde immünolojik uyumu değerlendirmek ve alıcı adaylarının potansiyel donörlere karşı geliştirdikleri antikor seviyelerini belirlemek için PRA testi kullanılır (Jang ve ark., 2012). PRA testleri, alıcının daha önce maruz kaldığı yabancı antijenlere (örn. hamilelik, kan transfüzyonları veya önceki nakil) karşı geliştirdiği antikorları tespit etmeyi amaçlar. Bu antikorlar genellikle HLA sistemine karşı oluşur ve nakil sürecinde doku reddine yol açabilecek immün yanıtları tetikleyebilir (Soosay ve ark., 2003).

HLA antikorları önceden var olan ve *de novo* antikorlar olarak ikiye ayrılır. Önceden var olan antikorlar, alıcıda nakil öncesinde mevcut olup, genellikle kan transfüzyonları, gebelik veya daha önceki nakiller sırasında HLA antijenleriyle karşılaşma sonucu gelişir. Bu tür antikorlar, nakledilen organ için hiperakut veya akut reddetme riskini artırabilir. *De novo* antikorlar ise nakilden sonra, alıcıda nakledilen organdaki yeni HLA antijenleriyle temas sonucu oluşan antikorlardır ve zamanla gelişen kronik red riskine yol açabilir (Alelign ve ark., 2018).

PRA testleri, alıcı serumunda bulunan antikorların, belirli bir donör havuzunda yer alan HLA antijenlerine karşı reaktivitesini ölçer (Howell ve ark., 2010). Geleneksel olarak hücre bazlı yöntemler (mikrolenfositotoksitesite testi gibi) ile yapılmış olsa da, günümüzde daha hassas ve spesifik yöntemler olan solid-faz antikor testleri akım sitometri ve Luminex gibi yaygın olarak kullanılmaktadır (Cecka ve ark., 2010). Bu yöntemler, düşük seviyedeki antikorları bile tespit edebilmekte ve test sonuçlarının hassasiyetini artırmaktadır (Bhaskaran ve ark., 2022).

Anti-HLA antikorlarının tespiti için yaygın olarak kullanılan yöntem Luminex Biyoteknoloji Şirketi tarafından geliştirilmiştir. Bu test, manyetik mikro boncuk teknolojisini optik ve dijital sinyal işleme ile birleştiren, akım sitometrisi prensiplerine dayanan ve tek bir çalışmada aynı anda yüzlerce hedefi tespit edebilen boncuk tabanlı bir multipleks immünolojik yöntemdir (Ravindranath ve ark., 2021). Örnek serum ve boncuklar inkübe edilir ve serumda bulunan HLA'ya özgü antikorların boncuklardaki hedef HLA'ya bağlanması sağlanır. Daha sonra floresan boyayla işaretlenmiş anti-human IgG eklenir. Bu boyanın floresan emisyonu ve mikro boncuk boyası (bead dye) aynı anda 2 lazer kullanılarak tespit edilir. Ortalama floresan yoğunluğu (MFI) değeri olarak rapor edilen yarı kantitatif bir değerlendirmedir. Test sonucu yüzdelik olarak ifade edilir (Tait, 2016; Senev ve ark., 2020). Hastada duyalılığı saptamak için spesifik özellikli tek antijen boncuk teknolojisi (SAB) ile her HLA sınıf I ve HLA sınıf II testi yapılır. Bu analiz rekombinant teknolojiyle üretilen, her biri alelik düzeyde tek bir saflaştırılmış HLA proteiniyle kaplanmış, boncukların kullanımına dayanır (Colombo ve ark., 2007).

PRA testlerinin altın standart olarak klinik kullanımı özellikle böbrek nakli bekleyen hastalarda oldukça önemlidir. Yüksek PRA seviyeleri, hastaların nakil sırasında organ reddi riskini artırır (Luo ve ark., 2014). Bu nedenle yüksek PRA değerine sahip hastalar böbrek nakli anında varsa indüksiyon tedavisi türü de dahil olmak üzere immünsupresyon protokolünün optimal seçimi için dikkatlice değerlendirilir (Lieber ve ark., 2007).

2.3.4. Lenfosit Çapraz Karşılaştırma Testleri

1964 yılında Patel ve Terasaki, bir alıcıda bulunan önceden oluşmuş allojenik antikorlarının greft kaybı için önemli bir risk faktörü olduğunu bildirmiştir. Lenfosit

sitotoksitesinin transplantasyon antijenlerini tespit etmek ve eşleştirmek için kullanılabileceğini öne sürmüştür (Patel ve Terasaki, 1969).

Lenfosit çapraz karşılaştırma testi özellikle böbrek nakli gibi organ nakli öncesinde yapılan alıcının serumunda donörün HLA antijenlerine karşı mevcut bir anti-HLA antikorlu olup olmadığını tespit etmek amacıyla yapılır. Eğer alıcı, donörün HLA antijenlerine yönelik spesifik antikorlar geliştirmişse bu antikorlar donör lenfositlerine bağlanır ve bağışıklık sisteminin kompleman sistemi aracılığıyla nakil sırasında akut veya kronik rejeksiyon ile sonuçlanabilir (Rocha ve ark., 2023).

Çapraz karşılaştırma testleri bu bağışıklık tepkisini öngörerek transplant başarısızlığını önlemek amacıyla kullanılır. Lenfosit çapraz karşılaştırma testleri farklı yöntemlerle uygulanabilir ve bu yöntemler arasında en yaygın kullanılanları; serolojik çapraz karşılaştırma, akım sitometrisi ile çapraz karşılaştırma ve luminex tabanlı çapraz karşılaştırma testleridir (Mishra ve ark., 2024).

Serolojik lenfosit çapraz karşılaştırma (CDC-XM) testi, donör ve alıcı arasındaki immünolojik uyumsuzlukları değerlendirmek için uzun yıllardır kullanılan önemli bir tekniktir (Gebel ve ark.,1991; Fidler, 2012). 1969'da Patel ve Terasaki'nin yayımladığı önemli bir çalışma, pozitif CDC-XM sonuçlarına sahip olan böbrek nakli hastalarında yüksek oranda greft reddi yaşandığını göstermiştir (Patel ve Terasaki, 1969). Bu nedenle CDC-XM testi, böbrek nakillerinde rutin bir uygulama haline gelmiştir. CDC-XM testi, özellikle akut antikor aracılı greft reddi riski taşıyan yüksek duyarlı hastalarda hala değerli bir yöntem olarak kullanılmaktadır. Alıcının serumundaki HLA antijenlerine karşı gelişmiş alloantikorların antikorların, donörden elde edilen T ve B lenfositlerine bağlanarak kompleman aracılı hücre ölümüne yol açıp açmadığını test eder (Mulley ve Kanellis, 2011). Hümmoral immün yanıt, klasik yol ile kompleman sistemi aktive edilerek sağlanır (Kumar ve ark., 2017). Bu sırada, donör lenfositleri alıcının serumuna eklenir ve tavşan serumundan elde edilen kompleman kullanılarak hücre lizisi gözlemlenir. Sonuçlar, lizis olan lenfositlerin yüzdesi (%) ile ifade edilir (Mulley ve Kanellis, 2011). Negatif bir çapraz uyum, lenfositlere bağlanan antikorların yokluğunu ve düşük akut

reddetme riski anlamına gelirken; pozitif çapraz uyum, antikorların varlığını ve yüksek reddetme riskini gösterir (Salvalaggio ve ark., 2009; Aziz ve ark., 2021; Etta, 2021).

CDC-XM testinin doğruluğu donör hücrelerinin canlılığına bağlıdır. Komplemanın hücre ölümüne duyarlılığı nedeniyle yanlış pozitif sonuçlar oluşabilir. Bu durumda, oto-antikorların pozitif sonuca neden olup olmadığını anlamak için oto-çapraz karşılaştırma yapılır. Bu test, alıcının serumunun kendi lenfositleriyle karşılaştırılmasını içerir. Ayrıca IgM antikorlarının neden olabileceği hatalı pozitif sonuçları önlemek için Ditiotreitol (DTT) kullanılarak çapraz karşılaştırma testi tekrarlanır (Kumar ve ark., 2017; Mishra ve ark., 2024).

Testin duyarlılığı düşüktür ve düşük titredeki antikorları tespit edemeyebilir. Özellikle HLA-dışı antijenlere karşı gelişen antikorları tespit edemediği için spesifik değildir. Daha yeni teknolojilerle birlikte kullanımının sınırlı hale geldiği ve daha hassas yöntemlerle desteklenmesi gerektiği vurgulanmaktadır (Peña ve ark., 2013; Putheti ve ark., 2022). Tafulo ve arkadaşlarının 2024 yılında yaptığı çalışmada, CDC-XM testinin düşük duyarlılığa sahip olduğu ve DTT eklenmeden yapıldığında yüksek oranda yanlış pozitif reaksiyon gösterdiği tespit edilmiştir. Çalışmada, CDC-XM'nin DSA benzeri sanal çapraz eşleştirme (VXM) tabanlı testlerle kıyaslandığında nakil öncesi uyumluluk testine anlamlı bir katkı sağlamadığı ifade edilmektedir. Bu bulgular, özellikle donör bulma olasılığı düşük ve bekleme listesinde ölüm riski yüksek olan aşırı duyarlı hastalar (HSP) üzerinde olumsuz etkilere yol açabilir (Tafulo ve ark., 2024).

Solid faz teknikleri gibi hassas yöntemlerin geliştirilmesi ile birlikte CDC-XM'nin yerini bazı durumlarda akım sitometrisi ile yapılan çapraz karşılaştırmalar (FC-XM) veya Luminex gibi katı faz HLA antikor tarama testleri almıştır (Mahowald, 2021).

FC-XM, serolojik çapraz karşılaştırma testine kıyasla daha duyarlı bir yöntemdir. Bu yöntemde alıcı serumundaki antikorların, donör lenfositleri üzerinde bulunan HLA moleküllerine bağlanıp bağlanmadığı, floresanla etiketlenmiş anti-insan IgG antikorları kullanılarak analiz edilir (Talbot, 1994; Maguire ve ark., 2014).

Alicının serumu, donörden elde edilen T ve B lenfositleri ile inkübe edilir. Alicının serumunda anti-HLA antikorları mevcutsa, donörün lenfositlerine bağlanır. Ardından floresan işaretli ikinci antikor eklenir ve bu antikor, insan IgG'ye bağlanarak akım sitometrisi cihazı ile floresan yoğunluğu ölçülür. Bağlanma düzeyi, hücrelerin yüzeyinde bulunan antikorların miktarını gösterir (Downing, 2012; Moszkowska ve ark., 2021). Hem T hem de B hücreleri üzerinde test yapma imkânı verir. Yüksek duyarlılığı sayesinde serolojik yöntemde tespit edilemeyen antikorları yakalayabilir. Ancak teknik olarak karmaşıktır ve deneyimli personel gerektirir. Yüksek maliyetlidir ve donanım gereksinimi vardır (Mahowald, 2021).

Luminex tabanlı çapraz karşılaştırma testi ise, CDC-XM uzun yıllardır altın standart olmasına rağmen Luminex daha düşük anti-HLA antikor seviyelerini dahi tespit edebilen yüksek hassasiyete sahip spesifik bir yöntem olduğu literatürde yapılan çalışmalarla desteklenmiştir (Ankit ve ark., 2018; Ameer ve ark., 2023).

Yapılan çalışmalarda Luminex antikor tespit tekniğini ile anti-HLA antikorlarını doğru bir şekilde tanımlanması ve greft sonucu için önemli olan epitop özgüllüğünün belirlenmesini sağlandığı gösterilmiştir (Eng ve ark., 2009; Tait ve ark., 2013). Bu teknik, saflaştırılmış HLA moleküllerinin (tek bir HLA tipi veya tiplerin bir kombinasyonu) boncuklara bağlandığı katı fazlı bir testtir. Bu moleküller hastanın serumundaki anti-HLA antikorlarına bağlanacaktır (Chowdhry ve ark., 2018). Yöntemin prensibi; her biri farklı bir floresan rengi ile işaretlenmiş ve spesifik bir antijen veya antikor ile kaplanmış olup, mikro boncuklara dayanmaktadır. Bu mikro boncuklar analiz edilecek molekül türüne göre farklı hedefleri tanımak üzere tasarlanmıştır. Hazırlanan serum veya plazma örneği, bu boncuklarla bir araya getirilir. Örnekte bulunan antikor veya antijenler, uygun mikro boncuklara bağlanarak hedef moleküllerin tespiti sağlanır. Boncuğa bağlanan antikor veya antijenlerin tespiti, floresan işaretli sekonder antikorlar yardımıyla gerçekleştirilir. Bu sekonder antikorlar bağlanmış olan biyomolekülleri tanıyacak şekilde seçilmiş olup floresan sinyali sayesinde mikro boncuk üzerindeki bağlanma olayları saptanabilir hale gelir. Luminex cihazı her bir boncuktaki floresan sinyalini ve boncukların rengine göre hangi molekül ile reaksiyona girdiğini belirler. Bu sayede, çok sayıda biyomolekülün

varlığı, miktarı ve profili aynı anda hassas bir şekilde analiz edilir (Billen ve ark., 2008; Abbas ve ark., 2023)

Tek antijen boncuk teknolojisini kullanan Luminex teknolojisi, (bir "sanal çapraz eşleştirme" olarak adlandırılır) fiziksel bir CDC veya akım sitometrik çapraz eşleştirme yapmadan hastanın nakilden önce belirli HLA tiplerine olan duyarlılığını tahmin edebilir (Worsley ve ark., 2011).

Luminex metodolojisinin antikor tespiti için diğer tekniklerle, özellikle CDC ile karşılaştırıldığında iki temel avantajı, testlerin hızlı bir şekilde tamamlanabilmesi ve elde edilen sonuçların duyarlılığı ve özgüllüğüdür (Caro-Oleas ve ark., 2010).

Nakil bekleyen hastalarda yapılan immünolojik testler, transplantasyon sonrası oluşabilecek rejeksiyon risklerini öngörmek açısından kritik bir rol oynar. Bu testler nakil sonrası oluşabilecek olası komplikasyonların önlenmesine katkıda bulunur. Ancak transplantasyon sonrasında doku uyumsuzluğu veya immün yanıtın aşırı aktivasyonu gibi nedenlerle rejeksiyon gelişme riski her zaman mevcuttur (Erdoğan ve Şengül, 2019; Johnson ve ark., 2022). Bu bağlamda rejeksiyon tiplerinin ve gelişim süreçlerinin anlaşılması ve uygun immünsupresif tedavilerin belirlenmesi açısından büyük önem taşımaktadır.

2.4. Böbrek Nakli Sonrası Komplikasyonlar

Böbrek nakli, son dönem böbrek yetmezliği olan hastalar için diyalize kıyasla yaşam kalitesini iyileştirdiği ve daha iyi sağ kalım avantajlarına sahip olduğu için etkili bir tedavi yöntemi olsa da operasyon sonrası hem immünolojik hem de immünolojik olmayan nedenlere bağlı komplikasyonla karşılaşılabilir (Wolfe ve ark., 1999).

Literatürde, patolojik komplikasyonlar ve cerrahi komplikasyonlar olarak sınıflandırılmıştır (Nankivell ve Alexander, 2010). Patolojik komplikasyonlar arasında rejeksiyon (akut/kronik), enfeksiyon ve kardiyovasküler durumlar, cerrahi komplikasyonlar arasında ise vasküler ve ürolojik komplikasyonlar, lenfösel, yara enfeksiyonu bulunur (Reyna-Sepúlveda ve ark., 2017).

Rejeksiyon, böbrek nakli sonrası alıcının bağışıklık sisteminin yeni böbreği yabancı bir doku olarak tanıyıp ona karşı saldırıya geçmesiyle meydana gelir. Bu sürece allotransplant reddi denir ve bu tepki kontrol edilmezse grefti yok edebilir (Nankivell ve Alexander, 2010). Bu durumun etiolojisinde donör ve alıcının yaşı, PRA seviyesinin yüksekliği (duyarlılaşma), pozitif B hücre çarpaz eşleşmesi, nakil türü (kadavra/canlı donör) gibi faktörler bulunmaktadır (Pallardó Mateu ve ark., 2004; Terasaki ve ark., 2004; Joosten ve ark., 2005).

Rejeksiyon süreçleri, immünsupresif tedavi ile yönetilmeye çalışılsa da belirli tipteki rejeksiyonlar farklı klinik tablolara ve uzun dönem sonuçlarına yol açabilir. Rejeksiyonlar histopatoloji ve immünolojik özelliklere bağlı olarak, genellikle üç kategoriye ayrılır: hiperakut, akut ve kronik rejeksiyon (Tamargo ve Kant, 2023).

2.4.1. Hiperakut Rejeksiyon

Hiperakut redüksiyon, alıcının dolaşımında bulunan donör-spesifik antikorların (özellikle IgG ve IgM) donör organın endotel hücrelerine bağlanmasıyla başlar. Bu bağlanma, klasik kompleman yolunun aktivasyonuna ve ardından trombosit ve fibrin trombuslarının oluşumuna yol açar. Kompleman aktivasyonu, koagülasyon kaskadının ve trombosit agregasyonunun tetiklenmesinde kritik bir rol oynar. Bu süreç, damar içi tromboz ve organın mikrovasküler yapısında ciddi hasara neden olur (Platt ve ark., 1991; Colletti ve ark., 1994; Bittner ve ark., 2001).

Alıcıda önceden var olan donöre özgü antikorlar, allotransplant revaskülarize edildikten hemen sonra veya birkaç saat içinde nakledilen organa saldırır ve onu yok eder (Higgins ve ark., 1996; Moreau ve ark., 2013). Histopatolojik incelemede şiddetli endotel hasarı, polimorfonükleer (PMN) infiltrasyon, tromboz ve iskemik doku nekrozu görülecektir. Hiperakut rejeksiyon, alıcının donör antijenlerine karşı önceden duyarlılık geliştirdiği durumlarda hızla ortaya çıkar ve geri döndürülemez. Bu nedenle çapraz karşılaştırma ve HLA uyum testleri hiperakut rejeksiyon riskini en aza indirmede kritik öneme sahiptir (Reis Pereira ve ark., 2022). Hiperakut redüksiyonun yönetiminde plazmaferez ve antitimosit globulin tedavisi gibi immünsupresif tedaviler etkili olabilir. Bu tedaviler, antikor varlığını ve üretimini azaltarak klinik iyileşme sağlayabilir. Yeni deneysel modeller hiperakut redüksiyonun patogenezi anlamak ve tedavi stratejilerini

değerlendirmek için kullanılmaktadır. Bu modeller, naif donör B hücresi infüzyonuyla önceden tedavi ederek hiperakut bir yanıt potansiyelini tolere edilmesi gibi yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine olanak tanır (Bittner ve ark., 2001; Oh ve ark., 2012).

2.4.2. Akut Rejeksiyon

Akut rejeksiyon, genellikle nakilden sonraki ilk birkaç hafta veya ay içinde gelişir. Genel olarak 2 şekilde sınıflandırılabilir (Haas ve ark., 2018).

a. Antikor Aracılı Red (ABMR): Böbrek nakli sonrası immün yanıtla ilişkili allotransplant başarısızlığının en yaygın nedenlerinden biri antikor aracılı rejeksiyondur (Wiebe ve ark., 2012). Bu durum; genellikle donöre özgü alloantikorların dolaşımında bulunması ve böbrekte antikor kaynaklı doku hasarı ile kendini gösterir. Ayrıca ABO kan grubu antijenleri ile endotel hücre yüzeyi antijenleri de antikor oluşumunu tetikleyerek ABMR'ye yol açabilir (Colvin ve Smith, 2005).

b. Akut T Hücre Aracılı Rejeksiyon (TCMR): Alıcının lenfositleri, nakledilen organdaki donör antijenlerini doğrudan, yarı-doğrudan veya dolaylı yollarla tanıyıp aktive olur. Bu aktivasyon, naif CD4⁺ T hücrelerinin sitokinlerin etkisiyle spesifik yardımcı T hücre alt gruplarına farklılaşmasına ve CD8⁺ T hücrelerinin aktifleşip dokuya infiltrasyon olarak allotransplantta hasara yol açmasına neden olur (Pallardó Mateu ve ark., 2004; Lusco ve ark., 2016; Short ve ark., 2023).

TCMR tanısı genellikle böbrek biyopsileri ile konur. Biyopsilerde, tübülit ve interstisyel inflamasyon gibi histolojik bulgular gözlemlenir. Banff sınıflandırmasına göre inflamasyon ve tübülit derecelendirilir ve bu dereceler rejeksiyonun ciddiyetini belirler (Lusco ve ark., 2016; Chandran ve Mannon, 2022).

Akut rejeksiyon vakalarında T hücreleri, donör böbrek hücrelerine saldırarak iltihaplanma ve doku hasarına neden olur. Bu süreç immünsupresif tedavinin yoğunlaştırılması ile durdurulabilir. Ancak tedavi gecikirse geri dönülmez hasarlar oluşabilir (Cooper ve James, 2020).

Akut rejeksiyon vakaları genellikle erken dönemde immünsupresif tedavi ile kontrol altına alınabilir, ancak bazı durumlarda greft kaybına yol açabilir (Ho ve ark., 2021;

Chandra ve Mannon, 2022). Histopatolojik incelemede böbrek tübülünde, interstisyumda ve şiddetli vakalarda allotransplant damarlarında yaygın lenfositik infiltrasyonla karakterizedir (Colvin ve ark., 1997).

Genel olarak, akut redd oranı canlı donör böbrek nakillerinde kadavra donör böbrek nakillerinden daha düşüktür; bunun nedeninin muhtemelen daha az soğuk iskemi süresiyle ilişkili olabileceği düşünülmüştür (Hart ve ark., 2017).

2.4.3. Kronik Rejeksiyon

Kronik allograft nefropati olarak da adlandırılan kronik rejeksiyon, fibrozis, vaskülopati ve kronik inflamasyon ile karakterize olup, greftin uzun vadeli başarısını ciddi şekilde tehdit eder (Joosten ve ark., 2005; Solez ve ark., 2007). Hücresel ve humoral immün yanıtların neden olduğu sürekli veya aralıklı hasar sonucu gelişir (Fresse ve ark., 2001; Sasaki ve ark., 2023).

Özellikle *de novo* DSA'lar, kronik antikor aracılı reddin ana nedenidir (Sasaki ve ark., 2023). İskemi/reperfüzyon hasarı, yaşlı donör yaşı ve hipertansiyon gibi faktörler de kronik redin gelişimine katkıda bulunur (Joosten ve ark., 2005).

Böbrek nakli sonrası komplikasyonlardan bir diğeri, immünsupresyon düzeyine bağlı olarak viral enfeksiyonlardır. İmmünsupresif ilaçlar, vücudun yeni organı reddetmemesi için bağışıklık sistemini baskımlarken aynı zamanda hastayı viral, bakteriyel ve fungal enfeksiyonlara karşı daha savunmasız hale getirir (Sawinski ve Blumberg, 2018). En sık görülen enfeksiyonlar; özellikle sitomegalovirüs (CMV) enfeksiyonlarıdır. Bunların greft kaybı ve mortalite oranlarında artışla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Akansha ve ark., 2022).

Nakil sonrası immünsupresyon tedavisi, akut rejeksiyonu önlemek ve greft hayatta kalma süresini uzatmak için gereklidir. Morbidite ve mortalitedeki iyileşmeler hasta seçimi, cerrahi teknikteki ilerlemeler, perioperatif yönetim ve immünsupresif rejimlere atfedilmiştir (Reyna-Sepúlveda ve ark., 2017). Rejeksiyon, enfeksiyon riskleri ve immünsupresif ilaçların uzun dönem kullanımıyla ilgili araştırmalarda, konvansiyonel immünsupresan tedavi geliştikçe akut rejeksiyonun azalması nedeniyle böbrek greftlerinin 1 yıllık sağ kalım oranlarının yükseldiği gösterilmiştir (Francis ve ark., 2016; Tsai ve ark., 2018).

2.5. Hipoksi-İndüklenebilir Faktör 1 (HIF-1)

Renal interstisyel fibroblastlardaki hematopoetik büyüme hormonu eritropoetinin (EPO), iskemik stres, anemi, doku yaralanmaları ve dejenerasyon gibi koşullar altında kanda oksijen miktarı azalması kana oksijen taşınmasını doğrudan artıran mRNA indüksiyonu gibi eritropoetik etkileri indükler (Bachmann ve ark., 1993; Bhoopalan ve ark., 2020). EPO geninin 3' enhancer bölgesindeki DNA-protein etkileşimleri üzerine yapılan çalışmalar, yalnızca hipoksi durumunda bağlanan hipoksi ile indüklenebilir bir protein kompleksi tanımlanmasının yolunu açmıştır. Semenza ve Wang tarafından bu kompleks hipoksi ile indüklenebilir faktör 1 (HIF-1) olarak adlandırılmıştır (Semenza ve Wang, 1992; Weidemann ve Johnson, 2008; Haase, 2013).

HIF-1, hücrelerin ve dokuların hipoksi altında hücrel oksijen mevcudiyetine fonksiyonel, metabolik ve vasküler adaptasyonu yönlendiren metabolik değişimlerin düzenlenmesinde kritik rol oynayan transkripsiyon faktör ailesidir (Semenza, 2011). HIF-1 ailesinin hipoksik koşullarda hücrelerin yaşamlarını sürdürebilmek için anjiogenez ve eritropoezde görev alan vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), EPO, enerji üretimi destekleyen glukoz taşıyıcı 1 (GLUT1), laktat dehidrogenaz A, p53 dahil olmak üzere sağ kalımı kontrol eden birçok genin transkripsiyonunu indüklediği bilinmektedir (Carmeliet ve ark., 1998; Semenza, 2003; Schmid ve ark., 2004; Kokeza ve ark., 2023).

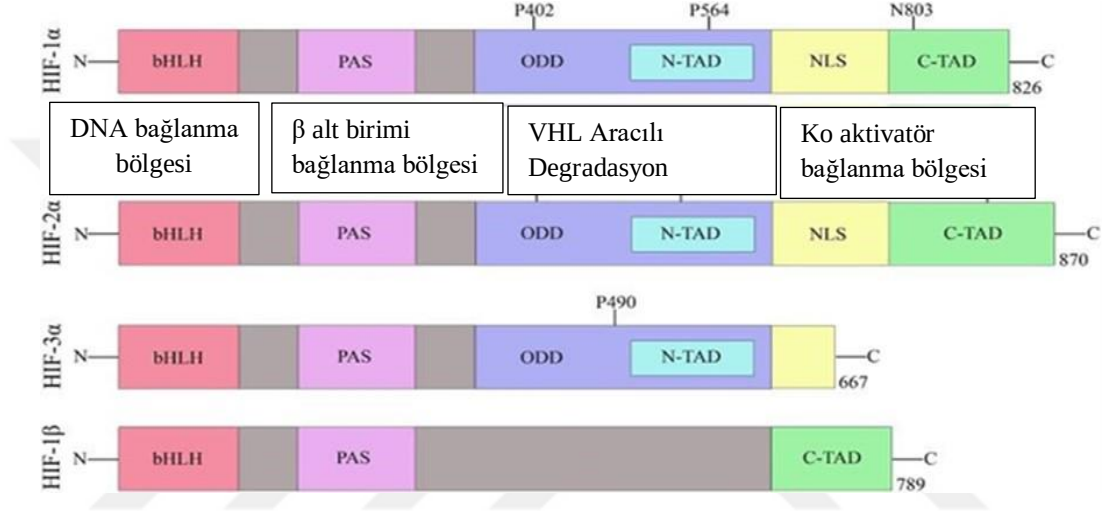
2.5.1. HIF'in Yapısı ve Fonksiyonu

HIF'ler üç üyeli bir ailedir ve O₂ duyarlı α alt birimlerinden (HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α) ve O₂ duyarsız temel bir HIF-1 β alt biriminden oluşan heterodimerlerdir (Prabhakar ve ark., 2012; Toth ve ark., 2017). HIF-1 α , HIF ailesinin en ayrıntılı şekilde incelenmiş izoformudur ve mevcut bilgilerin büyük bir kısmı, bu transkripsiyonel faktörlerin düzenlenmesine ilişkin yapılan araştırmalara dayanmaktadır (Ryan ve ark., 1998; Albadari ve ark., 2019; Yang ve ark., 2021). HIF-1 β , aril hidrokarbon reseptörü nüklear translokatorü (ARNT) olarak adlandırılır ve bu reseptör, aril hidrokarbon reseptörüne bağlanarak hücre çekirdeğine taşınmasını regüle eder (Terzuoli ve ark., 2010).

HIF-1 ve HIF-2 ile karşılaştırıldığında, HIF-3 birden fazla varyanta sahiptir. Bu nedenle işlevlerini aydınlatan daha az sayıda çalışma vardır. Bazı HIF-3 varyantlarının HIF

sisteminin antagonisti olabileceği ve hipoksiye yanıt olarak transkripsiyonel programı aktive ettiğini gösteren çalışmalar vardır (Lee ve ark., 2004; Duan, 2016).

HIF-1 α geni (Gen ID: 3091, OMIM Numarası: 603348) 14q23.2 kromozom bölgesinde bulunan 15 ekzon ve 14 introndan oluşan bir gendir (Şekil 2.3.) (Gregg ve ark.,1997; Beaudry ve ark., 2019).



Şekil 2.3. İnsan HIF Alt Birimlerinin Yapısı.

Beaudry ve ark., 2019 (<https://doi.org/10.3389/fcell.2018.00175>, Erişim Tarihi: 10 Kasım 2014)

HIF-1 α proteini konformasyonel farklılaşmaya uğrayarak sistemik oksijen seviyelerindeki değişikliklere yanıt verir. Transkripsiyonu başlatmak için hipoksiye yanıt veren hedef genlerin enhancer bölgesinde bulunan hipoksiye cevap elementi (HRE) olarak tanımlanan 5'-(A/G) CGTG-3' dizisine bağlanarak hedef genin ifade edilmesini sağlamaktadır (Wang ve ark., 1995; Calapoğlu, 2016).

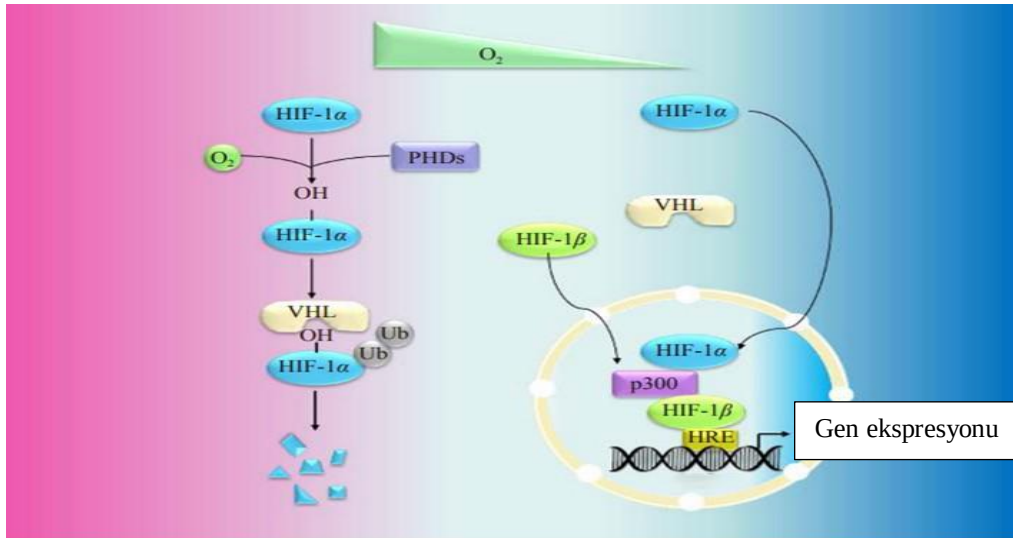
Normal oksijen koşullarında HIF-1 α , prolin hidroksilaz enzimi tarafından hidroksilasyona uğrar ve bu modifikasyon HIF-1 α 'nın Von Hippel-Lindau (VHL) proteini tarafından tanınmasını sağlar. Bu tanıma sonucunda ubiquitin-proteazom sistemi aracılığıyla HIF-1 α ubiquitinasyonlanarak proteazomal degradasyona uğrar ve hücrede birikmez (Jewell ve ark., 2001; Yu ve ark., 2001).

HIF-1 α hidroksilasyonu yalnızca yeterli oksijen varlığında gerçekleşir. Hipoksik şartlar altında hidroksil redüktaz inaktif olur (Schipani ve ark., 2001). HIF-1 α hidroksillenemez

ve bu da proteazom tarafından parçalanmasını engeller. Stabilize HIF-1 α proteini hücre çekirdeğine taşınarak HIF-1 β ile heterodimer oluşturur (Liu ve ark., 2017). Bu heterodimer, p300'e bağlanır ve transkripsiyonel aktivasyon kompleksi oluşturur; bu kompleks HRE-DNA bölgesini tanır ve HIF-1 α hedef genlerinin transkripsiyonunu aktive eder (Şekil 2.4.) (Cramer ve ark., 2003; Cerychova ve Pavlinkova, 2018; Yang ve ark., 2021).

HIF-1 α 'nın düzenlenmesi sadece oksijen seviyelerine bağlı değildir; aynı zamanda oksijen bağımsız mekanizmalarla da kontrol edilir. Hipoksi dışında, HIF-1 α inflamasyon, hücrel stres, asidik koşullar veya yüksek glikoz gibi durumlar altında da aktive olabilir. Bu koşullar, HIF-1 α 'nın çeşitli kofaktörlerle etkileşime girerek konformasyonel değişikliklere uğramasına neden olabilir. Örneğin, IL-1 β , TNF- α gibi pro-inflamatuar sitokinler tarafından modüle edilerek aktive olmasına yol açabilir (Zhao ve ark., 2021; Chen ve ark., 2022).

Oksidatif stres ve reaktif oksijen türleri (ROS) de HIF-1 α 'nın aktivitesini etkileyebilir. ROS'un arttığı durumlarda, HIF-1 α daha stabil hale gelebilir ve hipoksiye benzer bir şekilde aktive olabilir. Bu durum, hücrenin oksijen seviyesinin yanı sıra redoks durumuna da yanıt verdiği anlamına gelir (Li ve ark., 2007).



Şekil 2.4. Von Hippel-Lindau Tümör Baskılayıcı Protein (VHL) Aracılı HIF-1 α Sinyal Yolları

Yang, 2021 ([https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(21\)60051](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(21)60051), Erişim Tarihi: 25 Eylül 2024)

2.5.2. HIF'in Hedef Genleri

Hipoksi altında aktifleşen bu transkripsiyon faktörü, hücrenin oksijen dengesini korumak için pek çok farklı geni uyarır. Araştırmalar bu faktörün on beş kromozomda bulunan yüzün üzerinde genle bağlanma bölgeleri olduğunu göstermiştir (Qutub ve Popel, 2008; Jantsch ve ark., 2011). Bu hedef genler arasında; hipoksik dokuların oksijenlenmesini artırarak dokulara oksijen taşınmasını kolaylaştıran VEGF, hipoksik koşullarda glikozun hücre içine alımını düzenleyerek anaerobik glikolizi destekleyen glikoz taşıyıcı protein 1, hipoksiye cevap olarak dokuların oksijen taşıma kapasitesinin yükselmesi için eritrosit üretimini artıran EPO, hücrel stres yanıtlarını düzenleyen serin/treonin kinazlar (PLK1, PLK3), enerji üretimi sürecinde laktat üretimini artıran laktat dehidrojenaz A genleri bulunmaktadır (Chen ve ark., 2001; Isaacs ve ark., 2002; Weidemann ve Johnson, 2008; Majmundar ve ark., 2010; Semenza, 2014).

2.5.3. HIF'in İmmün Yanıt Üzerindeki Etkisi

HIF'in ekspresyonu ve stabilizasyonu, bağışıklık hücrelerinde yalnızca hipoksiyle değil aynı zamanda inflamasyon, enfeksiyon ve kanser gibi stres kaynaklı durumlarla da uyarılabilir (İmtiyaz ve ark., 2010; Thompson ve ark., 2014). Bu sebeple HIF-1 α , hem doğal hem de adaptif immün sisteminde önemli rol oynar (Cramer ve ark., 2003; Walmsley ve ark., 2005; Jantsch ve ark., 2008; McNamee ve ark., 2013; McGettrick ve ark., 2020). HIF-1 α doğal immün hücrelerinin hipoksiye adaptasyonunu desteklerken T hücrelerinin ise farklılaşma ve sitotoksik aktivitelerini düzenleyerek aktivasyon süreçlerini yönlendirir (Finlay ve ark., 2012; Palazon ve ark., 2014; Cummins ve ark., 2016).

HIF-1 α ; makrofajlar, nötrofiller, dendritik hücreler ve lenfositler gibi hem doğal hem de adaptif bağışıklık hücrelerinde yaygın olarak eksprese edilir (Cramer ve ark., 2003; Walmsley ve ark., 2005; Jantsch ve ark., 2008; McNamee ve ark., 2013). HIF-2 α ise endotelial hücreler (Hu ve ark., 2003) ve belirli bağışıklık hücrelerinde, özellikle tümörle ilişkili makrofajlar (Talks ve ark., 2000; İmtiyaz ve ark., 2010) ve hipoksiye yanıt olarak CD8⁺ T hücrelerinde eksprese edilir (Doedens ve ark., 2013).

Makrofajlar ve nötrofiller gibi doğal bağışıklık hücreleri, enfeksiyon bölgesinde oluşan hipoksik mikroçevrede hayatta kalabilmek ve etkinliklerini sürdürebilmek için HIF-1 α 'ya

bağımlıdır (Staples ve ark., 2011). HIF-1 α , bu hücrelerin glikolitik metabolizmalarını artırarak enerji üretim süreçlerini hipoksi koşullarına uygun hale getirir. Ayrıca HIF-1 α nötrofillerin bakterileri öldürme yeteneklerini artırırken makrofajlarda proinflamatuvar yanıtı güçlendirir (Cramer ve ark., 2003). Bu süreçte HIF-1 α , makrofajların indüklenabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) üretimini artırarak enfeksiyon bölgesinde nitrik oksit (NO) salınımını teşvik eder ve patojenlerin temizlenmesine katkıda bulunur (Grajier ve ark., 2005).

Antijen sunumu yoluyla adaptif immün yanıtı başlatan önemli hücrelerden biri dendritik hücrelerdir. Hipoksik koşullar altında HIF-1 α , dendritik hücrelerin olgunlaşmasını ve proinflamatuvar sitokin üretimini artırır. Bu süreç özellikle inflamatuvar yanıtın güçlenmesine ve T hücrelerinin aktivasyonunun hızlanmasına katkıda bulunur (Bosco ve ark., 2008; Elia ve ark., 2008; Flück ve ark., 2016). HIF-1, dendritik hücrelerde IL-1, IL-6 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimini teşvik ederek immün yanıtın güçlenmesine neden olur (Jantsch ve ark., 2008).

HIF-1 α , NK hücrelerin işlevleri üzerinde de önemli bir etkiye sahiptir. Hipoksi altında NK hücrelerinin sitotoksik aktivitesini azaltarak, immün yanıtın dengesini bozabilir. Bu durum hipoksik tümör mikroçevresinde tümör hücrelerinin NK hücreleri tarafından ortadan kaldırılmasını zorlaştırabilir (Victorino ve ark., 2021).

HIF-1 α , hipoksi koşullarında inflamatuvar yanıtı güçlendirebilir; ancak, kanser biyolojisinde anjiyogenez, hücre hayatta kalma, glikoz metabolizması ve invazyon gibi kritik süreçlerin düzenlenmesinde de önemli bir rol oynar (Holmquist-Mengelbier ve ark., 2006; Warnecke ve ark., 2008). HIF-1 α 'nın aşırı ekspresyonu, metastaz ve kötü prognoz ile ilişkilidir (Keith ve ark., 2011; Masoud ve Li, 2015; Jun ve ark., 2017).

HIF-1 α , tümör mikroçevresinde immün yanıtı düzenleyerek kanser hücrelerinin hayatta kalmasını ve çoğalmasını destekler. Bu mekanizma, tümör hücrelerinin tanınmasını ve ortadan kaldırılmasını edilmesini engelleyen immün kontrol noktası moleküllerinin (örneğin PD-L1) ve VEGF gibi immünsupresif faktörlerin ekspresyonunu artırarak gerçekleşir. Böylece tümör hücrelerinin immün sistemden kaçmasına yardımcı olur (You ve ark., 2020; Shurin ve Umansky, 2022). Bu nedenle HIF-1, immün yanıtın

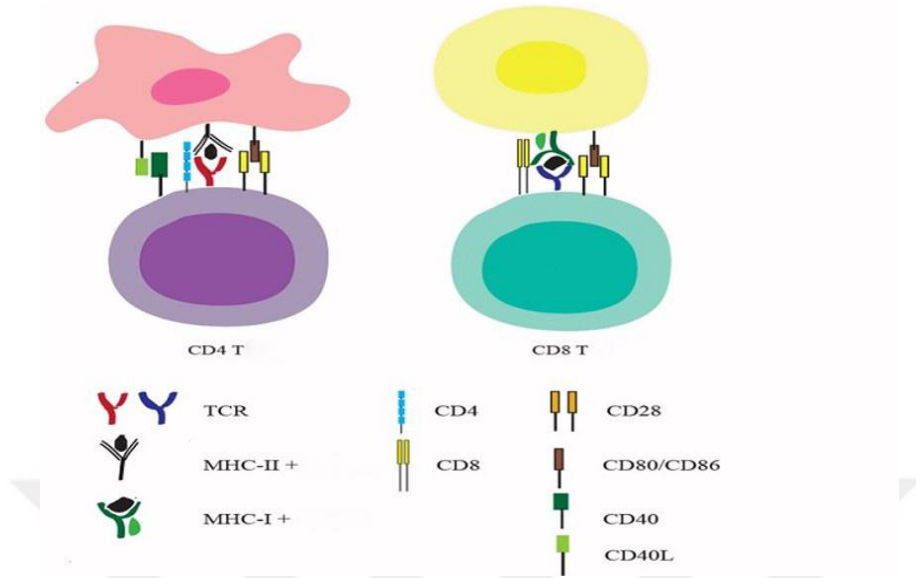
düzenlenmesinde iki yönlü bir rol oynayarak hem inflamasyonu artırabilir hem de bağışıklık tepkilerini baskılayabilir (Palazon ve ark., 2014).

Kapsamlı araştırmalarla, HIF'in hipoksi ve bağışıklık yanıtlarındaki önemi nedeniyle, sepsis, inflamatuvar bağırsak hastalığı, romatoid artrit ve kanser dahil olmak üzere birçok farklı bağışıklık aracılı hastalıkta önemli rol oynadığı açıktır (Taylor ve ark., 2022; Faivre ve Seigneux, 2024). HIF-1 α 'nın hem hipoksik hem de normoksik koşullarda T hücre alt gruplarının farklılaşmasını ve işlevini etkilediği gösterilmiştir. Shi ve arkadaşları, Th1, Th2, Th17 ve Treg gibi farklılaşan yardımcı T hücrelerde farklı glikolitik aktivite göstermişlerdir (Shi ve ark., 2011). HIF-1 α , bu glikolitik değişikliklerin düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Michalek ve ark., 2011). Otoimmün nöroinflamasyonlu bir fare modelinde, HIF-1 α gen ifadesi silindiğinde, Th17 hücre gelişiminin azalmasına ve Treg farklılaşmasının artmasına neden olarak koruyucu bir fenotipe yol açmıştır (Shi ve ark., 2011). Multiple skleroz'un Th17 aracılı bir modeli olan otoimmün ensefalomyelitli bir fare modelinde, T hücrelerine özgü HIF-1 α 'nın nakavt edilmesi, Treg hücrelerinde önemli bir artışa, Th17 gelişiminde bir azalmaya neden olarak farelerin otoimmün nöroinflamasyondan korunmasını sağlamıştır (Dang ve ark., 2011).

Bu mekanizmaların daha iyi anlaşılması, HIF-1'i hedef alan terapilerin geliştirilmesine ve hipoksi ile ilişkili immün bozuklukların tedavisinde yeni yaklaşımlar sunulmasına olanak sağlayabilir.

2.6. T Hücre Aktivasyonu

T hücreleri adaptif bağışıklık sisteminin merkezinde yer alarak, patojenlere karşı spesifik yanıtlarının başlatılmasında kritik rol oynarlar (Annunziato ve ark., 2015). T hücre aktivasyonu ASH'leri ile doğrudan etkileşim sonucunda başlatılan bir süreçtir. Bu aktivasyon T hücrelerinin proliferasyon, sitokin üretimini ve efektör fonksiyon kazanmasını sağlar (Şekil 2.5.) (Ahmed ve Nandi, 2011).



Şekil 2.5. T Hücre Aktivasyonu için Gerekli Birincil ve İkincil Sinyaller

Ahmed ve Nandi, 2011 (<https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7725>, Erişim Tarihi: 25 Eylül 2024)

T hücre aktivasyonu, yüzey reseptörleri aracılığıyla başlatılan sinyal yolları aracılığıyla gerçekleşir (Rohrs ve ark., 2019). T hücre aktivasyonunun TCR sinyali (ilk sinyal), kostimülasyon sinyali ve sitokin sinyali olmak üzere üç ana sinyal yolağı vardır. Timusta üretilen T hücreleri belirli bir antijene özgü olacak şekilde programlanır. Timustan ayrıldıktan sonra ASH' ler yüzeyindeki antijenlerini tanıyana kadar vücutta dolaşırlar. T hücre reseptörleri aracılığıyla ASH' ler üzerindeki MHC molekülleriyle etkileşime girer. MHC sınıf I molekülleri CD8⁺ sitotoksik T hücreleri tarafından, MHC sınıf II molekülleri ise CD4⁺ yardımcı T hücreleri tarafından tanınır. Bu T hücrelerinin ilk aktivasyonunu tetikler (Cantrell, 2002; Malissen ve ark., 2014).

T hücre aktivasyonu yalnızca TCR-MHC etkileşimleriyle sınırlı değildir. İkincil sinyale ihtiyaç duyar. Bu ko-stimülatör moleküller (örneğin CD28 veya CD4) ve inhibe edici sinyaller (örneğin CTLA-4 ve PD-1) aktivasyon sürecinin modülasyonunda rol oynar. CD28 aktivasyonunun devam etmesi için gerekli iken, PD-1 ve CTLA-4 gibi bağışıklık kontrol noktaları immün yanıtı baskılanmasında görev alarak, ortak uyarıcı yolları fizyolojik olarak dengeler (Cantrell, 1996; Brownlie ve Zamoyska, 2013; Gibney ve ark., 2016).

Aktivasyon sırasında TCR sinyal yolu aracılığıyla bir dizi kinaz ve adaptör protein aktive olur (Hwang ve ark., 2020). Bu aktivasyon üçüncü sinyal olarak görev alır. TCR'nin ligasyonunu takiben Src ailesi protein tirozin kinaz ailesinden lenfosit protein tirozin kinaz (Lck) tarafından TCR/CD3 kompleksinin sitozolik tarafındaki immünoresptör tirozin bazlı aktivasyon motiflerinin (ITAM) fosforilasyonu ile sinyal transdüksiyonunu başlatılır (Irving, 1991; Love, 2010; Stepane ve ark., 2014). Bu fosforilasyon adaptör proteinler aktive edilmiş t hücrelerinin bağlayıcısı (LAT) ve 76 kda'lık sh2 alanı içeren lökosit protein (SLP-76) dahil olmak üzere çeşitli hedef proteinleri aktive eden başka bir tirozin kinaz olan 70 kda'lık ζ zinciriyle ilişkili protein kinaz (ZAP-70)'in aktivasyonunu teşvik eder. LAT ve SLP-76'nın fosforilasyonu, fosfolipaz $\gamma 1$ 'in (PLC $\gamma 1$) tirozin fosforilasyonu yoluyla aktivasyonunu kolaylaştırır (Smith-Garvin ve ark., 2009; Mukhopadhyay ve ark., 2016).

Bu sinyaller hücre içi Ca^{+2} seviyelerinde artışa ve aktive T hücrelerinin nükleer faktörü (NFAT), nükleer faktör kappa b (NF- κ B) ve aktivatör protein 1 (AP-1) gibi transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna yol açar (Imboden ve Stobo, 1985). Bu transkripsiyon faktörleri ise T hücrelerin proliferasyonunu ve efektör fonksiyonlarını düzenleyen genlerin ekspresyonunu kontrol eder (Walling ve Kim, 2018; Hwang ve ark., 2020).

Benzer şekilde naif B hücrelerinin, aktivasyonu da spesifik bir antijenle karşılaşmaları sonucunda başlar. B hücreleri antijeni tanıyabilir ancak antikor sekresyonu yapamazlar. Antikor sekresyonu için önce aktive olmaları gereklidir (Abbas ve ark., 2012). Bu hücrelerin aktivasyonu spesifik bir antijenle karşılaşmaları sonucunda başlar. (Mesquita Júnior ve ark., 2010). B hücreleri antijenle karşılaştığında bu antijeni BCR aracılığıyla tanır. Ancak bu tanıma tek başına yeterli değildir. B hücrelerinin tam aktivasyonu için yardımcı T hücrelerinin (CD4⁺ T hücreleri) yardımı gereklidir. Bu aşamada iki ana sinyal devreye girer (Delves ve Roitt, 2000). İlk sinyal olarak B hücresinin yüzeyinde sunulan MHC II-antijen kompleksi yardımcı T hücresinin yüzeyindeki TCR tarafından tanınmasıyla oluşur. Bu tanıma spesifik TCR ve antijen arasında güçlü bir etkileşim gerektirir. Yardımcı T hücresinin aktive olabilmesi için bu MHC II-TCR etkileşimi şarttır (Tanaka ve Baba, 2020). İlk sinyal yardımcı T hücrelerini tamamen aktive etmek için yeterli değildir. Tam aktivasyon için bir ikinci sinyal (Ko-stimülasyon sinyal) gereklidir ve bu

sinyal CD40-CD40L etkileşimi ile sağlanır. Yardımcı T hücresinin yüzeyinde bulunan CD40 Ligandı B hücresinin yüzeyindeki CD40 ile bağlandığında, bu etkileşim B hücresine ko-stimülasyon sinyali gönderir ve B hücresi aktive olur (Pierce, 2009).

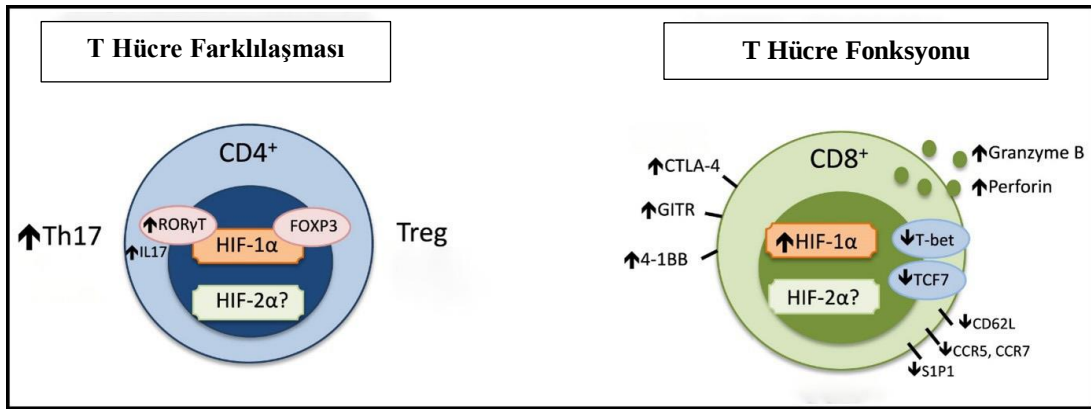
Yardımcı T hücrelerinin aktivasyonu sonrasında B hücresinin tam olarak aktive olmasını sağlayan bir dizi sitokin salgılanır. Yardımcı T hücrelerinden salınan sitokinler (IL-4 IL-5 IL-6 IL-21 gibi) B hücrelerinin çoğalmasını ve plazma hücrelerine farklılaşmasını teşvik eder. Ayrıca B hücrelerinin antikor üretme kapasitesini artırır ve hafıza B hücresi gelişimini destekler (Vazquez ve ark., 2015).

2.6.1. T Lenfosit Aktivasyonu ve HIF-1 α 'nın Rolü

T hücresinin fonksiyonel efektör ve inhibitör alt kümelere farklılaşması antijen tanıma sırasında mevcut olan sitokin ortamı tarafından düzenlenir (Santana ve ark., 2006). Son yıllarda yapılan çalışmalar, HIF-1 α 'nın hem hipoksik hem de normoksik koşullarda farklı T hücre alt gruplarının farklılaşmasını ve işlevini etkilediği gösterilmiştir (Şekil 2.6.) (Palazon ve ark., 2014; Liao ve ark., 2022). T hücrelerinde HIF-1 α ekspresyonu, TCR ile tetiklenen ve fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) aracılı yollar dahil olmak üzere hem hipoksik hem de hipoksik olmayan uyarılarla indüklenebilir (Lukashev ve ark., 2006; Palazon ve ark., 2014).

HIF-1 α T hücre alt gruplarından biri olan sitotoksik T hücrelerinde TCR uyarımına bağlı olarak glikolizin artması için gereklidir (Doedens ve ark., 2013; Palazon ve ark., 2014). CD8⁺ T hücreleri CD3/CD28 ile aktive edildiğinde, HIF-1 α mRNA ve protein düzeyleri artar ve bu artış mTOR tarafından kontrol edilir (Finlay ve ark., 2012). Bu süreç efektör ve bellek CD8⁺ T hücrelerinin farklılaşmasında görev alan birçok faktörün üretimini destekler (Doedens ve ark., 2013). Palazon ve arkadaşları, HIF-1 α eksik CD8⁺ T hücrelerinde, TCR uyarımı sonrasında glikolitik enzimler ile birlikte interferon gama (IFN γ) ve TNF- α gibi efektör sitokinlerin üretiminde azalma gösterdiğini tespit etmişlerdir (Palazon ve ark., 2017). VHL'nin silinmesi CD8⁺ T hücrelerinde HIF-1 α ve HIF-2 α seviyelerini yükseltir. Bu durum kronik enfeksiyon sırasında artan efektör işlevine, dolayısıyla ciddi hiperinflamasyon riskine neden olur (Doedens ve ark., 2013).

Önemli bir metabolik sensör olarak HIF-1 α 'nın regülatör T hücresi (Treg) ve Th17 farklılaşması arasındaki dengeyi düzenlediğini gösterilmiştir (Dang ve ark., 2011). Normoksik koşullarda HIF-1 α , Th1, Th17 ve CD8⁺ efektör T hücrelerinin farklılaşmasında kritik bir rol üstlenirken, Treg hücrelerini baskılar. HIF-1 α tarafından glikoliz indüksiyonu gerçekleştirilmesi bu süreçte önemli bir faktördür (Clever ve ark., 2013). Th17 farklılaşmasında görev alan sitokinlerden IL-6 tarafından STAT3 aktivasyonu, transkripsiyonel olarak HIF-1 α 'yı aktive eder. HIF-1, RAR ile ilişkili yetim reseptör gama (ROR γ t)'nin transkripsiyonel aktivasyonu yoluyla Th17 farklılaşmasında doğrudan bir rol oynar. ROR γ t daha sonra IL-17 promotörü üzerinde HIF-1 α , p300i ve STAT3 ile bir kompleks oluşturabilir ve Th 17 ekspresyonunu artırabilir. Ayrıca eş zamanlı olarak HIF-1 α , Foxp3'e bağlanarak ve proteazomal yıkımını sağlayarak, Treg hücre gelişimini zayıflatır. En önemlisi bu düzenleme hem normoksik hem de hipoksik koşullar altında gerçekleşir (Nakamura ve ark., 2005; Dang ve ark., 2011; Shi ve ark., 2011; Ikejiri ve ark., 2012). Ayrıca HIF-1, T hücrelerinin glikolitik metabolizmasını artırarak T hücrelerinde aktivasyon süreçleri için gerekli enerji ihtiyacını karşılamalarına yardımcı olur (Michalek ve ark., 2011). Bununla birlikte HIF-1 α 'nın T hücrelerinin farklılaşma ve aktivasyonundaki rolü karmaşık olup, uyaranlar ve çevresel faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterebilir (Shi ve ark., 2011).



Şekil 2.6. T Hücre Farklılaşmasında ve Fonksiyonunda HIF-1 α stabilizasyonu

Palazon ve ark., 2014 (<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.09.008>, Erişim tarihi 25 Eylül 2024)

2.6.2. Nakil Bekleyen Kronik Böbrek Hastalarında T Hücre Aktivasyonunda HIF-1 α 'nın Rolü

Böbrekler oksijen dengesi bozulmalarına karşı hassastır (Welch, 2006; Miguel ve Rojo, 2023). Anemi, hipertansiyon, hava kirliliği, hiperglisemi, sigara kullanımı, ateroskleroz ve akut böbrek yaralanmaları gibi birçok bireysel ve çevresel risk faktörü oksijen iletimini azaltarak ve böbrek hipoksisini teşvik edebilir. Bu durum böbrekleri patolojik bir hipoksi durumuna götürebilir (Mayer, 2011).

Kronik hipoksi KBH'ları için ortak bir patolojik durum olarak kabul edilmiştir. Özellikle böbrek iskemi/reperfüzyon hasarının patogenezinde önemli bir faktör olarak kabul edilmektedir (Dragun ve ark., 2000; Legrand ve ark., 2008; Wang ve ark., 2022). Yapılan çalışmalarda özellikle HIF-1 α olmak üzere HIF'in çeşitli patolojik durumlarda böbrek fibrozunun temel düzenleyicisi olduğu vurgulanmıştır (Higgins ve ark., 2007; Kapitsinou ve ark., 2010; Fang ve ark., 2012; Liu ve ark., 2017; Schaub ve ark., 2020). HIF-1 α doğrudan fibrojenik faktörlerin transkripsiyonunu aktive etmenin yanı sıra, TGF- β , Notch, NF- κ B ve PI3K/Akt yolları gibi birden fazla profibrotik sinyal yolu ile etkileşime girerek böbrek fibrozunu etkiler (Higgins ve ark., 2004; Hanna ve ark., 2013; Luo ve ark., 2015). Ancak HIF'in profibrotik mi yoksa antifibrotik mi olduğu hala tartışmalıdır. Kapitsinou ve ark., akut böbrek hasarından kaynaklanan KBH önlenmesinde, HIF'in stabilizasyonunu artırmak için farmakolojik inhibitörle PHD'yi inhibe etmişlerdir. Çalışma sonucunda farelerde akut böbrek hasarı kaynaklı fibrozun iyileştiğini gözlemlemişlerdir (Kapitsinou ve ark., 2012). Bu çalışmayı destekler şekilde Kobayashi ve ark., tek taraflı üreter obstrüksiyona maruz kalan farelerde HIF'in aktivasyonunun, fibrogenezi baskıladığını göstermişlerdir (Kobayashi ve ark., 2012).

Hipoksinin akut böbrek hasarında, özellikle renal iskemi/reperfüzyon hasarının patogenezinde oksidatif stres, hücrel apoptoz ve inflamasyon gibi mekanizmalar aracılığıyla doku hasarına yol açtığı bilinmektedir (Guo ve ark., 2019; Li ve ark., 2021). Bununla birlikte giderek artan sayıdaki çalışmalarda kronik hipoksinin anemi, kalp damar hastalıkları ve sarkopeni gibi KBH ile ilişkili komplikasyonlarda da önemli bir rol oynadığını gösterilmiştir. (Fine ve ark., 2000; Hung ve ark., 2013; Liu ve ark., 2022; Cirillo ve ark., 2022). Bu süreçler HIF-1 α ekspresyonunu hedef alan tedavi stratejilerinin

kronik böbrek hastalığının tedavisinde potansiyel bir yaklaşım olarak değerlendirilmesine olanak sağlamıştır (Tung-Min ve ark., 2013; Pergola ve ark., 2016; Bessho ve ark., 2019; Zhao ve ark., 2021).

Bazı çalışmalarda ise HIF aktivasyonunun böbrek iltihaplanması ve yaralanması üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olduğunu ortaya koyulmuştur (Shen ve ark., 2020). Böbrek hücrelerinin enerji dengesini sağlanması ve hücre metabolizmasını düzenlenmesinde özellikle HIF yolağı önemli bir rol oynar (Andris ve Leo, 2015). Yapılan çalışmalarla, çeşitli mekanizmalarla artan HIF-1 α 'nın, glikoz metabolizmasından glikolize geçişte yer alan hedef genlerinin ekspresyonunu artırarak, ROS'ları temizleyerek ve hücre sağ kalımını düzenleyerek kısmen koruyucu bir rol oynadığına inanılmaktadır (Zhang ve ark., 2016). Hipoksi tarafından aktive edildikten sonra renal HIF yolu, VEGF, glikoz taşıyıcıları, eritropoietin ve endotelin 1 gen ekspresyonunu düzenleyerek anjiyogenezi, enerji metabolizmasını ve eritropoezi iyileştirebilir (Warnece ve ark., 2004; Moore ve Bellomo, 2011; Taylor ve Scholz, 2022).

KBH etiolojisinde en güçlü nedenlerden biri diyabetik nefropatidir. SDBY'nin önde gelen nedenlerinden biridir (Pyram ve ark., 2011). 2020 yılında yapılan bir çalışmada diyabetik nefropatide tübüler hücrelerde HIF-1 α aktivasyonunun böbrek hasarına karşı önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir. HIF-1 α 'nın heme oksijenaz-1 (HO-1) yoluyla mitokondri dinamiklerini düzenlediği bu sayede mitokondriyal stres ve hücre hasarını hafiflettiği ortaya koyulmuştur. Özellikle HO-1'in mitokondriyal otofajiyi (mitofaji) artırarak yüksek glukoz ortamında tübüler hücrelerde oluşan hasarı önlediği belirtilmiştir. Ancak kesin mekanizmalar tam olarak anlaşılmamıştır (Jiang ve ark., 2020).

Hipoksi ile HIF yolağının aktivasyonu, böbrek ve bağışıklık hücrelerinin metabolizmasında yer alan genlerin ifadesini değiştirerek işlevlerini bozabilir (Basso ve ark., 2021). Son araştırmalar fizyolojik hipoksi veya inflamasyona yanıt olarak bağışıklık sistemi hücreleri tarafından HIF ekspresyonunun önemini vurgulamaktadır. Çalışmalarda HIF'lerin aktivasyonunun doğal ve adaptif bağışıklık hücrelerinin aktivasyonunu, işlevlerini ve hücre metabolizmasını kontrol etmede merkezi bir rol oynadığı gösterilmiştir (Taylor ve Scholz, 2022).

HIF-1 α ekspresyonu nötrofillerde yalnızca hayatta kalmayı teşvik etmekle kalmaz aynı zamanda fagositik kapasitenin artışıyla ve glikolitik metabolik yolağın tercih edilmesiyle ilişkilidir. Dendritik hücrelerde ise HIF-1 α aktivasyonu bu hücrelerin göç etme yeteneği ve T hücrelerini aktive etme kapasiteleriyle bağlantılıdır (Jantsch ve ark., 2008). Makrofajlarda HIF-1 α ekspresyonunun yol açtığı glikolitik yol aktivasyonu proinflamatuvar M1 hücre tipi ile ilişkilendirilmiştir. Bu durum sitokin üretimini destekleyerek bu hücrelerin fagositik kapasitesini artırır (Ortiz-Masià ve ark., 2012; Wang ve ark., 2017).

HIF -1 α ayrıca T ve B hücrelerinin gelişimi, işlevi ve antijenik bir uyarı karşısında antikor üretilmesi için gerekli bir çok süreçte rol oynamaktadır (Abbott ve ark., 2016; Cho ve ark., 2016). Cho ve ark., HIF ekspresyonunun germinal merkez B hücrelerinin glikolitik metabolizmasını artırdığını, antikor üretimini, çoğalma kapasitesini ve apoptozu etkilediğini göstermiştir (Cho ve ark., 2016). Bu bulguyla uyumlu olarak başka bir grup VHL'nin inhibisyonu antijene spesifik B hücrelerinde azalmaya yol açtığını ve yüksek afiniteli antikorların üretimini bozduğunu gözlemlemiştir (Abbott ve ark., 2016).

CD4⁺ T hücrelerinin alt tiplerine farklılaşması ve aktivasyonu ile CD8⁺ T hücrelerinin sitotoksik kapasitesinin artırılması, HIF-1 α bağlı glikolitik yolun indüksiyonuyla ilişkilendirilmiştir (McGettrick ve O'Neill, 2020). HIF yolağı, CD8⁺ T hücrelerinin fonksiyonları için kritik bir rol oynar. Bu süreçte transkripsiyon faktörlerinin yanı sıra efektör ve kostimülatör-inhibitör moleküllerin ekspresyonunu destekler. Çalışmalarda VHL'nin inhibisyonun, kronik enfeksiyon sırasında CD8⁺ T hücrelerinde daha yüksek efektör fonksiyonuyla ve buna bağlı olarak hiperinflamasyonla sonuçlandığı gösterilmiştir (Doedens ve ark.,2013; Lim ve ark., 2015).

HIF-1 α CD4⁺ T hücrelerinin alt gruplarında IL-17 promotörüne bağlanarak, gen ekspresyonunu artırır. Bu durum Th17 fonksiyonuna katkıda bulunurken Treg'lerin majör transkripsiyon faktörü olan Foxp3'ü proteazomal degradasyona yönlendirebilir (Harris ve ark., 2007; Dang ve ark., 2011). Shehade ve ark., hipoksik koşullar altında daha fazla sayıda IL-17 üreten hücreye sahip olduğunu, buna karşın Foxp3⁺ Treg yüzdesinin önemli ölçüde azaldığını göstermişlerdir (Shehade ve ark., 2015; Peng ve ark., 2016; McGettrick ve O'Neil, 2020).

Günümüzde HIF-1 α 'nın yalnızca kronik böbrek hastalığının patolojisinde değil, aynı zamanda inflamasyon gibi süreçlerde de aktive olduğuna dair bulgular bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar HIF-1 α 'nın KBH'da inflamatuvar sinyallerle aktive olarak inflamatuvar yanıtı güçlendirebileceğini desteklemektedir (Pritchett ve ark., 2015; Taylor ve ark., 2022; Liu ve ak., 2022; Faivre ve Seigneux, 2024). PRA pozitif KBH'da artan alloreaktivite nedeniyle T hücrelerinde HIF-1 α ekspresyonunun artması, T hücrelerinin inflamatuvar yanıtlarını patolojik hale getirerek hem böbrek hasarını hem de bağışıklık yanıtını şiddetlendirebilir. Bu bağlamda, nakil bekleyen PRA pozitif KBH'larda HIF-1 α 'nın inflamatuvar yanıtındaki merkezi rolünü araştırmak için güçlü bir gerekçe sunmaktadır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Hasta ve Kontrol Grubunun Belirlenmesi

Hasta Grubu:

Kronik Böbrek Hastalığı tanısı alan Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Organ Nakli Merkezi'ne Mart 2022 ile Temmuz 2022 tarihleri arasında böbrek nakli için başvuran erişkin 36 birey dâhil edilmiştir. Nakil öncesi PRA tarama ve tanımlama değerleri LUMINEX yöntemiyle tespit edilen hastalar, PRA testi sonucuna göre 2 ayrı gruba ayrılmıştır.

- PRA Pozitif KBH Grubu: Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Organ Nakli Merkezi'ne canlı ya da kadavra donörden böbrek nakli için başvuran, PRA yüzdesi %25 ve üzeri olan KBH tanılı 20 birey (yaş ort: 42,4±11,27 yıl) dâhil edilmiştir. Bu grup kendi içerisinde HLA Class I pozitif (5 birey), Class II (5 birey), HLA Class I & Class II (her ikisi de pozitif) olarak alt gruplara ayrılmıştır.
- PRA Negatif KBH Grubu: Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Organ Nakli Merkezi'ne canlı ya da kadavra donörden böbrek nakli için başvuran PRA tarama testi negatif olan (yaş ort: 44,31±11,18 yıl) KBH tanılı 16 birey dâhil edilmiştir.

Kontrol Grubu: Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Organ Nakli Merkezi'ne gelerek klinik olarak nakil öncesi rutin kontrollerden geçirilen 18 yaş ve üzeri erişkin (yaş ort: 47,5±9,34 yıl) 20 böbrek nakli donör adayı dâhil edilmiştir.

Çalışmaya katılan gönüllü hasta ve kontrol grubundan aydınlatılmış onam formu alınmıştır. Aynı zamanda böyle bir çalışma dizaynı ile hali hazırdaki tanı ve tedavi amaçlı alınan periferik kan numuneleri kullanılacağı için periferik kan hücrelerinin toplanması aşamasında çalışmamız için hastalar maduriyet yaşamamıştır.

3.2. Etik Kurul Onayı

Bu çalışmaya, Akdeniz Üniversitesi Organ Nakli Merkezine canlı ya da kadavra donör adayından böbrek transplantasyonu için başvuran KBH'ları ve sağlıklı donör adayları dâhil edilmiştir. Tüm hasta ve kontrol olguları araştırmanın amacı, özellikleri ve yöntemi

konusunda bilgilendirilip sözlü ve yazılı onayları alınmıştır. Çalışma protokolü Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 10.03.2021 tarih ve 70904504/171 sayılı kurul toplantısı gereğince kabul edilmiştir. Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimi tarafından TDK-2021-5782 proje numarası ile kabul edilerek çalışmadaki tüm finansal giderler BAP tarafından karşılanmıştır.

3.3. Numunelerin Alımı ve Hazırlanması

Çalışmaya katılan hasta ve kontrol olgularından kan örnekleri; kolun uygun bir bölgesindeki damara intravenöz olarak girişten sonra yaklaşık 10 ml olacak şekilde tek kullanımlık 10 ml'lik plastik enjektör ile bir adet 0.5 M EDTA içeren K3 EDTA'lı steril tüpe alındı. Alınan kan örnekleri Akdeniz Üniversitesi Doku Tipleme laboratuvarı ortamına getirildi.

Projemizde çalıştığımız yöntemler Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Doku Tipleme Laboratuvarında ve Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Özel bir firma ile çalışmaların teyidi için iş birliği yapılmıştır.

3.4. Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Optimizasyon Çalışmaları

Periferik venöz kan örneklerinden total RNA kalıbı kullanılarak random hexamer primerleri aracılığıyla cDNA sentezlendi. Hedef HIF-1 α genine özgü primerler tasarlanarak bu genlerin mRNA ifadesi belirlendi. Tablo 3.3.'de verilen cDNA kalıbı ve primerler varlığında prop içeren polimeraz enzimi kullanılarak kantitatif PZR gerçekleştirildi.

3.4.1. Periferik Kandan RNA İzolasyonu

GeneJET purification Kits (Thermo Scientific Lot:01125956, Lithuania) ile hastaların periferik kan örneklerinden RNA izolasyonu aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi.

1. EDTA' lı tüpe 5 ml periferik kan örneği alındı.
2. 500 μ L tam kan örneği ependorfa alınarak 4°C'de 5 dakika boyunca 400 g'de santrifüjlendi.

3. Santrifüj sonrası plazma bir pipetle ayrılarak uzaklaştırıldı.
4. Plazmadan ayrılan hücrelere, 20 µL (14.3 M) β-mercaptoethanol eklenen 600 µL lizis buffer eklenerek vortexlendi.
5. %96'lık etanolden 450 µL eklenerek pipetaj yapıldı.
6. GeneJET RNA Purification Column'a 700 µL örnek alınıp, 1200 g'de 1 dakika santrifüj edildi ve toplama tüpü uzaklaştırılarak kalan hacim için bu işlem tekrarlandı.
7. GeneJET RNA Purification Column'a 700 µL Yıkama Tamponu 1 eklendi ve 12000 g'de 1 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası sıvı kısmı içeren toplama tüpü uzaklaştırıldı ve filtreli kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.
8. GeneJET RNA Purification Column'a 600 µL Yıkama Tamponu 2 eklendi ve 12000 g'de 1 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası sıvı kısmı içeren toplama tüpü uzaklaştırıldı ve filtreli kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.
9. GeneJET RNA Purification Column'a 2500 µL Yıkama Tamponu 2 eklendi ve 12000 g'de 2 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası sıvı kısmı içeren toplama tüpü uzaklaştırıldı ve filtreli kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.
10. GeneJET RNA Purification Column'a membrane merkezine 50 µL nükleaz free su, eklendi ve RNA'yı elüe etmek için 12000 g'de 1 dakika santrifüjlendi.
11. GeneJET RNA Purification Column atılarak, toplama tüpüne ayrılan saflaştırılan ürün, kalitesi ve miktarı nanodrop spektrofotometre ile ölçüldü. 260/280 nm dalga boyunda elde edilen ve miktarı belirlenip saflık oranı 1,8 civarı olan RNA örneği cDNA örneği sentez işlemi için kullanılabilecek kadar -20°C'de kısa süreliğine saklandı (Chomczynski ve Sacchi, 1987; Boom, 1990).

3.4.2. cDNA Sentezi

RNA izolasyonu sonrasında cDNA sentezi aşamasına geçilmiştir. Tüm RNA örnekleri 100 ng/µL olacak şekilde ayarlandı. Sentez için cDNA Synthesis Kit with Rnase Inh.

(High Capacity, A.B.T.TM) kiti kullanıldı. cDNA sentezi için kullanılan mastermix bilgileri aşağıdaki tabloda belirtilmiştir (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. cDNA Sentezi Master Mix Bilgileri

Bileşen	Hacim
10X Reaksiyon Bufferı	2 µl
20X dNTP mix	1 µl
Random hexamer	2 µl
RTase	1 µl
RNase inhibitörü	0.5 µl
RNase free su	3.5 µl
Örnek	10 µl
Total	20 µl

cDNA sentezi için mastermix hazırlandıktan sonra reverse transkripsiyon reaksiyonuna geçilmiştir. Bu işlem ProFlex Thermal-Cycler cihazında gerçekleşmiştir. cDNA sentezi için kullanılan reverse transkripsiyon reaksiyonunun koşulları aşağıdaki tabloda belirtilmiştir (Tablo 3.2). Elde edilen cDNA örnekleri gerçek zamanlı PZR aşamasına kadar -20°C sıcaklıkta donduruldu.

Tablo 3.2. cDNA Sentez Reaksiyon Koşulları

cDNA Sentez Reaksiyonu Koşulları				
	Step 1	Step 2	Step 3	Step 4
Sıcaklık (°C)	25	37	85	4
Süre	10 dk.	120 dk.	5 dk.	-

3.4.3. Gerçek Zamanlı Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu

cDNA elde edildikten sonra gerçek zamanlı kantitatif PZR aşamasına geçilmiştir. Gerçek zamanlı kantitatif PZR için 2X SYBR GREEN Mastermix (A.B.T.TM) kiti kullanıldı. Ekspresyon analizi için kullanılan primer bilgileri Tablo 3.3’ de belirtilmiştir.

Tablo 3.3. Gerçek Zamanlı Kantitatif PZR’ de Kullanılan Primerler

Primer Adı	Primer Dizisi	Referans
HIF-1α -F	ATCCATGTGACCATGAGGAAATG	Malinovskaya ve ark., 2019
HIF-1α -R	TCGGCTAGTTAGGGTACACTTC	
ACTB-F	ACTCTTCCAGCCTTCCTTC	
ACTB-R	ATCTCCTTCTGCATCCTGTC	

Primer kullanılan gerçek zamanlı kantitatif PZR cihazının çalışma prensiplerine ve özelliklerine uyumlu olacak şekilde tasarlandı. Primer setlerinin % 20-80 oranında Guanine (G) – Sitozin (C) içermesine, özellikle G ile benzer çalışan nükleotitlerden ve probun 5' ucuna G bazı gelmemesine, seçilenin G den çok C bazı olmasına ve melting temperature (TM) sıcaklığının ise 65-85°C olmasına ayrıca dikkat edilmiştir. Gerçek zamanlı kantitatif PZR için kullanılan mastermix bilgileri Tablo 3.4.'de belirtilmiştir.

Tablo 3.4. Gerçek Zamanlı Kantitatif PZR' de Kullanılan Mastermix Bilgileri

MasterMix Bileşenleri	Hacim
2X MasterMix (with SYBR-Green)	10 µl
ROX Dye	1 µl
İleri Primer (10 Mm)	1 µl
Geri Primer (10 Mm)	1 µl
Örnek cDNA	4 µl
RNase-Free su	3 µl
TOPLAM	20 µl

Mastermix hazırlandıktan sonra gerçek zamanlı kantitatif PZR reaksiyonuna geçilmiştir. Gerçek zamanlı kantitatif PZR için kullanılan reaksiyon koşulları aşağıdaki tabloda belirtilmiştir. PZR reaksiyonu Applied Biosystems™ QuantStudio5 gerçek zamanlı PZR cihazında gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.5. Gerçek Zamanlı Kantitatif PZR Reaksiyon Koşulları

PZR Adımı	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü
Başlangıç Denatürasyonu	95	300 saniye	1
Denatürasyon	95	15 saniye	40
Bağlanma	60	60 saniye	

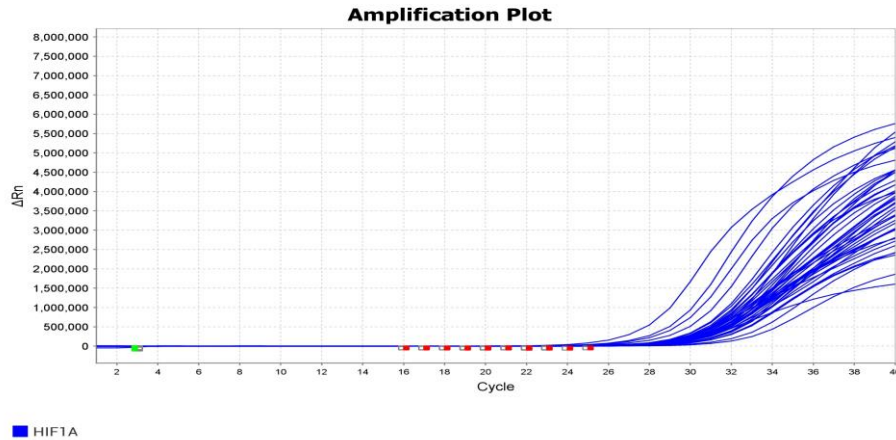
3.4.4. Relatif Kantitasyon Hesaplanması

mRNA ekspresyonları kontrol gurubuna göre normalize edilmiştir. Relatif kantifikasyon hesaplamasında “ $\Delta\Delta C_t$ Yöntemi” kullanılmıştır. $\Delta\Delta C_t$ hesaplaması aşağı açıklandığı şekilde gerçekleştirilmiştir.

1. Hem hedef grupta hem de referans grupta her bir örneğin hem hedef mRNA hem de referans mRNA için gerçek zamanlı PZR sonucunda C_t (Treshold: ilk algılanma eşik değerleri) elde edilmiştir. Teknik tekrarlı çalışmalarda C_t değerlerinin ortalaması alınarak hesaplamaya devam edilmiştir.

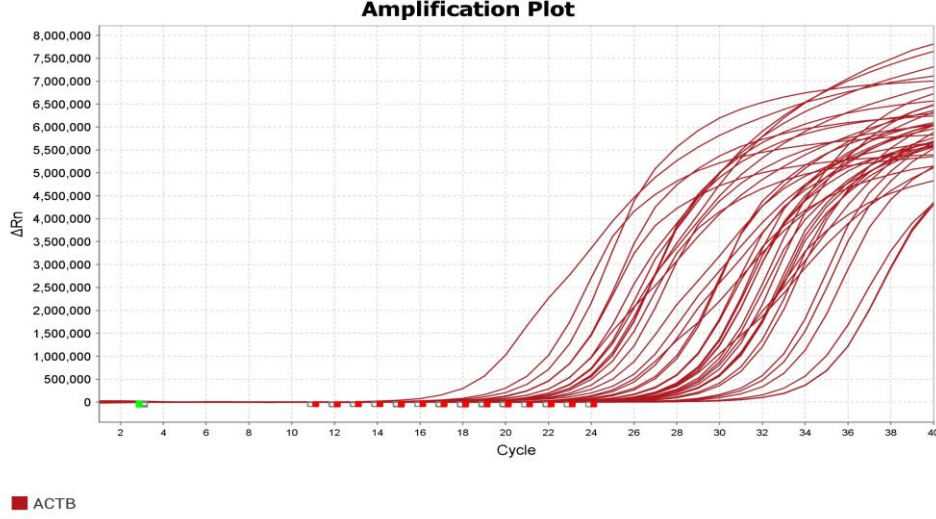
2. Hedef grupta hedef mRNA Ct değerinden referans RNA Ct değeri çıkarılarak hedef grup ΔCt değerleri elde edilmiştir.
3. Referans grupta hedef mRNA Ct değerinden referans RNA Ct değeri çıkarılarak referans grup ΔCt değerleri elde edilmiştir.
4. Hedef grup ΔCt değerlerinden referans grup ΔCt değerleri çıkarılarak $\Delta\Delta Ct$ değerleri elde edilmiştir.
5. $\Delta\Delta Ct$ değerleri $2^{-\Delta\Delta Ct \times 2}$ şeklinde işleme alınarak kat değişimi hesaplanması yapılmıştır.
6. Fold Change değeri 1'in üzerinde çıkması durumunda hedef grubu mRNA ekspresyonunun referans grubun mRNA ekspresyonuna göre relatif olarak artış gösterdiği şeklinde yorumlanmıştır. Fold Change değeri 1'in altında çıkması durumunda ise hedef grubu mRNA ekspresyonunun referans grubun mRNA ekspresyonuna göre relatif olarak azalış gösterdiği şeklinde yorumlanmıştır.

Hedeflediğimiz genlerde ekspresyona bağlı olarak belirli sayıda çoğaltım sonrasında ilerleyen döngülerde hızla artmaya başlamaktadır. Bu artış miktarı kantitatif PZR cihazının 2D-CCD kamerasının algılayabilfiği miktara ulaştığında Ct olarak algılanmakta ve analiz yazılımı bu değerleri kullanarak sonuç vermektedir (Monis ve ark., 2005). Olguların HIF-1 α için gerçek zamanlı kantitatif PZR amplifikasyon eğrisi Şekil 3.1.'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Olguların HIF-1 α Gerçek Zamanlı Kantitatif PZR Amplifikasyon Eğrisi

Çalışmalar iki tekrarlı deney seti halinde gerçekleştirilmiştir. Gen ifadesi analizi için tüm örneklerin Ct değerleri gardiyan (housekeeping) gen olarak kullanılan Beta Aktin'e (β -aktin) fold change kat değişimi ($2^{-\Delta\Delta C_t}$) yöntemiyle Microsoft Excel 2010 bilgisayar programı aracılığıyla oranlararak yaklaşık kat değişimi bulundu (Şekil 3.2.) (Livak ve Schmittgen, 2001).



Şekil 3.2. Beta Aktin Geni Amplifikasyon Eğrisi

3.5. Akım Sitometri Çalışması

Akım sitometrisi, hücrelerin fiziksel ve kimyasal özelliklerini incelemek için kullanılan bir laboratuvar yöntemidir. Bu teknik, hücreleri tek tek, yüksek hızda sıvı bir akım içinde geçirerek her bir hücreyi lazer ışını ile aydınlatır. Hücrelerden yayılan veya saçılan ışık, hücrenin boyutu, granülaritesi ve yüzeyindeki belirli proteinlerin varlığı gibi özelliklerin belirlenmesine olanak tanır. Floresan işaretleyiciler ile etiketlenen antikorlar kullanılarak, hücre yüzeyinde veya içinde bulunan biyomoleküller spesifik olarak tespit edilebilir. Akım sitometrisi, immünoloji, kanser araştırmaları ve kök hücre biyolojisi gibi alanlarda yaygın olarak kullanılan bir tekniktir (Georgios ve Georgios, 2023).

Periferik kan mononükleer hücreleri (PKMH) “gradyan yöntemi” kullanılarak izole edildi. Aktive T lenfosit profilinin belirlenmesi için CD3, CD25, CD69 proteinlerine karşı antikor varlığı ve düzeyleri değerlendirildi. Ayrıca hücre içi HIF 1 α protein seviyesinin belirlenmesi için hücre içi antikor boyaması yapıldı. Çalışmaya dahil edilen hasta ve

kontrol grubunun sodyum-heparinli plazma tüplerine alınmış periferik kan örneklerinden mononükleer hücreler elde edildi. CD3, CD25, CD69 ve HIF-1 α proteinlerine özgül floresan işaretli monoklonal antikorlarla boyandı.

Yüzey antijen boyaması ile T hücre aktivasyonun belirlenmesi için aşağıda belirtilen floresan işaretli monoklonal antikorlarla boyanmıştır.

Anti-human CD3 antikor: CD3-APC (Biolegend, San diego, CA katalog no: 359708) ve izotipi (APC Mouse IgG2a, κ Isotype kontrol, katalog no: 400220)

Anti-human C25 antikor: CD25-PE (Biolegend, San diego, CA katalog no #302606) ve izotipi (PE Mouse IgG1, κ Isotype kontrol, katalog no: 400112)

Anti-human CD69 antikor: CD69- FITC (Biolegend, San diego, CA katalog no #310904) ve izotipi (FITC Mouse IgG1, κ Isotype kontrol, katalog no: 400108)

3.5.1. Periferik Kan Mononükleer Hücre İzolasyon Aşamaları

1. Sodyum-heparinli tüplere her olgu için 4 ml kan alınır oda sıcaklığında laboratuvara ulaştırıldı.
2. 15 ml'lik bir falkon tüpüne alınan 4 ml kan aynı hacimde fosfatla tamponlanmış tuz çözeltisi olan PBS ile seyreltildi.
3. Oluşturulan karışım, 3 ml oranında Ficoll (Lympho-Paque) bulunan yeni bir falkon tüpün içine yavaşça eklendi.
4. 1600 rpm'de +4°C'de 30 dk santrifüj (Gyrozen 1580R santrifüj cihazı kullanıldı) edildi.
5. Santrifüj sonrası fazlarına ayrılan örneğin periferik kan mononükleer hücre tabakası yeni bir falkon tüpüne toplandı. Toplanan hacim kadar PBS eklenerek 1800 rpm'de 10 dakika, +4°C'de santrifüj edildi.
6. Ardından pelletin (hücreler) üstünde kalan süpernatant uzaklaştırıldı. PBS ile yıkama işlemi ikinci kez tekrar edildi.
7. Becton Dickinson (BD) Pharmingen Stain Buffer ile (FBS) ml'de 1 milyon hücre olacak şekilde seyreltildi. Değerlendirme öncesi polistren çalışma tüpleri hazırlandı ve üretici

firmaların (FC Biolegend ve Becton Dickinson) belirtilen tavsiyeleri doğrultusunda tüm örnekler için aşağıdaki boyama prosedürü gerçekleştirildi.

3.5.2. Hücre Yüzey Boyama Prosedürü

1. Çalışma tüpleri olguların bilgilerine göre numaralandırılarak, kullanılacak antikorlar yazıldı.
2. +4°C’de saklanan floresan işaretli antikorlar oda sıcaklığına getirildi ve 30 saniye vortekslendi.
3. Antikorlar ve izotipleri, Çalışma tüplerinin dibine üzerinde belirtilen kullanım miktarı kadar konularak dağıtıldı
4. FBS ile seyreltilen hücreler çalışma tüplerine eklendi. ($\sim 1 \times 10^6$ hücre)
5. Antikorlar ve örnek eklenmiş çalışma tüpleri +4°C’de, 20 dakika karanlıkta bekletildi.
6. Yıkama işlemi için çalışma tüplerine 1500 µl FBS ilave edildi ve vortekslendi. Çalışma tüpleri 2500 rpm hızda 7 dakika santrifüj edildi. Tüpler tek hamlede ters döndürülerek (hücre kaybı olmadan) süpernatant atıldı. Bu basamak iki kez tekrarlandı.
7. Süpernatant kısmı uzaklaştırıldı ve 400 ul wash buffer ile resuspende edildi ve en kısa sürede cihazda okutuldu.

3.5.3. Hücre İçi Boyama Prosedürü

T lenfositlerdeki HIF-1 α protein seviyesinin belirlenmesi için perm yıkama tampon kullanılarak hücre içi HIF-1 α proteinine özgül floresan işaretli monoklonal anti-human HIF-1 α antikoru (Alexa Fluor® 488 anti-human HIF1 α) ve izotipi (Alexa Fluor® 488 Mouse IgG2b, κ Isotype kontrol- katalog no: 400329, Biolegend) kullanıldı.

1. Çalışma tüpleri olguların bilgilerine göre numaralandırılarak, kullanılacak antikor yazıldı.
2. +4°C’de saklanan floresan işaretli antikor oda sıcaklığına getirildi ve 30 saniye vortekslendi.

3. FBS ile seyreltilen hücreler çalışma tüplerine eklendi. ($\sim 1 \times 10^6$ hücre)
4. 150 µl fiks solüsyonu (%1 paraformaldehit) eklenerek 60 dakika buzda inkübe edildi.
5. Çalışma tüplerindeki hücrelerin hücre içi antijenlerin tespiti için membran geçirgenliğinin sağlanması için 1/10 oranında Permeabilizing Solüsyonu/ distile su (BD FACS Permeabilizing Solüsyonu (Katalog no: 347692) çalışma tüpüne 100'er µl eklendi. Karanlık ve oda sıcaklığında 10 dakika inkübasyona bırakıldı.
6. İnkübasyon sonrasında çalışma tüpleri 300g hızda 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant kısmı uzaklaştırıldı.
6. Yıkama işlemi için çalışma tüplerine 500 µl FBS ilave edildi, vortekslendi. Çalışma tüpleri 300g hızda 5 dakika santrifüj edildi. Tüpler tek hamlede ters döndürülerek (hücre kaybı olmadan) süpernatant atıldı. Bu basamak iki kez tekrarlandı.
7. Çalışma tüpüne hücre içi antikör için belirtilen kullanım miktarda (5 µl) eklendi. Karanlık ve +4°C de 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
8. İnkübasyon sonrasında çalışma tüpleri 300g hızda 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant kısmı uzaklaştırıldı.
9. Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra tüplerde kalan hücre pelleti 500 µl wash buffer ile kaldırıldı ve en kısa sürede cihazda okutuldu.

Örneklerden elde edilen floresan işaretli hücrelerin ekspresyon seviyelerinin yüzde oranları 8 renkli akım sitometri cihazı (FACS Canto II, Becton Dickinson, San Jose, CA) ile değerlendirildi ve FACS Diva yazılımı ile analiz edildi. Aktive HIF-1 α ⁺ T lenfosit profilinin belirlenmesi için CD3 kapısı alınarak CD3⁺CD25⁺CD69⁺HIF-1 α ⁺ hücre grubu seçildi. Değerlendirmeler izotip kontrollere göre hücre kapıları alınarak yapıldı. Bu veriler kullanılarak hücre oranları hesaplandı. PRA pozitif KBH grubunun akış sitometri analiz örnek görüntüleri Ek 1'de, PRA negatif KBH grubunun akış sitometri analiz örnek görüntüleri Ek 2'de, kontrol grubunun akım sitometri analiz örnek görüntüleri Ek 3'de sunulmuştur.

3.6. Verilerin İstatistiksel Analizi

Çalışmada kullanılan parametrelerin gruplara göre betimsel istatistikleri, ortalama, standart sapma, medyan, minimum-maksimum değerler ve çeyrekler arası aralık (Q1-Q3) ile verilmiştir (Tablo 4.3).

Gruplar arası farklılıkları incelemek için parametrik olmayan testler kullanılmıştır. Çünkü verilerin normal dağılıma uymadığı veya örneklem büyüklüklerinin küçük olduğu belirlenmiştir. Bu bağlamda, Kruskal-Wallis H testi ve Mann-Whitney U testi ile analizler yapılmıştır. Kruskal-Wallis H Testi: Bu test, üç veya daha fazla grup arasında bağımsız örnekler için bir değişkenin sıralama ortalamalarını karşılaştırmak amacıyla kullanılmıştır. Çalışmada toplamda 12 analiz yapılmış olup, her bir parametre için hasta gruplarına göre farklılıkların olup olmadığı incelenmiştir (Tablo 4.4-4.14). Anlamlı farklılık tespit edilen analizlerde, farkın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek amacıyla ikili karşılaştırmalar yapılmış ve sonuçlar harflendirme ile gösterilmiştir (örn., a, ab, b).

Mann-Whitney U Testi: İki grup arasında bağımsız örnekler için sıralama ortalamalarını karşılaştırmak amacıyla kullanılmıştır.

Korelasyon Analizleri (Spearman's rho): Çalışmanın bir diğer amacı, immün hücre yüzdeleri ve HIF-1 α gen ekspresyonu arasındaki ilişkiyi değerlendirmek olduğu için, Spearman's rho korelasyon katsayısı hesaplanmıştır. Bu analiz PRA (+) KBH grubunda yapılmış ve sonuçlar Tablo 4.14.'te sunulmuştur.

Tüm analizlerde anlamlılık düzeyi $p < .05$ olarak belirlenmiştir. Sonuçlar tablolar halinde sunulmuş, bulguların istatistiksel anlamlılığı ve yorumları yapılmıştır. Anlamlı sonuçların olduğu analizlerde gruplar arası farkların hangi gruplar arasında olduğunu vurgulamak için harflendirme kullanılmıştır.

Veri analizleri SPSS 25.0 programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen üç farklı grubun (PRA pozitif KBH grubu, PRA negatif KBH grubu ve kontrol grubu) için cinsiyet dağılımı ve hasta grubunun kendi içerisinde HLA antijenlerine karşı oluşturulan PRA pozitifliğine göre dağılımı Tablo 4.1.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Çalışma Gruplarının Demografik Özelliklerine İlişkin Sonuçlar

Grup	Değişken		f	%
PRA (+) KBH Grubu	Cinsiyet	Kadın	11	55.0
		Erkek	9	45.0
	PRA Sınıfı	PRA Sınıf I	5	25.0
		PRA Sınıf II	5	25.0
		PRA Sınıf I ve PRA Sınıf II	10	50.0
PRA (-) KBH Grubu	Cinsiyet	Kadın	7	43.75
		Erkek	9	56.25
Kontrol Grubu	Cinsiyet	Kadın	8	40
		Erkek	12	60

PRA (+) KBH grubundaki cinsiyet dağılımı incelendiğinde grubun çoğunlukla kadınlardan oluştuğu görülmektedir (% 55 kadın, % 45 erkek). PRA (+) KBH grubundaki katılımcıların %25'i PRA Sınıf I, %25'i PRA Sınıf I II ve %50'si hem PRA Sınıf I hem de PRA Sınıf I II kategorilerde yer aldığı görülmektedir. PRA (-) KBH grubu cinsiyet dağılımında ise çoğunlukla erkeklerden oluşmaktadır (% 56.25 erkek, % 43.75 kadın). Kontrol grubunda da cinsiyet dağılımında erkekler çoğunluktadır (% 40 kadın, %60 erkek). Tablo 4.2'deki sonuçlarda ise gruplarda yer alan bireylerin yaş dağılımlarına ilişkin sonuçlara yer verilmiştir.

Tablo 4.2. Çalışma Gruplarındaki Bireylerin Yaş Dağılımına Ait Sonuçlar

		PRA (+) KBH grubu	PRA (-) KBH Grubu	Kontrol Grubu
Yaş	Ortalama±Std. Sapma	42.4±11.27	44.31±11.18	45.75±10.64

Elde edilen sonuçlarda PRA (+) KBH grubunun yaş ortalaması 42.4±11.27, PRA (-) KBH grubunda ise yaş ortalaması 44.31±11.18, kontrol grubunda yaş ortalaması 45.75±10.64 olarak hesaplanmıştır.

Periferal kan lenfositlerindeki CD3⁺CD69⁺CD25⁺ T, CD3⁺HIF-1 α ⁺CD69⁺CD25⁺ T, CD3⁺CD69⁺ T, CD3⁺CD25⁺ T, HIF-1 α ⁺ T hücrelerin ve total tüm hücreler içindeki yüzey ekspresyonları akım sitometri yöntemi ile değerlendirildikten sonra ortalama yüzdeleri belirlenmiş olup, betimsel sonuçlar Tablo 4.3. ve Tablo 4.4.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Çalışma Gruplarının Akım Sitometri Sonuçlarının (%) Düzeylerine ve HIF-1 α Gen Ekspresyon Seviyelerine Ait Betimsel Sonuçları

Grup	Değişkenler	Ort.	Std Sapma	Medyan	Min.	Max.	Q1-Q3
PRA (+) KBH Grubu	Total Lenfosit Hücre Yüzdesi	17.98	10.61	18.1	1.5	40.7	9.28-20.45
	CD3⁺CD69⁺CD25⁺ T Hücreleri (%)	2.13	1.34	1.95	0.4	4.5	0.78-3.43
	CD3⁺CD69⁺ T Hücreleri (%)	3.32	2.01	3.05	0.7	7.9	1.73-4.65
	CD3⁺CD25⁺ T Hücreleri (%)	37.41	13.19	37.75	10.5	67.2	28.88-43.45
	HIF-1α⁺ T Hücreleri (%)	7.49	14.44	3.7	0.1	67.2	1.85-6.33
	CD3⁺ HIF-1α⁺ CD69⁺CD25⁺ T Hücreleri (%)	1.64	3.13	0.9	0	14.3	0.05-1.83
	HIF-1α CT	2.19	1.35	1.91	0.22	4.61	1.06-3.47
PRA (-) KBH Grubu	Total Lenfosit Hücre Yüzdesi	24.11	24.03	14.95	1.6	75.7	9.30-24.33
	CD3⁺CD69⁺CD25⁺ T Hücreleri (%)	1.56	1.36	1.05	0.2	5.3	0.83-2.08
	CD3⁺CD69⁺ T Hücreleri (%)	2.36	2.00	1.9	0.4	7.9	1.03-2.53
	CD3⁺CD25⁺ T Hücreleri (%)	34.33	13.39	31.75	16.9	57.5	23.53-46.45
	HIF-1α⁺ T Hücreleri (%)	5.08	6.25	3.4	0	25.6	1.13-6.18

Tablo 4.4. Çalışma Gruplarının Akım Sitometri Sonuçlarının (%) Düzeylerine ve HIF-1 α Gen Ekspresyon Seviyelerine Ait Betimsel Sonuçları (devam)

Grup	Değişkenler	Ort.	Std Sapma	Medyan	Min.	Max.	Q1-Q3
PRA (-) KBH Grubu	CD3⁺ HIF-1α⁺ CD69⁺ CD25⁺ T Hücreleri (%)	1.22	3.51	0.2	0	14.3	0.00-0.80
	HIF-1α CT	1.32	1.35	0.72	0.08	4.35	0.33-2.12
Kontrol Grubu	Total lenfosit hücre yüzdesi	23.32	19.84	19.80	3.40	80.00	6.27-30.27
	CD3⁺,CD69⁺CD25⁺ T Hücreleri (%)	3.79	4.37	1.80	0.30	13.60	1.20-3.67
	CD3⁺ CD69⁺ T Hücreleri (%)	4.38	4.49	2.80	0.30	20.20	1.55-5.87
	CD3⁺ CD25⁺ T Hücreleri (%)	29.03	11.88	27.90	8.60	58.00	18.65-35.87
	HIF-1α⁺ T Hücreleri (%)	2.41	2.46	1.35	0.10	6.90	0.25-5.20
	CD3⁺ HIF-1α⁺ CD69⁺ CD25⁺ T Hücreleri (%)	0.15	0.29	0.00	0.00	1.10	0.00-0.27
	HIF-1α CT	1.95	1.94	1.36	0.08	5.71	0.37-2.80

Tablo 4.3. ve Tablo 4.4.'teki sonuçlara göre;

CD3⁺CD69⁺CD25⁺ T hücre yüzdelерinin ise üç grup arasında benzer sonuçlar ürettiği görülmüştür.

CD3⁺CD69⁺ T hücre yüzdesinin ise PRA pozitif KBH grubu ortalamasının PRA negative KBH ve kontrol gruplardan daha yüksek olduğu görülmüştür.

CD3⁺CD25⁺ T hücre yüzdesi bakımından üç grubun benzer dağılımlar gösterdiği söylenebilir.

HIF-1 α ⁺ ekrprese eden T hücre düzeyleri açısından PRA pozitif KBH grubunda daha yüksek bir ortalama belirlenmiştir. Ancak PRA negatif KBH ve kontrol grubunda daha düşük bir ortalamaya sahip olduğu görülmüştür.

CD3⁺CD25⁺CD69⁺ HIF-1 α ⁺ T hücre yüzdesinin PRA pozitif KBH ve PRA negatif KBH gruplarının birbirine benzer ortalamalara sahip olduğu, kontrol grubunda bu hücre yüzdelерinin ortalamasının daha düşük olduğu görülmüştür.

Tablo 4.5'deki Kruskal-Wallis H testi sonuçlarına göre, çalışma grupları arasında total lenfosit hücre yüzdesinin istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği ($\chi^2_{(2)} = 0.222$, $p = 0.895$) belirlenmiştir.

Tablo 4.5. Total Lenfosit Hücre Yüzdelelerinin Çalışma Gruplarına Göre Kruskal-Wallis H Testi Sonuçları

	Çalışma Grubu	N	Sıra ortalaması	Test istatistiği	p
Total lenfosit hücre yüzdesi	PRA (+) KBH Grubu	20	27.45	0.222	0.895
	PRA (-) KBH Grubu	16	28.16		
	Kontrol Grubu	20	29.83		

Tablo 4.6'teki Kruskal-Wallis H testi sonuçlarına göre, çalışma grupları arasında $CD3^+CD25^+CD69^+$ değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği ($\chi^2_{(2)} = 3.858$, $p = 0.145$) belirlenmiştir.

Tablo 4.6. $CD3^+CD69^+CD25^+$ T Hücre Yüzdelelerinin Çalışma Gruplarına Göre Kruskal-Wallis H Testi Sonuçları

	Çalışma Grubu	N	Sıra ortalaması	Test istatistiği	p
$CD3^+CD25^+CD69^+$ T Hücre (%)	PRA (+) KBH Grubu	20	29.80	3.858	0.145
	PRA (-) KBH Grubu	16	21.97		
	Kontrol Grubu	20	32.43		

Tablo 4.7'deki Kruskal-Wallis H testi sonuçlarına göre, çalışma grupları arasında $CD3^+CD69^+$ değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği ($\chi^2_{(2)} = 3.989$, $p = 0.136$) belirlenmiştir.

Tablo 4.7. $CD3^+CD69^+$ T Hücre Yüzdelelerinin Çalışma Gruplarına Göre Kruskal-Wallis H Testi Sonuçları

	Çalışma Grubu	N	Sıra ortalaması	Test istatistiği	p
$CD3^+CD69^+$ T Hücre (%)	PRA (+) KBH Grubu	20	30.35	3.989	0.136
	PRA (-) KBH Grubu	16	21.72		
	Kontrol Grubu	20	32.08		

Tablo 4.8'deki Kruskal-Wallis H testi sonuçlarına göre, çalışma grupları arasında $CD3^+CD25^+$ değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği ($\chi^2_{(2)} = 4.255$, $p = 0.119$) belirlenmiştir.

Tablo 4.8. CD3⁺CD69⁺ T hücre Yüzdelерinin Çalışma Gruplarına Göre Kruskal-Wallis H Testi Sonuçları

	Çalışma Grubu	N	Sıra ortalaması	Test istatistiği	p
CD3⁺CD25⁺ T Hücre (%)	PRA (+) KBH Grubu	20	33.95	4.255	0.119
	PRA (-) KBH Grubu	16	28.16		
	Kontrol Grubu	20	23.33		

Tablo 4.9'daki Kruskal-Wallis H testi sonuçlarına göre, çalışma grupları arasında HIF-1 α ⁺ T hücre yüzdesinin istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği (χ^2 (2) = 5.380, p = 0.068) belirlenmiştir.

Tablo 4.9. HIF-1 α Ekprese Eden T Hücre Yüzdelерinin Çalışma Gruplarına Göre Kruskal-Wallis H Testi Sonuçları

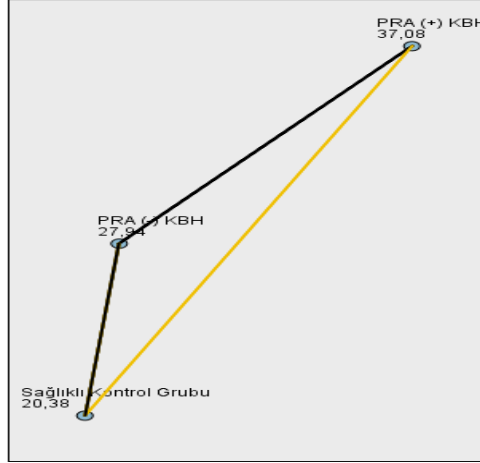
	Çalışma Grubu	N	Sıra ortalaması	Test istatistiği	p
HIF-1α	PRA (+) KBH Grubu	20	33.53	5.380	0.068
	PRA (-) BH Grubu	16	30.44		
	Sağlıklı Kontrol Grubu	20	21.93		

CD3⁺CD25⁺ CD69⁺ HIF-1 α ⁺ T Hücre Yüzdeleri bakımından en yüksek ortalamaya sahip grup PRA (+) KBH Grubu olarak bulunmuştur (Şekil 4.1.). Tablo 4.10'daki Kruskal-Wallis H testi sonuçlarına göre, hasta grupları arasında CD3⁺CD25⁺ CD69⁺ HIF-1 α ⁺ T Hücre yüzdelерinin istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterdiği (χ^2 (2) = 11.844, p = 0.003) belirlenmiştir. Gruplar arası farklılık incelendiğinde PRA pozitif KBH grubu ile kontrol arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklılaştığı belirlenmiştir (p=.002).

Tablo 4.10. CD3⁺CD25⁺ CD69⁺ HIF-1 α ⁺ T Hücre Yüzdelерinin Çalışma Gruplarına Göre Kruskal-Wallis H Testi Sonuçları

	Çalışma Grubu	N	Sıra ortalaması	Test istatistiği	p
CD3⁺CD25⁺	PRA (+) KBH Grubu	20	37.08 ^a	11.844	0.003*
CD69⁺HIF-1α⁺ T	PRA (-) KBH Grubu	16	27.94 ^{ab}		
Hücre (%)	Kontrol Grubu	20	20.38 ^b		

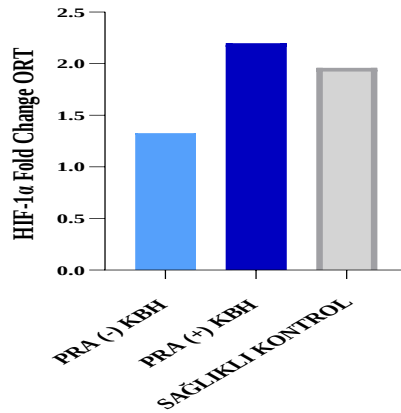
*p<0.05, Not: Sütun boyunca farklı harfler istatistiksel olarak anlamlılığı gösterir, aynı harfi paylaşan gruplar anlamlı olarak farklı değildir.



Şekil 4.1. Çalışma Gruplarında CD3⁺CD25⁺ CD69⁺ HIF-1α⁺ T Hücre Yüzdeleri Ortalaması

Çalışmamızda gen ifadesi analizi için, relatif kantifikasyon hesaplamasında “ $\Delta\Delta C_t$ Yöntemi” kullanılmıştır. $\Delta\Delta C_t$ değerleri $2^{-\Delta\Delta C_t} \times 2$ şeklinde işleme alınarak kat değişimi hesaplanması yapılmıştır. Fold Change değeri 1’in üzerinde çıkması durumunda hedef grubu mRNA ekspresyonunun referans grubun mRNA ekspresyonuna göre relatif olarak artış gösterdiği şeklinde yorumlanmıştır. Fold Change değeri 1’in altında çıkması durumunda ise hedef grubu mRNA ekspresyonunun referans grubun mRNA ekspresyonuna göre relatif olarak azalış gösterdiği şeklinde yorumlanmıştır.

HIF-1α gen ekspresyonu düzeyleri için 3 grup karşılaştırıldığında, PRA pozitif KBH grubunda en yüksek ortalama sahip olup, PRA negatif KBH ve kontrol gruplarında kademeli olarak ortalamaların düştüğü gözlenmiştir (şekil 4.2.).



Şekil 4.2. Hasta ve Kontrol Gruplarında HIF-1α Gen Ekspresyon Ölçümleri

HIF-1 α gen ekspresyonu için 3 grup karşılaştırıldığında PRA (+) KBH grubunun kat sayısının 2.19, PRA (-) KBH grubu kat sayısının 1.32 ve kontrol grubunun kat sayısının ise 1.95 olduğu tespit edilmiştir. Hasta ve kontrol gruplarının HIF-1 α genine ait ortalama Ct değerleri Tablo 4.11.'de verilmiştir.

Tablo 4.11. Hasta ve Kontrol Gruplarında HIF-1 α Gen Ekspresyon Ölçümleri

	Çalışma Grubu	N	Ortalama+std (CT)
HIF-1α	PRA (+) KBH Grubu	20	2.19 $\pm$ 1.35
	PRA (-) KBH Grubu	16	1.32 $\pm$ 1.35
	Kontrol Grubu	20	1.95 $\pm$ 1.94

Std: standart sapma, n: katılımcı sayısı, CT değerleri: Eşik Değerleri

Tablo 4.12'deki Kruskal-Wallis H testi sonuçlarına göre çalışma grupları arasında HIF-1 α sıra ortalaması değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği (χ^2 (2) = 4.513, p=0.105) belirlenmiştir.

Tablo 4.12. HIF-1 α Gen Ekspresyon Düzeylerinin Çalışma Gruplarına Göre Kruskal-Wallis H testi Sonuçları

	Çalışma Grubu	N	Sıra ortalaması	Test istatistiği	p
HIF-1α	PRA (+) KBH Grubu	20	33.95	4.513	0.105
	PRA (-) KBH Grubu	16	22.38		
	Kontrol Grubu	20	27.95		

*p<0.05, Not: Sütun boyunca farklı harfler istatistiksel olarak anlamlılığı gösterir, aynı harfi paylaşan gruplar anlamlı olarak farklı değildir.

PRA pozitif KBH grubunda yer alan bireylerin immün hücre aktivasyon (akım sitometri) ve gen ekspresyon parametre değerlerinin PRA sınıflandırmasına göre Kruskal-Wallis H testi sonuçlarına göre, sadece CD3⁺CD25⁺CD69⁺HIF-1 α ⁺ T hücre yüzdesinin PRA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (χ^2 (2) = 8.053, p = .018). Diğer parametreler arasında anlamlı fark tespit edilmemiştir.

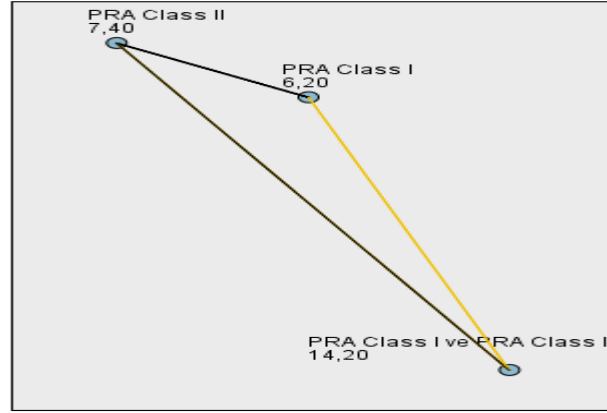
Farklılığın kaynağını tespit etmek için gruplararası karşılaştırmalar yapılmış ve PRA Sınıf I grubu ile PRA Sınıf I & PRA Sınıf II grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık

bulunmuştur ($p=.038$). PRA Sınıf I & PRA Sınıf II sıra ortalamasının PRA Class I grubunun sıra ortalamasından daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.13) (Şekil.4.3.).

Tablo 4.13. PRA Pozitif KBH Grubunda Yer Alan Bireylerin İmmün Hücre Aktivasyon (Akım Sitometri) ve Gen Ekspresyon Parametre Değerlerinin PRA Sınıflandırmasına Göre Kruskal-Wallis H Testi Sonuçları

Değişkenler	PRA Sınıflandırması	n	Sıra Ortalaması	Test istatistiği	p
Total Lenfosit Hücre Yüzdesi	PRA Class I	5	9.20	0.437	0.804
	PRA Class II	5	10.20		
	PRA Class I & PRA Class II	10	11.30		
CD3⁺CD25⁺CD69⁺ T Hücreleri (%)	PRA Class I	5	8.30	1.646	0.439
	PRA Class II	5	9.40		
	PRA Class I & PRA Class II	10	12.15		
CD3⁺CD69⁺ T Hücreleri (%)	PRA Class I	5	7.50	2.575	0.276
	PRA Class II	5	9.50		
	PRA Class I & PRA Class II	10	12.50		
CD3⁺CD25⁺ T Hücreleri (%)	PRA Class I	5	13.40	2.175	0.337
	PRA Class II	5	7.90		
	PRA Class I & PRA Class II	10	10.35		
HIF-1α⁺ T Hücreleri (%)	PRA Class I	5	9.50	0.939	0.625
	PRA Class II	5	12.70		
	PRA Class I & PRA Class II	10	9.90		
CD3⁺CD69⁺CD25⁺CD69⁺HIF-1α⁺ T Hücreleri (%)	PRA Class I ^a	5	6.20	8.053	0.018*
	PRA Class II ^{ab}	5	7.40		
	PRA Class I & PRA Class II ^b	10	14.20		
HIF-1α CT	PRA Class I	5	8.20	2.174	0.337
	PRA Class II	5	13.60		
	PRA Class I & PRA Class II	10	10.10		

* $p<0.05$, Not: Sütun boyunca farklı harfler istatistiksel olarak anlamlılığı gösterir, aynı harfi paylaşan gruplar anlamlı olarak farklı değildir.



Şekil 4.3. PRA Sınıf I (+), PRA Sınıf II (+), PRA Sınıf I (+) & PRA Sınıf II (+) Hasta Gruplarında CD3⁺CD25⁺CD69⁺HIF-1α⁺ T Hücre Yüzdeleri

Gen ekspresyon seviyeleri ile hücre yüzdeleri arasında bir ilişki olup olmadığını belirlemek için korelasyon analizi yapıldı. Hasta grubunda HIF-1α gen ekspresyonu ile hücre yüzdeleri arasında Spearman korelasyon analizine göre anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p > 0.05$ 'ten). En güçlü negatif korelasyon, CD3⁺CD25⁺ değişkeni ile gözlemlenmiş olup, bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildir, $r_s = -.393$, $r_s = -.393$, $r_s = -.393$, $p = .086$, $p = .086$, $p = .086$. Diğer hücre yüzdeleri ile olan korelasyonlar ise oldukça düşük seviyelerde kalmıştır ve istatistiksel olarak anlamlı değildir (tablo 4.14).

Tablo 4.14. HIF-1α Gen Ekspresyonunun Hücre Yüzdeleri ile Korelasyonları (Spearman's rho)

Değişken	Korelasyon Katsayısı (r_s)	P
Total lenfosit hücre yüzdesi	-0.218	0.356
CD3 ⁺ CD25 ⁺ CD69 ⁺	-0.060	0.801
CD3 ⁺ CD69 ⁺	-0.047	0.843
CD3 ⁺ CD25 ⁺	-0.393	0.086
HIF-1α ⁺	-0.197	0.405
CD3 ⁺ CD25 ⁺ CD69 ⁺ HIF-1α ⁺	0.036	0.879

5. TARTIŞMA

Son dönem böbrek hastalarının tedavi seçeneklerinden biri olarak böbrek nakli, hastaların uzun dönem sağkalımını arttırarak, yaşam kalitesini iyileştirmekte önemli bir yer tutmaktadır (Wolfe ve ark., 1999; Venkataraman ve Kendrick, 2020). Başarılı bir böbrek nakli için alıcı ve donör arasında optimal immunolojik uyumun sağlanması önemlidir (Jankowska-Gan ve ark., 2012; Han ve Lubetzky, 2023). Nakil adaylarında transplantasyon öncesi humoral duyarlılığın tespit edilmesinde rutin olarak yapılan testlerden birisi de PRA testidir. PRA pozitifliği; hastaların geçmişte kan transfüzyonları, önceki organ nakilleri veya gebelik gibi nedenlerle alloantijenlere karşı gelmiş olan güçlü bir bağışıklık hafızası ile karakterizedir. Nakil sonrası bu bağışıklık hafızası sayesinde T hücreleri hızlıca aktive olur ve güçlü bir bağışıklık yanıtını tetikler (Süsal ve ark., 2009; Scornik ve ark., 2013; Redfield ve ark., 2016). PRA pozitifliğinin hastalarda hem antikor aracılı hem de akut hücresel rejeksiyon oranlarını artırarak greft kaybı riskini önemli ölçüde yükselttiği gösterilmiştir (Ponticelli, 2012; Martínez-Mier ve ark., 2020). Ayrıca yapılan bir çok çalışmada yüksek düzeyde anti-HLA antikorları; bekleme listesindeki hastaların artışı, nakil sonrası antikor aracılı red ve azalmış greft fonksiyonu ile ilişkilendirilmiştir (Wei-jie ve Xiao-pin, 2010; Sahin ve ark., 2023; Ramos ve ark., 2024).

Böbrek nakli öncesi risk değerlendirmesi ve nakil sonrası immünsupresyonu en aza indirmek için allotransplant reddini öngören belirteçlerin önemi bilinmektedir. Nakil öncesi rutin olarak yapılan PRA testi sonucu pozitif olan hastalarda, alloimmün yanıtın gelişiminde T ve B hücreleri birlikte rol oynamaktadır. Özellikle foliküler yardımcı T hücrelerin aktivasyonu, B hücrelerini HLA antijenlerine karşı alloantikor üretimine yönlendirerek PRA seviyesindeki artışa katkıda bulunmaktadır (Graav ve ark., 2015; Matsuda ve ark., 2016). Güncel literatürde, bu durumun nakil sürecinde rejeksiyon riskini artırdığı ve tedavi stratejilerinin özellikle T hücre aktivasyonunu baskılamayı hedeflediği belirtilmektedir (Dunlap ve ark., 2023).

T hücresi fonksiyonu için CD25 veya CD69 antijeni gibi sitokin seviyelerine yanıt veren, hücre farklılaşmasını ve çoğalmasını etkileyen aktivasyon antijenlerinin ifadesi gereklidir (Lisowska ve ark., 2022). CD25, interlökin (IL)-2 reseptörünün bir parçasıdır ve özellikle

aktifleşmiş lenfositler ve düzenleyici T hücrelerinde yüksek miktarlarda bulunur (Peng ve ark., 2022). CD25 inhibitör ilaçları olan basiliximab ve daclizumab, IL-2 aracılığıyla lenfositlerin aktivasyonunu ve çoğalmasını önleyerek nakilden sonra greft reddinin önlenmesinde immünsupresan olarak kullanılır (Panackel ve ark., 2022; ve ark., 2023).

Transplantasyon sonrası CD25⁺CD3⁺ T hücrelerinin etkisini araştıran Mooslechner ve ark. (2024) böbrek nakli alıcılarının nakilden sonraki ilk yıl içinde CMV riskini değerlendirmek amacıyla yaptıkları analizlerde, CMV geliştiren orta risk grubundaki bireylerin nakil öncesinde, CMV negatif hastalara kıyasla daha düşük CD3⁺CD25⁺ FoxP3⁺ T hücre frekanslarına sahip olduğu gösterilmiştir. Çalışmada bu T hücre alt kümesinin, CMV profilaksisi için orta risk grubundaki alıcıların seçilmesinde yardımcı bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (Mooslechner ve ark., 2024). Bu hücre grubuyla yapılan diğer bir çalışmada ise CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Treg hücrelerinin nakil sonrası immün toleransı artırdığı ve bu hücrelerin aktivitelerinin izlenmesinin greft sağkalımı ile allograft reddi gibi sonuçlar üzerinde kritik bir öneme sahip olduğu vurgulanmıştır (Cheung ve ark., 2022). Hueso ve arkadaşları transplantasyon öncesi 16 hastadan alınan kan örneklerinde akım sitometri yöntemi ile CD25, HLA-DR, CD134, CD62L ve CD44 ekspresyonlarını incelemiştir. Erken rejeksiyon görülen hastalarda, rejeksiyon görülmeyenlere göre pretransplant dönemde CD3⁺CD25⁺ T hücre seviyesinin daha az olduğu hücre tespit edilmiştir (Hueso ve ark., 2011). Bizim çalışmamızda ise nakil öncesi yapılan değerlendirmede CD3⁺CD25⁺ eksprese eden T hücre yüzdeleri bakımından çalışma grupları arasında benzer dağılımlar gösterdiği, PRA pozitif KBH grubunda ise PRA sınıf I pozitif alt grubunda en yüksek ortalamaya sahip olduğu gözlenmiştir.

Böbrek nakli hastalarında T hücre aktivasyonunun takibi üzerine yapılan bir çalışmada, CD3⁺ hücre alt gruplarında CD25 ve CD69 ekspresyonunun akut böbrek hasarı ile yakın korelasyon gösterdiği ve bu parametrelerin greft reddini tespit etmek için potansiyel bir noninvaziv yöntem olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Posselt ve ark., 2003). Yakın zamanda yapılan bir başka çalışmada ise transplantasyondan sonrası erken dönemde akut tübüler hasarı gösteren 30 bireyde CD8⁺ sitotoksik T hücrelerinde CD25, CD69 ekspresyonunun anlamlı derecede daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Boix ve ark., 2023). Bizim çalışmamızda ise bu iki çalışmadan farklı olarak nakil öncesi CD3⁺CD69⁺ T hücre

hücre seviyelerine bakılmıştır. CD3⁺CD69⁺ T hücre yüzdelерinin kontrol grubu ile kıyasladığımızda PRA pozitif KBH grubunda daha yüksek olmasına rağmen bu fark istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır.

Literatürdeki bu bilgiler ışığında alloreaktif T hücrelerinin bağışıklık tepkilerinin temel araçları olduğu bilgisine dayanarak, çalışmamızda PRA pozitif ve PRA negatif KBH'larında ve kontrol bireylerinde CD3⁺CD25⁺CD69⁺ aktive T hücre yüzdelерini belirledik. Çalışma grupları arasında CD3⁺CD25⁺CD69⁺ aktive T hücre yüzdeleri ortalamasının benzer sonuçlar verdiği görülmüştür. PRA pozitif hasta grubumuzu PRA pozitifliğinin olduğu HLA antijenlerine göre sınıflandırdığımızda ise CD3⁺CD25⁺CD69⁺ aktive T hücre yüzdelерinin en yüksek olduğu grup PRA Sınıf I ve PRA Sınıf II pozitif hasta grubu olarak bulunmuştur. Ancak bu farklılık istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır.

HIF-1 α eritropoez, demir ve glikoz metabolizması gibi metabolik süreçlerin transkripsiyonel düzenlenmesinde görev almasının yanı sıra hipoksi, iskemi/reperfüzyon hasarı, inflamasyon ve oksidatif stres gibi farklı koşullarda böbrek hasarı süreçlerinde de rol oynamaktadır (Fang ve ark., 2013; Haase, 2013; Foresto-Neto ve ark., 2023). HIF-1 α stabilizasyonunun in vitro ortamda epitel-mezenkimal geçişi teşvik ettiği ve deneysel kronik böbrek hastalığında profibrotik bir faktör olarak rol oynadığı gösterilmiştir (Liu ve ark., 2024). Hu ve arkadaşları tarafından, KBH progresyonunda önemli bir rol oynayan proteinürinin etkisini inceleyen bir çalışmada albüminin neden olduğu oksidatif stresin, HIF-1 α birikimine yol açtığı ve bu sürecin renal tübüler hücrelerde profibrotik etkilere aracılık ettiği gösterilmiştir (Hu ve ark., 2017). Nakil olan böbrek hastalarında yapılan bir çalışmada, hipoksinin rejeksiyon ile güçlü ilişkisi göz önünde bulundurularak, greft fonksiyon bozukluğuna katkıda bulunabileceği vurgulanmıştır. Ayrıca HIF-1 α immünohistokimya gibi yöntemlerle varlığının gösterilerek akut reddin tanısında daha spesifik hale getirilebileceği belirtilmiştir (Rosenberger ve ark., 2007). Diğer taraftan 2020 yılında yapılan bir çalışmada ise diyabetik nefropatide, tübüler hücrelerde HIF-1 α aktivasyonunun böbrek hasarına karşı korunmada önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (Jiang ve ark., 2020).

Mevcut araştırmalar, HIF-1 α transkripsiyonel aktivitesinin böbrek hastalıklarını önlemek için önemli bir tedavi hedefi olabileceğini desteklemektedir (Wang ve ark., 2022). Liu ve arkadaşları, hipoksinin böbrek hastalıklarında fibrozun oluşumunda ve ilerlemesinde transkripsiyonel regülasyonda önemli bir işlevi bulunan HIF-1 α 'yı hedeflemenin böbrek fibrozunu hafifletmek için potansiyel bir strateji olabileceğini öne s rmuşlerdir (Liu ve ark., 2024).

KBH'larında aneminin tedavisi için hipoksi-indüklenebilir faktör prolil hidroksilaz inhibitörlerinden biri olan Roxadustat, ABD Gıda ve İlaç Dairesi tarafından onaylanmamış olmasına rağmen  in, Japonya, Güney Kore, şili, Birleşik Krallık ve Avrupa Birliği'nde onay almıştır (Chen ve ark., 2019; Henry ve ark., 2022). Bu ilaç normal oksijen koşulları altında HIF'in parçalanmasından sorumlu olan prolil hidroksilazı (PHD) inhibe ederek çalışır (Stoumpos ve ark., 2024). Wu ve arkadaşları, böbrek iskemi-reperfüzyonunun neden olduğu akut böbrek hasarından kronik böbrek hasarına geçişte HIF stabilizatörü olan Roxadustat'ın rolünü araştırmışlardır. Roxadustatın böbrek fibrozisini belirgin şekilde hafiflettiği böbrek damar yenilenmesini ve redoks dengesini geliştirdiğini göstermişlerdir. Bu etkilerin, muhtemelen HIF-1 α / VEGF reseptör 1 sinyal yolunu aktive ederek ve endojen antioksidan süperoksit dismutaz 2 ekspresyonunu artırarak gerçekleştiğini belirtmişlerdir (Wu ve ark., 2021). HIF-PHD tedavilerinin yararlı görünmesine rağmen, HIF aktivasyonunun KBH ilerlemesindeki rolü hakkında birçok tartışma vardır. HIF stabilizasyonun polikistik böbrek hastalığı fare modelinde kist büyümesini hızlandırmada bir rol oynadığı gösterilmiştir (Kraus ve ark., 2018). Güncel araştırmalara sonucunda, HIF aktivasyonunun koruyucu olup olmadığı ya da böbrek hastalıklarının patogeneze ve ilerlemesine katkıda bulunup bulunmadığı hala kesinleşmemiştir.

2019 yılında Türkiye de yapılan bir çalışmada erken evre böbrek yetmezliği hastalarında ve kontrol gruplarında HIF-1 α protein seviyeleri ile diğer biyokimyasal ve inflamatuvar parametreler arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Çalışmada sağlıklı bireyler ve erken KBH'ları arasında HIF-1 α seviyesi glukoz, AST, ALT, GGT, PLT, MPV, PCT, PDW değerlerinde anlamlı farklılık bulunmamıştır. Ancak HIF-1 α ile ürik asit değeri arasında

anlamli ($p<0,05$) negatif korelasyon gözlenmişken, ALT ve hemoglobin değeri arasında anlamli ($p<0,05$) pozitif korelasyon gözlenmiştir (Atmaca ve Oğuz, 2019).

Bizim çalışmamızda ise HIF-1 α gen ekspresyon seviyesi, PRA pozitif KBH grubunda en yüksek seviyede ifade edilmiş olup, PRA negatif KBH ve kontrol gruplarında kademeli olarak düştüğü gözlenmiştir. Ancak gruplar arasında anlamli bir fark tespit edilememiştir. Gruplar arasında gözlemlenen gen ekspresyon seviyelerindeki farklılığının nedeninin PRA pozitif ve negatif gruplar arasında altta yatan immünolojik aktivite farklılıkları olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, hastalığın farklı evrelerinde değişen inflamasyon düzeyleri, oksidatif stres ve hipoksi seviyeleri HIF-1 α gen ekspresyonunu etkileyebilir. Bu sonuçlarımız, literatürde bir ilk olma özelliği taşıyan ve kıyaslanabilir herhangi bir çalışmanın bulunmadığı bir bulgudur.

Yapılan çalışmalarda adaptif bağışıklık hücrelerinin oksijenden bağımsız mekanizmalar aracılığıyla HIF-1 α 'yı stabilize edebileceğine değinilmiştir (Taylor ve ark., 2022). Literatürde normoksik koşullarda, antijen sunumu ve TCR ligasyonu ile T hücrelerinde HIF-1 α transkripsiyonunun arttığı ve bunun sonucunda HIF-1 α protein seviyelerinin yükseldiği gösterilmiştir (Doedens ve ark.,2013; McGettrick ve O'Neill, 2020). Bu çalışmalar ışığında HIF-1 α 'nın T-hücresi aracılı inflamasyonu teşvik etmede potansiyel bir rolü olduğunu gösterilmesi ile; çalışmamızda nakil bekleyen PRA pozitif kronik böbrek hastalarında, CD3⁺CD25⁺CD69⁺HIF-1 α ⁺ T hücre yüzdeleri incelenmiştir. Sonuçların PRA pozitif ve PRA negatif KBH gruplarında birbirine benzer ortalamalara sahip olduğu, PRA pozitif KBH grubu ile kontrol arasındaki farkın ise istatistiksel olarak anlamli olduğu belirlenmiştir ($p=.002$). Elde edilen veriler, PRA Sınıf I grubu ile kıyaslandığında, PRA Sınıf I & PRA Sınıf II grubunda hücre yüzdelerinin daha yüksek olduğunu ve istatistiksel olarak anlamli bir fark bulunduğunu göstermektedir ($p=0.038$). Bu sonuç PRA Sınıf I & PRA Sınıf II pozitif hastalardaki alloreaktiviteye ve inflamatuvar yükün artışına bağlı olarak, aktive T hücrelerinde HIF-1 α ekspresyonunun hipoksiden bağımsız olarak artabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca PRA negatif hastalarda bu yükün daha düşük olması nedeniyle aktive T hücrelerinde HIF-1 α seviyelerinin de azalabileceği değerlendirilmektedir.

HIF-1 α 'nın kronik böbrek hastalığında kronik inflamatuvar süreçler ve bağışıklık yanıtında kritik bir düzenleyici olduğu ve bağışıklık sistemini hipoksi koşullarına adapte ederek uzun vadeli inflamasyonu sürdürebileceği, birçok çalışma tarafından desteklenmektedir (Knutson ve ark., 2021; Liu ve ark., 2022; Foresto-Neto ve ark., 2023). Bulgularımız, HIF-1 α 'nın sadece bir hipoksi göstergesi değil, aynı zamanda immünolojik aktivite ve inflamasyonun bir işareti olduğuna dair verilerle örtüşmektedir.

Böbrek dokusunun hipoksik mikroçevresinde HIF-1 α 'nın inflamatuvar süreçleri düzenlediği ve bu nedenle potansiyel bir terapötik hedef olabileceği güncel çalışmalarda vurgulanmaktadır. Doğasında hipoksi ve inflamasyonun yer aldığı ve bu süreçlerin hastalığın teşhisinden nakil aşamasına kadar kritik bir rol oynadığı böbrek hastalıklarında, Th17 hücrelerindeki HIF-1 α 'nın artmış aktivitesinin düzenlenmesi, immünsupresif stratejiler arasında terapötik bir potansiyel taşıyabilir.

Bu çalışma ile PRA pozitif KBH'larında artan CD3⁺CD25⁺CD69⁺HIF-1 α ⁺ T hücre ekspresyonu gösterilmiştir. Bu sonuç, hastalarda hipoksiden bağımsız olarak artan inflamatuvar yük ve alloreaktivite ile ilişkili olabilir. Ayrıca PRA pozitif KBH'larında HIF-1 α ⁺ aktive T hücrelerinin artan ekspresyonu literatürde ilk kez rapor edilmektedir. Bu nedenle çalışmamızın özgün bir değere sahip olduğunu düşünmekteyiz.

PRA pozitif nakil adaylarında CD3⁺CD25⁺CD69⁺HIF-1 α T hücre düzeylerinin tanımlanması, HIF-1 α 'nın alloreaktiviteyi modüle etmesi adına yeni tedavi stratejileri geliştirilmesine yardımcı olabilir. Bu da organ sağkalımını artırmak için önemli bir adım olacaktır. Kronik böbrek hastalıklarında hedefe yönelik terapötik yaklaşımlar umut vericidir. Ancak, HIF yolunu hedef alan tedavilerin farklı patolojik bağlamlarda değişken etkiler gösterebileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Dolayısıyla HIF-1 α 'nın regülasyonu ve bağışıklık üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılması için kapsamlı ve bağlam odaklı araştırmalara ihtiyaç vardır. Tez çalışmamız, hasta grubunda artan T hücre aktivasyonunda HIF-1 α 'nın ekspresyonunu göstermiştir. Bu bulgu, transplantasyon sürecinde bağışıklık toleransını artırmaya yönelik HIF-1 α 'yı hedef alan yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine yönelik bilimsel bir temel oluşturabilir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Organ Nakli Merkezi'ne Nisan 2022 ile Temmuz 2022 tarihleri arasında böbrek nakli için başvuran erişkin (yaş ort: 42,4±11,27 yıl) 36 KBH'lı birey ve rutin biyokimyasal tetkikleri incelenen sağlıklı 20 birey olmak üzere toplam 56 birey ile yapıldı.

Literatür taramalarımıza göre böbrek nakli bekleyen KBH'da PRA varlığı ile CD3⁺CD25⁺CD69⁺ T hücreleri ve HIF-1 α gen ekspresyon seviyeleri arasındaki ilişkinin ve etkilerinin birlikte ele alındığı bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamız bu konuyu araştıran ilk çalışmadır. Literatürdeki bu boşluğu doldurmak amacıyla planlanan çalışmamızın ana sonuçları aşağıda belirtilen maddeler halinde özetlenebilir:

1. PRA pozitif KBH olguların yaş aralığı 20 ile 57 arasında değişmekte olup medyan yaşı 42.4 idi. Olguların 11'i (% 55) kadın, 9'u (% 45) erkek cinsiyettedir.
2. Çalışmaya dahil edilen 16 kişilik PRA negatif KBH grubunun yaş aralığı 18 ile 62 arasında değişmekte olup medyan yaşı 44.31 idi. 7'si (% 43.75) kadın, 9'u (%56.25) erkek cinsiyettedir. 20 kişiden oluşan kontrol grubumuzun ise yaş aralığı 28 ile 58 arasında değişmekte olup medyan yaşı 45.7 idi. 8'i (%50) kadın, 12'si (%50) erkek cinsiyettedir.
3. PRA pozitif KBH grubumuz, PRA pozitifliğinin olduğu HLA sınıflarına göre üç gruba ayrılmıştır. PRA pozitifliği %25 ile %100 aralığında olup, PRA Sınıf I pozitif, PRA - Sınıf II pozitif ve hem PRA sınıf I hem de PRA sınıf II pozitif olarak sınıflandırılmıştır.
4. PRA pozitif KBH grubu PRA Sınıflaması sonuçlarında ise hasta grubundaki katılımcıların %25'i PRA Sınıf I, %25'i PRA Sınıf II ve %50'si hem PRA Sınıf I hem de PRA Sınıf II kategorilerde yer aldığı görülmektedir.
5. Çalışmaya dahil edilen olgularda total lenfosit yüzdesinin PRA negatif KBH grubunun ortalamasının PRA pozitif KBH ve kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu

- görülmüştür. Olgü grupları arasındaki total lenfosit hücre yüzdesi değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediğı bulunmuştur ($p=0.473$).
6. $CD3^+CD25^+CD69^+T$ hücre yüzdelерinin ise üç grup arasında benzer sonuçlar verdiği ve istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediğı bulunmuştur ($p=0.264$).
 7. $CD3^+CD69^+T$ hücre yüzdelерinin ise PRA pozitif KBH grubunun ortalamasının diğer gruplardan daha yüksek olduğu görülmüştür. Ancak bu sonucun istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediğı bulunmuştur ($p=0.181$).
 8. $CD3^+CD25^+T$ hücre yüzdeleri bakımından üç grubun benzer dağılımlar gösterdiği Grupları arasından istatistiki olarak anlamlı bir farklılık göstermediğı bulunmuştur ($p=0.500$).
 9. $HIF-1\alpha^+$ eksprese T hücre yüzdeleri açısından PRA pozitif KBH grubunda daha yüksek bir ortalama belirlenmiştir ancak kontrol grubunda daha düşük bir ortalama olduğu görülmüştür ($P=0.616$).
 10. $CD3^+CD25^+CD69^+HIF-1\alpha^+T$ hücre yüzdelерinin PRA pozitif KBH ve PRA negatif KBH gruplarında birbirine benzer ortalamalara sahip olduğu, kontrol grubunda ise ortalamasının daha düşük olduğu görülmüştür. Çalışma grupları arasında $CD3^+CD25^+CD69^+HIF-1\alpha^+T$ hücre yüzdelерinin istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterdiği ($p=.003$) belirlenmiştir. Gruplar arası farklılık incelendiğinde PRA (+) KBH grubu ile kontrol arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklılaştığı belirlenmiştir ($p=.002$).
 11. Total lenfosit hücre yüzdesi, $CD3^+CD25^+T$ hücre yüzdesinin, $HIF-1\alpha$ eksprese eden T hücre yüzdesi, $HIF-1\alpha$ gen ekspresyon düzeylerinin ise cinsiyete göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklılaşmadığı belirlenmiştir.
 12. Gen ifadesi analizi için tüm örneklerin CT değerleri için REST analizi yöntemiyle yaklaşık kat değişimi bulundu. Buna göre PRA pozitif KBH CT kat sayısının 2.19, PRA negative KBH grubunun kat sayısının 1.32, kontrol grubunun kat sayısının ise 1.95 olduğu tespit edilmiştir.

13. HIF-1 α gen ekspresyon seviyeleri PRA pozitif KBH grubunda en yüksek ortalamaya sahip olup, PRA negatif KBH ve kontrol gruplarında kademeli olarak ortalamaların düştüğü gözlenmiştir.
14. Çalışma grupları arasında HIF-1 α gen ekspresyon değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği ($p=.105$) belirlenmiştir.
15. PRA pozitif KBH grubunda CD3⁺CD25⁺CD69⁺HIF-1 α ⁺ T hücre yüzdeleri ve sınıflandırılmalarına göre PRA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p=.018$). Diğer hücre yüzdeleri arasında ise anlamlı fark tespit edilmemiştir. Farklılığın kaynağını tespit etmek için gruplararası karşılaştırmalar yapılmış ve PRA Sınıf I grubu ile PRA Sınıf I & PRA Sınıf II arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p=.038$). PRA Sınıf I & PRA Sınıf II sıra ortalamasının PRA Sınıf I grubunun sıra ortalamasından daha yüksek olduğu belirlenmiştir.
16. HIF-1 α gen ekspresyonu ile hücre yüzdeleri arasında Spearman korelasyon analizine göre anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p>0.05$). En güçlü negatif korelasyon, CD3⁺CD25⁺ değişkeni ile gözlemlenmiş olup, bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildir; $r_s=-.393$, $r_s=-.393$, $r_s=-.393$, $p=.086$ $p=.086$ $p=.086$. Diğer hücre yüzdeleriyle olan korelasyonlar ise oldukça düşük seviyelerde kalmıştır ve istatistiksel olarak anlamlı değildir.
17. Çalışmaya dahil edilen tüm gruplar için HIF-1 α gen ekspresyonu ile HIF-1 α ⁺ ifade eden T hücre yüzdeleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır ($p > .05$).

Çalışmamızdaki kısıtlayıcı unsurlarımız; kısıtlı zaman ve mali imkanlar nedeniyle KBH'larında HIF-1 α 'nın immün hücrelerdeki rolünün genel olarak aktive olmuş T hücre gruplarında değerlendirilebilmiş olmasıdır. Gelecekteki çalışmalarda daha büyük sayıda örneklem büyüklüğü ile HIF-1 α 'nın bağışıklık yanıtı üzerindeki etkilerini spesifik ve kontrollü bir incelenmesi için T hücre alt tiplerindeki (örn: Th1, Th17, Treg) rolünün ayrı ayrı incelenmesi ile nakil bekleyen kronik böbrek hastalarında inflamasyon sürecindeki rolünün daha net bir şekilde açıklığa kavuşturulacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. B cell activation and antibody production. In: Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, eds. Cellular and molecular immunology. 7th ed. Philadelphia, USA: Elsevier Saunders; 2012, p:243-68.

Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Cellular and Molecular Immunology. 10 st ed. Canada: Elsevier Inc; 2016, p:29-31.

Abbas K, Aziz T, Musharaf W, Mubarak M, Zafar MN. Impact of pre-transplant donor-specific antibodies detected by Luminex with negative microlymphocytotoxicity assay and flow crossmatch in live-related renal transplant recipients. Clin Transplant. 2023;37: e14935.

Abbott RK, Thayer M, Labuda J, Silva M, Philbrook P, Cain DW, Kojima H, Hatfield S, Sethumadhavan S, Ohta A, Reinherz EL, Kelsoe G, Sitkovsky M. Germinal Center Hypoxia Potentiates Immunoglobulin Class Switch Recombination. J Immunol. 2016;197: 4014-4020.

Abu Jawdeh BG, Cuffy MC, Alloway RR, Shields AR, Woodle ES. Desensitization in kidney transplantation: review and future perspectives. Clin Transplant. 2014;28: 494-507.

Adamczyk M, Bartosińska J, Raczkiwicz D, Kowal M, Surdacka A, Krasowska D, Michalak-Stoma A, Krasowska D. The Expression of Activation Markers CD25 and CD69 Increases during Biologic Treatment of Psoriasis. J Clin Med. 2023;12: 6573.

Albadari N, Deng S, Li W. The transcriptional factors HIF-1 and HIF-2 and their novel inhibitors in cancer therapy. Expert Opin Drug Discov. 2019;14: 667-682.

Alelign T, Ahmed MM, Bobosha K, Tadesse Y, Howe R, Petros B. Kidney Transplantation: The Challenge of Human Leukocyte Antigen and Its Therapeutic Strategies. J Immunol Res. 2018;5: 986740.

Althaf MM, El Kossi M, Jin JK, Sharma A, Halawa AM. Human leukocyte antigen typing and crossmatch: A comprehensive review. World J Transplant. 2017;7: 339-348.

Ameur RF, Berkani LM, Belaid B, Habchi K, Saidani M, Djidjik R. Luminex Crossmatch in kidney transplantation. *Scand J Immunol.* 2023;98: e13279.

Andrassy KM. Comments on 'KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease'. *Kidney Int.* 2013;84: 622-623.

Andreoli MCC, Totoli C. Peritoneal Dialysis. *Rev Assoc Med Bras* (1992). 2020;66: 37-44.

Andris F, Leo O. AMPK in lymphocyte metabolism and function. *International reviews of immunology.* 2015;34: 67–81.

Ankit M, Thapa S, Latha J. Renal Transplantasyon İçin Luminex Tabanlı Donör Spesifik Antikor Çapraz Eşleştirmesi: Güney Hindistan'da 3 Yıllık Deneyim. *Global Transfüzyon Tıbbi Dergisi.*2018;3: 34-38.

Annunziato F, Romagnani C, Romagnani S. The 3 major types of innate and adaptive cell-mediated effector immunity. *J Allergy Clin Immunol.* 2015;135: 626–35.

Anwar IJ, Jackson AM, Locke JE, Kwun J. Editorial: Sensitization and Desensitization in Organ Transplantation. *Front Immunol.* 2021;12: 784472.

Asma A, Dipankar N. T Cell Activation and Function: Role of Signal Strength. 2011;5: 75-105.

Atmaca HU, Oğuz O. Erken Evre Böbrek Yetmezliğinde Hipoksi İndüklenebilir Faktör-1 Alfa'nın Rolü ve Biyokimyasal ve İnflamatuar Parametrelerle İlişkisi. *İstanbul Med J.* 2019;20: 58-62.

Augustine J. Kidney transplant: New opportunities and challenges *Cleve Clin J Med.* 2018;85: 138-144.

Ayhan FY, Ağın H. Transfüzyon İmmünolojisi. *İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hast. Dergisi* 2020;10: 203-9.

Aziz F, Tiwari AK, Patel HV, Chauhan R. Pretransplant histocompatibility testing algorithm: Laboratory and clinical approach in the Indian context. *Indian J. Transplant.* 2021;15: 4–13.

Bachmann S, Le Hir M, Eckardt KU. Co-localization of erythropoietin mRNA and ecto-5'-nucleotidase immunoreactivity in peritubular cells of rat renal cortex indicates that fibroblasts produce erythropoietin. *J Histochem Cytochem.* 1993;41: 3353-41.

Bae S, McAdams-DeMarco MA, Massie AB, Garonzik-Wang JM, Coresh J, Segev DL. Panel-reactive Antibody and the Association of Early Steroid Withdrawal with Kidney Transplant Outcomes. *Transplantation.* 2022;106: 648-656.

Barker CF, Markmann JF. Historical overview of transplantation. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2013;3: 014977.

Basso PJ, Andrade-Oliveira V, Câmara NOS. Targeting immune cell metabolism in kidney diseases. *Nature reviews. Nephrology,* 2021;1: 465–480.

Beaudry M, Hidalgo M, Launay T, Bello V, Darribere T. Hypoxia Mimetic Agents for Ischemic Stroke. *Front. Cell Dev. Biol.* 2019;6: 2018.

Bessho R, Takiyama Y, Takiyama T, Kitsunai H, Takeda Y, Sakagami H, Ota T. Hypoxia-inducible factor-1 α is the therapeutic target of the SGLT2 inhibitor for diabetic nephropathy. *Sci Rep.* 2019;9: 14754.

Best JA, Blair DA, Knell J, Yang E, Mayya V, Doedens A, Dustin ML, Goldrath AW. Transcriptional insights into the CD8⁺ T cell response to infection and memory T cell formation. *Nature Immunology.* 2013;14: 404-412.

Bhaskaran MC, Heidt S, Muthukumar T. Principles of Virtual Crossmatch Testing for Kidney Transplantation. *Kidney Int Rep.* 2022;7: 1179-1188.

Bhoopalan SV, Huang LJ, Weiss MJ. Erythropoietin regulation of red blood cell production: from bench to bedside and back. *F1000Res.* 2020;9: F1000 Faculty Rev-1153.

Billen EV, Voorter CE, Christiaans MH, van den Berg-Loonen EM. Luminex donor-specific crossmatches. *Tissue Antigens.* 2008;71: 507-513.

Bittner H, Dunitz J, Hertz M, Bolman M, Park S. Hyperacute Rejection In Single Lung Transplantation—Case Report Of Successful Management Using Plasmapheresis And Antithymocyte Globulin Treatment. *Transplantation* 2001; 71: 649-651.

Bodmer WF. HLA: What's in the name? A commentary on HLA nomenclature development over the years. *Tissue Antigens*. 1997;49: 293-296.

Boix F, Jimenez-Coll V, Legaz I, Alfaro R, Moya-Quiles MR, Peña-Moral J, Minguela A, Llorente S, Muro M. Higher Expression of Activated CD8⁺ T Lymphocytes (CD8⁺CD25⁺, CD8⁺CD69⁺, and CD8⁺CD95⁺) Mediate Early Post-Transplant Acute Tubular Injury in Kidney Recipients. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2023;28: 119.

Boom R, Sol CJA, Salimans MMM, Jansen CL, Dillen PMEW, Noordaa J van der. A rapid and simple method for the purification of nucleic acids. *J. Clin. Microbiol*. 1990;28: 495–503.

Bosco MC, Puppo M, Blengio F, Fraone T, Cappello P, Giovarelli M, Varesio L. Monocytes and dendritic cells in a hypoxic environment: Spotlights on chemotaxis and migration. *Immunobiology*. 2008;213: 733-749.

Braschi B, Denny P, Gray K, Jones T, Seal R, Tweedie S, Yates B, Bruford E. Genenames.org: the HGNC and VGNC resources in 2019. *Nucleic Acids Res*. 2019;47: 786-792.

Brownlie RJ, Zamoyska R. T cell receptor signaling networks: branched, diversified and bounded. *Nat Rev Immunol*. 2013;13: 257-269.

Bunce M, O'Neill CM, Barnardo MC, Krause P, Browning MJ, Morris PJ, Welsh KI. Prototyping: comprehensive DNA typing for HLA-A, B, C, DRB1, DRB3, DRB4, DRB5 & DQB1 by PCR with 144 primer mixes utilizing sequence-specific primers (PCR-SSP). *Tissue Antigens*. 1995;46: 355-67.

Calapoğlu NŞ. Hipoksiye Karşı Hücrel Cevabın Düzenleyicisi: HIF-1 Regulator of Cellular Response to Hypoxia. *Smyrna Tıp Dergisi*. 2016;9: 48.

Canki E, Kho E, Hoenderop JGJ. Urinary biomarkers in kidney disease. *Clinica Chimica Acta*. 2024;555: 117-798.

Cantrell D. T cell antigen receptor signal transduction pathways. *Annu Rev Immunol*. 1996;14: 259-274.

Cantrell DA. T-cell antigen receptor signal transduction. *Immunology*. 2002;10: 369-374.

Carmeliet P, Dor Y, Herbert JM, Fukumura D, Brusselmans K, Dewerchin M, Neeman M, Bono F, Abramovitch R, Maxwell P, Koch CJ, Ratcliffe P, Moons L, Jain RK, Collen D, Keshert E. Role of HIF-1 α in hypoxia-mediated apoptosis, cell proliferation, and tumor angiogenesis. *Nature*. 1998;394: 485-90.

Caro-Oleas JL, González-Escribano MF, Toro-Llamas S, Acevedo MJ, Martinez-Bravo MJ, Aguilera I, Núñez-Roldán A. Donor-specific antibody detection: comparison of single antigen assay and Luminex crossmatches. *Tissue Antigens*. 2010;76: 398-403.

Cecka JM. Calculated PRA (CPRA): the new measure of sensitization for transplant candidates. *Am J Transplant*. 2010;10: 26–29.

Cerychova R, Pavlinkova G. HIF-1, Metabolism, and Diabetes in the Embryonic and Adult Heart. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018; 1:460.

Chandran S, Mannon R. T cell-mediated rejection in kidney transplant recipients: The end(point) is also the beginning. *American Journal of Transplantation*. 2022; 22.

Chee RE. Histocompatibility testing. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2002;33: 112-114.

Cheigh JS, Chami J, Stenzel KH, Riggio RR, Saal S, Mouradian JA, Fotino M, Stubenbord WT, Rubin AL. Renal transplantation between HLA identical siblings. Comparison with transplants from HLA semi-identical related donors. *N Engl J Med*. 1977;296: 1030.

Chen C, Pore N, Behrooz A, Ismail-Beigi F, Maity A. Regulation of glut1 mRNA by hypoxia-inducible factor-1. Interaction between H-ras and hypoxia. *J Biol Chem*. 2001;276: 9519-9525.

Chen N, Hao C, Peng X, Lin H, Yin A, Hao L, Tao Y, Liang X, Liu Z, Xing C, Chen J, Luo L, Zuo L, Liao Y, Liu BC, Leong R, Wang C, Liu C, Neff T, Szczech L, Yu KP. Roxadustat for Anemia in Patients with Kidney Disease Not Receiving Dialysis. *N Engl J Med*. 2019;381: 1001-1010.

Chen TK, Hoenig MP, Nitsch D, Grams ME. Advances in the management of chronic kidney disease. *BMJ*. 2023;383: e074216.

Chen W, Wang J, Wang X, Chang P, Liang M. Knockdown of hypoxia-inducible factor 1- α (HIF1 α) interferes with angiopoietin-like protein 2 (ANGPTL2) to attenuate high glucose-triggered hypoxia/reoxygenation injury in cardiomyocytes. *Bioengineered*. 2022;13: 1476 – 1490.

Cheung J, Zahorowska B, Suranyi M, Wong JKW, Diep J, Spicer ST, Verma ND, Hodgkinson SJ, Hall BM. CD4⁺CD25⁺ T regulatory cells in renal transplantation. *Front Immunol*. 2022;13: 1017683.

Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanatephenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem*. 1987;162: 156-159.

Chowdhry M, Makroo RN, Thakur Y, Sharma V, Singh M, Kumar M. The good, the bad, and the ugly of Luminex donor-specific crossmatch. *HLA*. 2018;91: 501-506.

Cirillo F, Mangiavini L, La Rocca P, Piccoli M, Ghiroldi A, Rota P, Tarantino A, Canciani B, Coviello S, Messina C, Ciconte G, Pappone C, Peretti GM, Anastasia L. Human Sarcopenic Myoblasts Can Be Rescued by Pharmacological Reactivation of HIF-1 α . *Int J Mol Sci*. 2022;23: 7114.

Claas FH, Roelen DL, Oudshoorn M, Doxiadis II. Future HLA matching strategies in clinical transplantation. *Dev Ophthalmol*. 2003;36: 62-73.

Clever D, Roychoudhuri R, Constantinides MG, Askenase MH, Sukumar M, Klebanoff CA, Eil RL, Hickman HD, Yu Z, Pan JH, Palmer DC, Phan AT, Goulding J, Gattinoni L, Goldrath AW, Belkaid Y, Restifo NP. Oxygen Sensing by T Cells Establishes an Immunologically Tolerant Metastatic Niche. *Cell*. 2016;166: 1117-1131.

Colletti L, Johnson K, Kunkel, Merion R. Mechanisms of hyperacute rejection in porcine liver transplantation. Antibody-mediated endothelial injury. *Transplantation*. 1994;57: 1357-1363.

Colombo MB, Haworth SE, Poli F, Nocco A, Puglisi G, Innocenti A, Serafini M, Messa P, Scalamogna M. Luminex technology for anti-HLA antibody screening: evaluation of performance and impact on laboratory routine. *Cytometry B Clin Cytom*. 2007;72: 465-471.

Colvin RB, Cohen AH, Saiontz C, Bonsib S, Buick M, Burke B, Carter S, Cavallo T, Haas M, Lindblad A, Manivel JC, Nast CC, Salomon D, Weaver C, Weiss M. Evaluation of pathologic criteria for acute renal allograft rejection: reproducibility, sensitivity, and clinical correlation. *J Am Soc Nephrol.* 1997;8: 1930-41.

Colvin RB, Smith RN. Antibody-mediated organ-allograft rejection. *Nat Rev Immunol.* 2005;5: 807-817.

Coresh J, Selvin E, Lesley A, Stevens LA, Manzi J, Kusek JW, Eggers P, Lente FV, Levey AS. Prevalence of chronic kidney disease in the United States. *JAMA.* 2007;298: 2038-47.

Cramer T, Yamanishi Y, Clausen BE, Forster I, Pawlinski R, Mackman N, Haase VH, Jaenisch R, Corr, M, Nizet V. HIF-1 α is essential for myeloid cell-mediated inflammation. *Cell.* 2003;11: 645–657.

Cummins EP, Keogh CE, Crean D, Taylor CT. The role of HIF in immunity and inflammation. *Mol Aspects Med.* 2016 Feb-Mar;47-48:24-34.

Dalva K, Beksac M. HLA typing with sequence-specific oligonucleotide primed PCR (PCR-SSO) and use of the Luminex™ technology. *Methods Mol Biol.* 2014;1109: 87-99.

Dang EV, Barbi J, Yang HY, Jinasena D, Yu H, Zheng Y, Bordman Z, Fu J, Kim Y, Yen HR, Luo W, Zeller K, Shimoda L, Topalian SL, Semenza GL, Dang CV, Pardoll DM, Pan F. Control of T(H)17/T(reg) balance by hypoxia-inducible factor 1. *Cell.* 2011;146: 772-784.

Daniels G, Reid ME. Blood groups: the past 50 years. *Transfusion* 2010; 50: 281-289.

Dash SC, Nair R, Behera V. Kidney transplantation: The journey across a century. *Medical Journal Armed Forces India.* 2023;79: 631-637.

Dausset J. Iso-leuco-anticorps [Iso-leuko-antibodies]. *Acta Haematol.* 1958;20: 156-66.

David-Neto E, Souza PS, Panajotopoulos N, Rodrigues H, Ventura CG, David DS, Lemos FB, Agena F, Nahas WC, Kalil JE, Castro MC. The impact of pretransplant donor-specific antibodies on graft outcome in renal transplantation: a six-year follow-up study. *Clinics (Sao Paulo).* 2012;67: 355-361.

Dehn J, Spellman S, Hurley CK, Shaw BE, Barker JN, Burns LJ, Confer DL, Eapen M, FernandezVina M, Hartzman R, Maiers M, Marino SR, Mueller C, Perales MA, Rajalingam R, Pidala J. Selection of unrelated donors and cord blood units for hematopoietic cell transplantation: guidelines from the NMDP/CIBMTR. *Blood*. 2019;134: 924-934.

Delves PJ, Roitt IM. The immune system. Second of two parts. *N Engl J Med*. 2000;343: 108-117.

Dendrou CA, Petersen J, Rossjohn J, Fugger L. HLA variation and disease. *Nat Rev Immunol*. 2018;18: 325-339.

Deng B, Zhu JM, Wang Y, Liu TT, Ding YB, Xiao WM, Lu GT, Bo P, Shen XZ. Intratumor hypoxia promotes immune tolerance by inducing regulatory T cells via TGF- β 1 in gastric cancer. *PLoS ONE*. 2013;8: e6377.

Diniz G, Tugmen C, Sert, İ. Organ Transplantation in the Turkey and the World. *Anatol J Med*. 2019;29: 1-10.

Doedens AL, Phan AT, Stradner MH, Fujimoto JK, Nguyen JV, Yang E, Johnson RS, and Goldrath AW. Hypoxia-inducible factors enhance the effector responses of CD8(+) T cells to persistent antigen. *Nat. Immunol*. 2013;14: 1173–1182.

Downing J. The lymphocyte crossmatch by flow cytometry for kidney transplantation. *Methods Mol Biol*. 2012;882: 379-390.

Dragun D, Hoff U, Park JK, Qun Y, Schneider W, Luft FC, Haller H. Ischemia-reperfusion injury in renal transplantation is independent of the immunologic background. *Kidney Int*. 2000;58: 2166-2177.

Duan C. Hypoxia-inducible factor 3 biology: complexities and emerging themes. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2016;310: 260-269.

Duette G, Pereyra Gerber P, Rubione J, Perez PS, Landay AL, Crowe SM, Liao Z, Witwer KW, Holgado MP, Salido J, Geffner J, Sued O, Palmer CS, Ostrowski M. Induction of HIF-1 α by HIV-1 Infection in CD4⁺ T Cells Promotes Viral Replication and Drives Extracellular Vesicle-Mediated Inflammation. *mBio*. 2018;9: e00757-18.

Dunckley G. HLA typing by SSO and SSP methods. *Methods Mol Biol.* 2012;882: 9-25.

Dunlap GS, DiToro D, Henderson J, Shah SI, Manos M, Severgnini M, Weins A, Guleria I, Ott PA, Murakami N, Rao DA. Clonal dynamics of alloreactive T cells in kidney allograft rejection after anti-PD-1 therapy. *Nat Commun.* 2023;14: 1549.

Edgerly CH, Weimer ET. The Past, Present, and Future of HLA Typing in Transplantation. *Methods Mol Biol.* 2018;1802: 1-10.

Elia AR, Cappello P, Puppo M, Fraone T, Vanni C, Eva A, Musso T, Novelli F, Varesio L, Giovarelli M. Human dendritic cells differentiated in hypoxia down-modulate antigen uptake and change their chemokine expression profile. *J Leukoc Biol.* 2008 ;84: 1472-1482.

Eng HS, Bennett G, Bardy P, Coghlan P, Russ GR, Coates PT. Clinical significance of anti-HLA antibodies detected by Luminex: enhancing the interpretation of CDC-BXM and important post-transplantation monitoring tools. *Hum Immunol.* 2009;70: 595-599.

Etxebarria A, Díez-Martín E, Astigarraga E, Barreda-Gómez G. Role of the Immune System in Renal Transplantation, Types of Response, Technical Approaches and Current Challenges. *Immuno.* 2022;2: 548-570.

Faivre A, de Seigneux S. The role of hypoxia in chronic kidney disease: a nuanced perspective. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2024;33: 414-419.

Faivre A, Dissard R, Kuo W, Verissimo T, Legouis D, Arnoux G, Heckenmeyer C, Fernandez M, Tihy M, Rajaram RD, Delitsikou V, Le NA, Spingler B, Mueller B, Shulz G, Lindenmeyer M, Cohen C, Rutkowski JM, Moll S, Scholz CC, Kurtcuoglu V, de Seigneux S. Evolution of hypoxia and hypoxia-inducible factor asparaginyl hydroxylase regulation in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant.* 2023;38: 2276-2288.

Fang Y, Yu X, Liu Y, Kriegel AJ, Heng Y, Xu X, Liang M, Ding X. miR-29c is downregulated in renal interstitial fibrosis in humans and rats and restored by HIF- α activation. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2013;304: 1274-1282.

Fidler S. Crossmatching by complement-dependent lymphocytotoxicity. *Methods Mol Biol.* 2012;882: 359-377.

Fine LG, Bandyopadhyay D, Norman JT. Is there a common mechanism for the progression of different types of renal diseases other than proteinuria? Towards the unifying theme of chronic hypoxia. *Kidney Int Suppl* 2000;75: 22-26.

Finlay DK, Rosenzweig E, Sinclair LV, Feijoo-Carnero C, Hukelmann JL, Rolf J, Panteleyev AA, Okkenhaug K, Cantrell DA. PDK1 regulation of mTOR and hypoxia-inducible factor 1 integrate metabolism and migration of CD8⁺ T cells. *J Exp Med*. 2012;209: 2441-2453.

Flück K, Breves G, Fandrey J, Winning S. Hypoxia-inducible factor 1 in dendritic cells is crucial for activating protective regulatory T cells in murine colitis. *Mucosal Immunol*. 2016;9: 379-390.

Foresto-Neto O, da Silva ARPA, Cipelli M, Santana-Novelli FPR, Camara NOS. The impact of hypoxia-inducible factors in the pathogenesis of kidney diseases: a link through cell metabolism. *Kidney Res Clin Pract*. 2023;42: 561-578.

Gaiffe E, Colladant M, Desmaret M, Jamal Bamoulid J, Leroux F, Laheurte C, Brouard S, Giral M, Saas P, Courivaud C, Degauque N, Ducloux D. Pre-transplant immune profile defined by principal component analysis predicts acute rejection after kidney transplantation. *Front. Immunol*. 2023;14: 119-244.

Gebel HM, Lebeck LK. Crossmatch procedures used in organ transplantation. *Clin Lab Med*. 1991;11: 603-20.

Georgios A, Georgios V. *Intraoperative Flow Cytometry*. 1st ed. Alanya: Springer; 2023, pp 9–31.

Giacoman SL, Magdalena Madero M. Biomarkers in chronic kidney disease, from kidney function to kidney damage. *World J Nephrol*. 2015;4: 57–73.

Gibney GT, Weiner LM, Atkins MB. Predictive biomarkers for checkpoint inhibitor-based immunotherapy. *Lancet Oncol*. 2016;17: 542-551.

Goldsby RA, Kindt TJ, Osborne BA, Kuby J. *Immunology*. 5th ed. Mc Graw Hill. 2003;171–94.

Gorer PA. The detection of antigenic differences in mouse erythrocytes by employing immune sera. *Br. J. Exp. Pathol.* 1936;17: 42–50.

Graav GN, Dieterich M, Hesselink DA, Boer K, Clahsen-van Groningen MC, Kraaijeveld R., Litjens NH, Bouamar R, Vanderlocht J, Tilanus M, Houba I, Boonstra A, Roelen DL, Claas FH, Betjes MG, Weimar W, Baan CC. Follicular T helper cells and humoral reactivity in kidney transplant patients. *Clinical and experimental immunology.* 2015;180: 329–340.

Gramlick ME, Trevillian P, Palazzi KL, Heer MK. Time to Move on: HLA Matching Should Be Reconsidered in Modern Deceased Donor Kidney Allocation. *Transplant Direct.* 2022;8: e1295.

Guo A, Wang W, Shi H, Wang J, Liu T. Identification of Hub Genes and Pathways in a Rat Model of Renal Ischemia-Reperfusion Injury Using Bioinformatics Analysis of the Gene Expression Omnibus (GEO) Dataset and Integration of Gene Expression Profiles. *Med Sci Monit.* 2019;25: 8403-8411.

Haas M, Loupy A, Lefaucheur C, Roufosse C, Glotz D, Seron D, Nankivell BJ, Halloran PF, Colvin RB, Akalin E, Alachkar N, Bagnasco S, Bouatou Y, Becker JU, Cornell LD, Duong van Huyen JP, Gibson IW, Kraus ES, Mannon RB, Naesens M, Nickeleit V, Nickerson P, Segev DL, Singh HK, Stegall M, Randhawa P, Racusen L, Solez K, Mengel M. The Banff 2017 Kidney Meeting Report: Revised diagnostic criteria for chronic active T cell-mediated rejection, antibody-mediated rejection, and prospects for integrative endpoints for next-generation clinical trials. *Am J Transplant.* 2018;18: 293-307.

Haase VH. Regulation of erythropoiesis by hypoxia-inducible factors. *Blood Rev.* 2013;27: 41-53.

Habas E, Habas A, Elgamal M, Shraim B, Moursi M, Ibrahim A, Danjuma M, Elzouki AN. Common complications of hemodialysis: A clinical review. *Ibnosina Journal of Medicine and Biomedical Sciences* 2021;13: 161-172.

Hafeez MS, Awais SB, Razvi M, Bangash MH, Hsiou DA, Malik TH, Haq MU, Awan AAY, Rana AA. HLA mismatch is important for 20-year graft survival in kidney transplant patients. *Transpl Immunol.* 2023;80: 101861.

Han HS, Lubetzky ML. Immune monitoring of allograft status in kidney transplant recipients. *Front Nephrol*. 2023;3: 1293907.

Hanna C, Hubchak SC, Liang X, Rozen-Zvi B, Schumacker PT, Hayashida T, Schnaper HW. Hypoxia-inducible factor-2 α and TGF- β signaling interact to promote normoxic glomerular fibrogenesis. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2013;305: 1323-1331.

Hariharan S, Johnson CP, Bresnahan BA, Taranto SE, McIntosh MJ, Stablein D. Improved graft survival after renal transplantation in the United States, 1988 to 1996. *N Engl J Med*. 2000;342: 605-12.

Harris TJ, Grosso JF, Yen HR, Xin H, Kortylewski M, Albesiano E, Hipkiss EL, Getnet D, Goldberg MV, Maris CH, Housseau F, Yu H, Pardoll DM, Drake CG. Cutting edge: An in vivo requirement for STAT3 signaling in TH17 development and TH17-dependent autoimmunity. *J Immunol*. 2007;179: 4313-4317.

Hart A, Smith JM, Skeans MA, Gustafson SK, Stewart DE, Cherikh WS, Wainright JL, Kucheryavaya A, Woodbury M, Snyder JJ, Kasiske BL, Israni AK. OPTN/SRTR 2015 Annual Data Report: Kidney. *Am J Transplant*. 2017;17: 21-116.

Henry DH, Glaspy J, Harrup R, Mittelman M, Zhou A, Carraway HE, Bradley C, Saha G, Modelska K, Bartels P, Leong R, Yu KP. Roxadustat for the treatment of anemia in patients with lower-risk myelodysplastic syndrome: Open-label, dose-selection, lead-in stage of a phase 3 study. *Am J Hematol*. 2022;97: 174-184.

Higgins DF, Kimura K, Bernhardt WM., Shrimanker N, Akai Y, Hohenstein B, Saito Y, Johnson RS, Kretzler M, Cohen CD, Eckardt KU, Iwano M, Haase VH. Hypoxia promotes fibrogenesis in vivo via HIF-1 stimulation of epithelial-to-mesenchymal transition. *The Journal of clinical investigation*. 2007;117: 3810–3820.

Higgins RM, Bevan DJ, Carey BS, Lea CK, Fallon M, Bühler R, Vaughan RW, O'Donnell PJ, Snowden SA, Bewick M, Hendry BM. Prevention of hyperacute rejection by removal of antibodies to HLA immediately before renal transplantation. *Lancet*. 1996;348: 1208-11.

Ho J, Okoli G, Rabbani R, Lam O, Reddy V, Askin N, Rampersad C, Trachtenberg A, Wiebe C, Nickerson, P, Abou-Setta A. Effectiveness of T cell–mediated rejection therapy:

A systematic review and meta-analysis. *American Journal of Transplantation*. 2021;22: 772 - 785.

Holmquist-Mengelbier L, Fredlund E, Löfstedt T, Noguera R, Navarro S, Nilsson H, Pietras A, Vallon-Christersson J, Borg A, Gradin K, Poellinger L, Pålman S. Recruitment of HIF-1 α and HIF-2 α to common target genes is differentially regulated in neuroblastoma: HIF-2 α promotes an aggressive phenotype. *Cancer Cell*. 2006;10: 413-423.

Holt SG, Kotagiri P, Hogan C, Hughes P, Masterson R. The potential role of antibodies against minor blood group antigens in renal transplantation. *Transpl Int*. 2020;33:841-848.

Hoppe B, Heymann GA, Kiesewetter H, Salama A. Identification and characterization of a novel HLA-DRB1 allele, DRB1*0830*. *Tissue Antigens*. 2005;66: 160-162.

Howell WM, Carter V, Clark B. The HLA system: immunobiology, HLA typing, antibody screening and crossmatching techniques. *J Clin Pathol*. 2010;63: 387–390.

Hu CJ, Wang LY, Chodosh LA, Keith B, Simon MC. Differential roles of hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α) and HIF-2 α in hypoxic gene regulation. *Mol Cell Biol*. 2003;23: 9361-9374.

Hu J, Wang W, Zhang F. Hypoxia inducible factor-1 α mediates the profibrotic effect of albumin in renal tubular cells. *Sci Rep*. 2017;7: 15878.

Hu X, Gan L, Tang Z, Lin R, Liang Z, Li F, Zhu C, Han X, Zheng R, Shen J, Yu J, Luo N, Peng W, Tan J, Li X, Fan J, Wen Q, Wang X, Li J, Zheng X, Liu Q, Guo J, Shi GP, Mao H, Chen W, Yin S, Zhou Y. A Natural Small Molecule Mitigates Kidney Fibrosis by Targeting Cdc42-mediated GSK-3 β / β -catenin Signaling. *Adv Sci (Weinh)*. 2024 ;11: e2307850.

Hueso M, Mestre M, Benavente Y, Bas J, Grinyó JM, Navarro E. Pretransplant low CD3+CD25 high cell counts or a low CD3+CD25high/CD3+HLA-DR+ ratio are associated with an increased risk to acute renal allograft rejection. *Transplantation*. 2011;92: 536-42.

Hung TW, Liou JH, Yeh KT, Tsai JP, Wu SW, Tai HC, Kao WT, Lin SH, Cheng YW, Chang HR. Renal expression of hypoxia inducible factor-1 α in patients with chronic

kidney disease: a clinicopathologic study from nephrectomized kidneys. *Indian J Med Res.* 2013;137: 102-10.

Hurley CK. Naming HLA diversity: A review of HLA nomenclature. *Hum Immunol.* 2021;82: 457-465.

Hwang JR, Byeon Y, Kim D, Park SG. Recent insights of T cell receptor-mediated signaling pathways for T cell activation and development. *Exp Mol Med.* 2020;52: 750-761.

Imboden JB, Stobo JD. Transmembrane signalling by the T cell antigen receptor. Perturbation of the T3-antigen receptor complex generates inositol phosphates and releases calcium ions from intracellular stores. *J Exp Med.* 1985;161 :446-56.

Imtiyaz HZ, Williams EP, Hickey MM, Patel SA, Durham AC, Yuan LJ, Hammond R, Gimotty PA, Keith B, Simon MC. Hypoxia-inducible factor 2alpha regulates macrophage function in mouse models of acute and tumor inflammation. *J Clin Invest.* 2010;120: 2699-2714.

Irving BA, Weiss A. The cytoplasmic domain of the T cell receptor zeta chain is sufficient to couple to receptor-associated signal transduction pathways. *Cell.* 1991;64: 891-901.

Isaacs JS, Jung YJ, Mimnaugh EG, Martinez A, Cuttitta F, Neckers LM. Hsp90 regulates a von Hippel Lindau-independent hypoxia-inducible factor-1 alpha-degradative pathway. *J Biol Chem.* 2002;277: 29936-29944.

Izzo JL Jr, Weir MR. Angiotensin-converting enzyme inhibitors. *J Clin Hypertens (Greenwich).* 2011;13: 667-75.

Jang JY, Kim YJ, Kim Y, Park YJ, Han K, Oh EJ. Application of calculated panel reactive antibody using HLA frequencies in Koreans. *Ann Lab Med.* 2012;32: 66-72.

Jankowska-Gan E, Sheka A, Sollinger HW, Pirsch JD, Hofmann RM, Haynes LD, Armbrust MJ, Mezhich JD, Burlingham WJ. Pretransplant immune regulation predicts allograft outcome: bidirectional regulation correlates with excellent renal transplant function in living-related donor-recipient pairs. *Transplantation.* 2012;93: 283-290.

Jantsch J, Chakravorty D, Turza N, Prectel AT, Buchholz B, Gerlach RG, Volke M, Gläsner J, Warnecke C, Wiesener MS, Eckardt KU, Steinkasserer A, Hensel M, Willam C. Hypoxia and hypoxia-inducible factor-1 alpha modulate lipopolysaccharide-induced dendritic cell activation and function. *J Immunol.* 2008;180: 4697-4705.

Jantsch J, Wiese M, Schodel J, Castiglione K, Glasner J, Kolbe S, Mole D, Schleicher U, Eckardt KU, Hensel M. Toll-like receptor activation and hypoxia use distinct signaling pathways to stabilize hypoxia-inducible factor 1a (HIF1A) and result in differential HIF1A-dependent gene expression. *J. Leukoc. Biol.* 2011;90: 551–562.

Jewell UR, Kvietikova I, Scheid A, Bauer C, Wenger RH, Gassmann M. Induction of HIF-1alpha in response to hypoxia is instantaneous. *FASEB J.* 2001;15: 1312-1314.

Jha V, Garcia-Garcia G, Iseki K. Chronic Kidney Disease: Global Dimension and Perspectives. *Lancet.* 2013;382: 260-272.

Jiang N, Zhao H, Han Y, Li L, Xiong S, Zeng L, Xiao Y, Wei L, Xiong X., Gao P, Yang, M, Liu Y, Sun, L. HIF-1 α ameliorates tubular injury in diabetic nephropathy via HO-1-mediated control of mitochondrial dynamics. *Cell proliferation.* 2020; 53; e12909.

Johnson AC, Silva JAF, Kim SC, Larsen CP. Progress in kidney transplantation: The role for systems immunology. *Front Med (Lausanne).* 2022;16: 1070385.

Jonkman I, Jacobs MME, Negishi Y, Yanginlar C, Martens JHA, Baltissen M, Vermeulen M, van den Hoogen MWF, Baas M, van der Vlag J, Fayad ZA, Teunissen AJP, Madsen JC, Ochando J, Joosten LAB, Netea MG, Mulder WJM, Mhlanga MM, Hilbrands LB, Rother N, Duivenvoorden R. Trained immunity suppression determines kidney allograft survival. *Am J Transplant.* 2024;24: 2022-2033.

Joosten SA, Sijpkens YW, van Kooten C, Paul LC. Chronic renal allograft rejection: pathophysiologic considerations. *Kidney Int.* 2005;68: 1-13.

Jun JC, Rathore A, Younas H, Gilkes D, Polotsky VY. Hypoxia-Inducible Factors and Cancer. *Curr Sleep Med Rep.* 2017;3: 1-10.

Kakitapalli Y, Ampolu J, Madasu SD, Sai Kumar MLS. Detailed Review of Chronic Kidney Disease. *Kidney Dis (Basel).* 2020;6: 85-91.

Kapitsinou PP, Jaffe J, Michael M, Swan CE, Duffy KJ, Erickson-Miller CL, Haase VH. Preischemic targeting of HIF prolyl hydroxylation inhibits fibrosis associated with acute kidney injury. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2012;302: F1172-9.

Kapitsinou PP, Liu Q, Unger TL, Rha J, Davidoff O, Keith B, Epstein JA, Moores SL, Erickson-Miller CL, Haase VH. Hepatic HIF-2 regulates erythropoietic responses to hypoxia in renal anemia. *Blood*. 2010;116: 3039-48.

Karahan GE, Claas F HJ, Heidt S. Pre-existing Alloreactive T and B Cells and Their Possible Relevance for Pre-Transplant Risk Estimation in Kidney Transplant Recipients. *Front Med (Lausanne)*. 2020;7: 340.

Keith B, Johnson RS, Simon MC. HIF1 α and HIF2 α : sibling rivalry in hypoxic tumour growth and progression. *Nat Rev Cancer*. 2011;12: 9-22.

Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2024 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int*. 2024;105: 117-314.

Kim JJ, Fuggle SV, Marks SD. Does HLA matching matter in the modern era of renal transplantation? *Pediatr Nephrol*. 2021;36: 31-40.

Knoedler L, Dean J, Diatta F, Thompson N, Knoedler S, Rhys R, Sherwani K, Ettl T, Mayer S, Falkner F, Kilian K, Panayi AC, Iske J, Safi AF, Tullius SG, Haykal S, Pomahac B, Kauke-Navarro M. Immune modulation in transplant medicine: a comprehensive review of cell therapy applications and future directions. *Front Immunol*. 2024;8: 1372862.

Knutson AK, Williams AL, Boisvert WA, Shohet RV. HIF in the heart: development, metabolism, ischemia, and atherosclerosis. *J Clin Invest*. 2021;131: e137557.

Kobayashi H, Gilbert V, Liu Q, Kapitsinou PP, Unger TL, Rha J, Rivella S, Schlöndorff D, Haase VH. Myeloid cell-derived hypoxia-inducible factor attenuates inflammation in unilateral ureteral obstruction-induced kidney injury. *J Immunol*. 2012;188: 5106-15.

Kokeza J, Strikic A, Ogorevc M, Kelam N, Vukoja M, Dilber I, Zekic Tomas S. The Effect of GLUT1 and HIF-1 α Expressions on Glucose Uptake and Patient Survival in Non-Small-Cell Lung Carcinoma. *Int J Mol Sci*. 2023;24: 10575.

Kolonko A, Bzoma B, Giza P, Styrc B, Sobolewski M, Chudek J, Dębska-Ślizień A, Więcek A. The Pre-Transplant Drop in Panel-Reactive Antibodies Titer Evaluated Using Complement-Dependent Cytotoxicity (PRA-CDC) and the Risk of Early Acute Rejection in Sensitized Kidney Transplant Recipients. *Medicina (Kaunas)*. 2018;20: 54-66.

Koo TY, Yang J. Current progress in ABO-incompatible kidney transplantation. *Kidney Res Clin Pract*. 2015;34: 170-9.

Kotsch K, Wehling J, Blasczyk R. Sequencing of HLA class II genes based on the conserved diversity of the non-coding regions: sequencing based typing of HLA-DRB genes. *Tissue Antigens*. 1999;53: 486-97.

Kovesdy CP. Epidemiology of chronic kidney disease: an update 2022. *Kidney Int Suppl* 2022;12: 7-11.

Kraus A, Peters DJM, Klanke B, Weidemann A, Willam C, Schley G, Kunzelmann K, Eckardt KU, Buchholz B. HIF-1 α promotes cyst progression in a mouse model of autosomal dominant polycystic kidney disease. *Kidney Int*. 2018;94: 887-899.

Kumar A, Mohiuddin A, Sharma A, El Kosi M, Halawa A. An update on crossmatch techniques in transplantation. *J Kidney*. 2017;3: 1-5.

Kyriakides G, Miller J. Use of cyclosporine in renal transplantation. *Transplantation Proceedings*. 2004;36: 167-172.

Lee JW, Bae SH, Jeong JW, Kim SH, Kim KW. Hypoxia-inducible factor (HIF-1) α : its protein stability and biological functions. *Exp Mol Med*. 2004;36: 1-12.

Legrand M, Mik EG, Johannes T, Payen D, Ince C. Renal hypoxia and dysoxia after reperfusion of the ischemic kidney. *Mol Med*. 2008;14: 502-516.

Levey AS, Coresh J, Balk E, Kausz AT, Levin A, Steffes MW, Hogg RJ, Perrone RD, Lau J, Eknoyan G; National Kidney Foundation. National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Ann Intern Med*. 2003;139: 137-47.

- Li M, Lan J, Dong F, Duan P. Effectiveness of hypoxia-induced factor prolyl hydroxylase inhibitor for managing anemia in chronic kidney disease: a systematic review and meta analysis. *Eur J Clin Pharmacol*. 2021;77: 491-507.
- Li Q, Lan P. Activation of immune signals during organ transplantation. *Signal Transduct Target Ther*. 2023 Mar 11;8(1):110
- Liao HJ, Chu CL, Wang SC, Lee HY, Wu CS. Increased HIF-1 α expression in T cells and associated with enhanced Th17 pathway in systemic lupus erythematosus. *J Formos Med Assoc*. 2022;121: 2446-2456.
- Lieber SR, Perez FV, Tabossi MR, Persoli LB, Marques SB, Mazzali M, Alves-Filho G, de Souza CA. Effect of panel-reactive antibody in predicting crossmatch selection of cadaveric kidney recipients. *Transplant Proc*. 2007;39: 429-317.
- Liikanen I, Lauhan C, Quon S, Omilusik K, Phan AT, Bartrolí LB, Ferry A, Goulding J, Chen J, Scott-Browne JP, Yustein JT, Scharping NE, Witherden DA, Goldrath AW. Hypoxia-inducible factor activity promotes antitumor effector function and tissue residency by CD8⁺ T cells. *J Clin Invest*. 2021;131: e143729.
- Lim W, Chapman, J, Wong, G. Peak Panel Reactive Antibody, Cancer, Graft, and Patient Outcomes in Kidney Transplant Recipients. *Transplantation*. 2015;9: 1043–1050.
- Lisowska KA, Storoniak H, Dębska-Ślizień A. T cell subpopulations and cytokine levels in hemodialysis patients. *Hum Immunol*. 2022;83: 134-143.
- Liu CT, Guo YM, Lee CH. The Effects of Relationship Quality and Switching Barriers on Customer Loyalty. *International Journal of Information Management*. 2011;31: 71-79.
- Liu D, Wang L, Ha W, Li K, Shen R, Wang D. HIF-1 α : A potential therapeutic opportunity in renal fibrosis. *Chem Biol Interact*. 2024;387: 110808.
- Liu H, Li Y, Xiong J. The Role of Hypoxia-Inducible Factor-1 Alpha in Renal Disease. *Molecules*. 2022;27: 7318.
- Liu J, Wei Q, Guo C, Dong G, Liu Y, Tang C, Dong Z. Hypoxia, HIF, and Associated Signaling Networks in Chronic Kidney Disease. *Int J Mol Sci*. 2017;18: 950.

Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{(-Delta Delta C(T))} Method. *Methods*. 2001;25: 402-8.

Lopez-Cepero M. P076 Alloantibody desensitization outcomes: PRA levels, CPRA or antibody titers; how to use them best. *Human Immunology*. 2017;78: 108.

Love PE, Hayes SM. ITAM-mediated signaling by the T-cell antigen receptor. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2010;2: a002485.

Lukashev D, Klebanov B, Kojima H, Grinberg A, Ohta A, Berenfeld L, Wenger RH, Ohta A, Sitkovsky M. Cutting edge: hypoxia-inducible factor 1alpha and its activation-inducible short isoform I.1 negatively regulate functions of CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocytes. *J Immunol*. 2006;177: 4962-4965.

Luo M, Yu L, Xiao L. [Calculated panel reactive antibody method for assessing the probability of kidney recipients to receive transplantation]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2014;34: 477-481.

Luo R, Zhang W, Zhao C, Zhang Y, Wu H, Jin J, Zhang W, Grenz A, Eltzschig HK, Tao L, Kellems RE, Xia Y. Elevated Endothelial Hypoxia-Inducible Factor-1 α Contributes to Glomerular Injury and Promotes Hypertensive Chronic Kidney Disease. *Hypertension*. 2015;66: 75-84.

Lusco MA, Fogo AB, Najafian B, Alpers CE. AJKD Atlas of Renal Pathology: Acute T-Cell-Mediated Rejection. *Am J Kidney Dis*. 2016;67: e29-30.

Luttrupp K, Lindholm B, Carrero JJ, Glorieux G, Schepers E, Vanholder R, Schalling M, Stenvinkel P, Nordfors L. Genetics/Genomics in chronic kidney disease--towards personalized medicine. *Semin Dial*. 2009;22: 417-422.

Maguire O, Tario JD Jr, Shanahan TC, Wallace PK, Minderman H. Flow cytometry and solid organ transplantation: a perfect match. *Immunol Invest*. 2014;43: 756-74.

Mahowald G. The CDC crossmatch in the era of flow cytometric cross-match and single antigen beads *J Bras Nefrol*. 2021;43: 299-300.

Majmundar AJ, Wong WJ, Simon MC. Hypoxia-inducible factors and the response to hypoxic stress. *Mol Cell*. 2010;40: 294-309.

Malinovskaya EM, Ershova ES, Okorokova NA, Vladimir P Veiko, Konkova MS, Kozhina EA, Savinova E, Porokhovnik LN, Kutsev SI, Veiko NN, Kostyuk SV. Ribosomal DNA as DAMPs Signal for MCF7 Cancer Cells. section of the journal *Frontiers in Oncolog.* 2019;10: 3389.

Malissen B, Grégoire C, Malissen M, Roncagalli R. Integrative biology of T cell activation. *Nat Immunol.* 2014;15: 790-797.

Manaski CF, Tambur AR, Gmeiner M. Predicting kidney transplant outcomes with partial knowledge of HLA mismatch. *PNAS.* 2019;116: 20339-2034.

Martínez-Mier G, Vazquez-Creo L, Angeles-Hernández F, Viñas-Dozal J, Moreno-Ley, P, Budar-Fernández L, Méndez-López M, Allende-Castellanos C, Jiménez-López L., Bonilla-Casas E, Paz-Román M, Fuentes-Zamudio E. Effect of Panel-Reactive Antibody on Graft Survival in Living Kidney Donor Transplantation: Analysis of 10 Years in a Transplant Center in Veracruz, Mexico. *Transplantation proceedings.* 2020;52: 1140-1142.

Masoud G, Li W. HIF-1 α pathway: role, regulation and intervention for cancer therapy. *Acta Pharmaceutica Sinica.* 2015;5: 378 - 389.

Matovinović MS. 1. Pathophysiology and Classification of Kidney Diseases. *EJIFCC.* 2009;20: 2-11.

Matsuda Y, Sarwal MM. Unraveling the Role of Allo-Antibodies and Transplant Injury. *Front Immunol.* 2016;1: 432.

Matzaraki V, Kumar V, Wijmenga C, Zhernakova A. The MHC locus and genetic susceptibility to autoimmune and infectious diseases. *Genome Biol.* 2017;18: 76.

Mayer G. Capillary rarefaction, hypoxia, VEGF and angiogenesis in chronic renal disease. *Nephrology, dialysis, transplantation: official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association.* 2011;26: 1132–1137.

McCluskey J, Peh CA. The human leucocyte antigens and clinical medicine: an overview. *Rev Immunogenet.* 1999;1: 3-20.

McGettrick AF, O'Neill LAJ. The Role of HIF in Immunity and Inflammation. *Cell Metab.* 2020;32: 524-536.

McNamee EN, Korn Johnson D, Homann D, Clambey ET. Hypoxia and hypoxia-inducible factors as regulators of T cell development, differentiation, and function. *Immunol Res.* 2013;55: 58-70.

Medhasi S, Chantratita N. Human Leukocyte Antigen (HLA) System: Genetics and Association with Bacterial and Viral Infections. *J Immunol Res.* 2022; 2022: 710376.

Mesquita Júnior D, Araújo JA, Catelan TT, Souza AW, Cruvinel Wde M, Andrade LE, Silva NP. Immune system - part II: basis of the immunological response mediated by T and B lymphocytes. *Rev Bras Reumatol* 2010;50: 552-80.

Michalek RD, Gerriets VA, Jacobs SR, Macintyre AN, MacIver NJ, Mason EF, Sullivan SA, Nichols AG, Rathmell JC. Cutting edge: distinct glycolytic and lipid oxidative metabolic programs are essential for effector and regulatory CD4⁺ T cell subsets. *J Immunol.* 2011;186: 3299-2303.

Miguel V, Rojo A. Hypoxia-Driven Responses in Chronic Kidney Disease. *Oxygen.* 2023;3: 300-321.

Mishra VC, Chandra D, Raina V. Histocompatibility Testing: A Fundamental Aspect of Renal Transplant Workup. *Transplantology.* 2024;5: 85-97.

Monis PT, Giglio S, Saint CP. Comparison of SYTO9 and SYBR Green I for real-time polymerase chain reaction and investigation of the effect of dye concentration on amplification and DNA melting curve analysis. *Analytical biochemistry.* 2005;340: 24-34.

Montgomery RA, Locke JE, King KE, Segev DL, Warren DS, Kraus ES, Cooper M, Simpkins CE, Singer AL, Stewart ZA, Melancon JK, Ratner L, Zachary AA, Haas M. ABO incompatible renal transplantation: a paradigm ready for broad implementation. *Transplantation.* 2009;87: 1246-55.

Montgomery RA, Lonze BE, King KE, Kraus ES, Kucirka LM, Locke JE, Warren DS, Simpkins CE, Dagher NN, Singer AL, Zachary AA, Segev DL. Desensitization in HLA-incompatible kidney recipients and survival. *N Engl J Med.* 2011;365: 318-326.

Moore E, Bellomo R. Erythropoietin (EPO) in acute kidney injury. *Annals of intensive care*. 2011;1: 3.

Mooslechner AA, Schuller M, Pfeifer V, Klötzer KA, Prietl B, Kirsch AH, Stiegler P, Sucher R, Sourij H, Rosenkranz AR, Eller K. Pre-Transplant Frequencies of FoxP3⁺CD25⁺ in CD3⁺CD8⁺ T Cells as Potential Predictors for CMV in CMV-Intermediate Risk Kidney Transplant Recipients. *Transpl Int*. 2024;37: 12963.

Moreau A, Varey E, Anegon I, Cuturi MC. Effector mechanisms of rejection. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2013;3: a015461.

Morris PJ, Johnson RJ, Fuggle SV, Belger MA, Briggs JD. Analysis of factors that affect outcome of primary cadaveric renal transplantation in the UK. HLA Task Force of the Kidney Advisory Group of the United Kingdom Transplant Support Service Authority (UKTSSA). *Lancet*. 1999;354: 1147-1152.

Moszkowska G, Zielińska H, Zieliński M, Gołębiewska J, Bzoma B, Sakowska J, Dębska-Ślizień A, Trzonkowski P. The utility of cytolytic flow cytometry crossmatch before kidney transplantation. *Transpl Immunol*. 2021;68: 101426.

Mukhopadhyay H, de Wet B, Clemens L, Maini PK, Allard J, van der Merwe PA, Dushek O. Multisite Phosphorylation Modulates the T Cell Receptor ζ -Chain Potency but not the Switchlike Response. *Biophys J*. 2016;110: 1896-1906.

Mulley WR, Hudson F, Lee D, Holdsworth RF. Tissue typing for kidney transplantation for the general nephrologist. *Nephrology (Carlton)*. 2019;24 :997-1000.

Murray JE, Tilney NL, Wilson RE. Renal transplantation: A twenty-five-year experience. *Annals of surgery*. 1976;184: 565-73.

Musleh Ud Din S, Streit SG, Huynh BT, Hana C, Abraham AN, Hussein A. Therapeutic Targeting of Hypoxia-Inducible Factors in Cancer. *Int J Mol Sci*. 2024;25: 2060.

Nakamura H, Makino Y, Okamoto K, Poellinger L, Ohnuma K, Morimoto C, Tanaka H. TCR engagement increases hypoxia-inducible factor-1 alpha protein synthesis via rapamycin sensitive pathway under hypoxic conditions in human peripheral T cells. *J. Immunol*. 2005;174: 7592–7599.

Nangaku M. Chronic hypoxia and tubulointerstitial injury: a final common pathway to end-stage renal failure. *J Am Soc Nephrol*. 2006;17: 17-25.

Nankivell BJ, Alexander SI. Rejection of the kidney allograft. *N Engl J Med*. 2010;363: 1451-1462.

Nankivell BJ, Alexander SI. Rejection of the kidney allograft. *N Engl J Med*. 2010;363: 1451-1462.

Nankivell BJ, Alexander SI. Rejection of the kidney allograft. *N Engl J Med*. 2010;363: 1451-1462.

Nizet V, Johnson RS. Interdependence of hypoxic and innate immune responses. *Nat Rev Immunol*. 2009;9: 609–17.

Oh S, Schwartz R, Singh N. Development and Tolerization of Hyperacute Rejection in a Transgenic Mouse Graft Versus Host Model. *Transplantation Journal*. 2012; 94: 234–240.

Olerup O, Zetterquist H. HLA-DR typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours: an alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-recipient matching in cadaveric transplantation. *Tissue Antigens*. 1992;39: 225-35.

Ortiz-Masià D, Díez I, Calatayud S, Hernández C, Cosín-Roger J, Hinojosa J, Esplugues JV, Barrachina MD. Induction of CD36 and thrombospondin-1 in macrophages by hypoxia-inducible factor 1 and its relevance in the inflammatory process. *PLoS One*. 2012;7: 435-485.

Otten HG, Tilanus MG, Barnstijn M, van Heugten JG, de Gast GC. Serology versus PCR-SSP in typing for HLA-DR and HLA-DQ: a practical evaluation. *Tissue Antigens*. 1995;45: 36-40.

Palazon A, Goldrath AW, Nizet V, Johnson RS. HIF transcription factors, inflammation, and immunity. *Immunity*. 2014;41: 518–528.

Pallardó Mateu LM, Sancho Calabuig A, Capdevila Plaza L, Franco Esteve A. Acute rejection and late renal transplant failure: risk factors and prognosis. *Nephrol Dial Transplant*. 2004;3: 38-42.

Palleschi, Giovanni, Valeria Rossi, editors. Chronic Kidney Disease - Novel Insights into Pathophysiology and Treatment. IntechOpen. 2024.

Panackel C, Mathew JF, Fawas N M, Jacob M. Immunosuppressive Drugs in Liver Transplant: An Insight. J Clin Exp Hepatol. 2022;12: 1557-1571.

Parham P. Function and polymorphism of human leukocyte antigen-A, B, C molecules. Am J Med. 1988;85: 2-5.

Park Y, Ko EJ, Chung BH, Yang CW. Kidney transplantation in highly sensitized recipients. Kidney Res Clin Pract. 2021;40: 355-370.

Parmar M. S. Chronic renal disease. BMJ. 2002;13: 85-90.

Patel R, Terasaki PI. Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation. New England Journal of Medicine, 1969;280.14: 735-739.

Peña JR, Fitzpatrick D, Saidman SL. Complement-dependent cytotoxicity crossmatch. Methods Mol Biol. 2013;1034: 257-283.

Pierce SK. Understanding B cell activation: from single molecule tracking, through Tolls, to stalking memory in malaria. Immunol Res. 2009;43: 85-97.

Platt J, Fischel R, Matas A, Reif S, Bolman R, Bach, F. Immunopathology of hyperacute xenograft rejection in a swine-to-primate model. Transplantation. 1991;52: 214-20.

Ponticelli C. The mechanisms of acute transplant rejection were revisited. Journal of nephrology. 2012; 25: 150–158.

Posselt AM, Vincenti F, Bedolli M, Lantz M, Roberts JP, Hirose R. CD69 expression on peripheral CD8 T cells correlates with acute rejection in renal transplant recipients. Transplantation. 2003;76: 190-195.

Prabhakar NR, Semenza GL. Adaptive and maladaptive cardiorespiratory responses to continuous and intermittent hypoxia mediated by hypoxia-inducible factors 1 and 2. Physiol Rev. 2012;92: 967–1003.

Premasathian N, Panorchan K, Vongwiwatana A, Pornpong C, Agadmeck S, Vejbaesya S. The effect of peak and current serum Panel-Reactive Antibody on graft survival, Trans Proceed. 2008;40: 2200-2201.

Pritchett TL, Bader HL, Henderson J, Hsu T. Conditional inactivation of the mouse von Hippel-Lindau tumor suppressor gene results in wide-spread hyperplastic, inflammatory and fibrotic lesions in the kidney. *Oncogene*. 2015;34: 2631-2639.

Putheti P, Liwski RS, Jindra PT. Reducing number of laboratories performing complement dependent cytotoxicity crossmatching: Reasons and conclusions. *Hum Immunol*. 2022;83: 467-475.

Pyram R, Kansara A, Banerji MA, Loney-Hutchinson L. Chronic kidney disease and diabetes. *Maturitas*. 2012;71: 94-103.

Qutub AA, Popel AS. Reactive oxygen species regulate hypoxia-inducible factor 1alpha differentially in cancer and ischemia. *Mol Cell Biol*. 2008;28: 5106-5119

Ramos LA, Schiavo T, Montagner J, Bundcher C, Kist R, Garcia VD, Neumann J, Keitel E. Waiting time for kidney transplantation based on calculated panel reactive antibodies: experience of a southern Brazilian center. *Jornal brasileiro de nefrologia*. 2024;46: 79–84.

Ravindranath MH, Ravindranath NM, Amato-Menker CJ. Luminex Multiplex Bead Assay Monitoring HLA IgG Antibodies in Sensitized Pre- and Post-Transplant Patients: Clonality of the Detection Antibody Impacts Specificity and Sensitivity. *Applied Sciences*. 2021;11: 6430.

Redfield RR, Scalea JR, Zens TJ, Mandelbrot DA, Levenson G, Kaufman DB, Djamali A, the mode of sensitization and its influence on allograft outcomes in highly sensitized kidney transplant recipients. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2016;31: 1746–1753.

Reis Pereira P, Ribeiro B, Oliveira J, Santos S, Pedroso S, Tafulo S, Almeida M, Dias L, Martins S, Malheiro J. Antibody-Mediated Rejection in Kidney Transplantation: A Retrospective Study on the Impact of Donor-Specific Antibodies and on the Timing of Diagnosis. *Cureus*. 2022;14: e30296.

Reutens AT. Epidemiology of diabetic kidney disease. *Med Clin North Am*. 2013;97: 1-18.

Reyna-Sepúlveda F, Ponce-Escobedo A, Guevara-Charles A, Escobedo-Villarreal M, Pérez-Rodríguez E, Muñoz-Maldonado G, Hernández-Guedea M. Outcomes and Surgical Complications in Kidney Transplantation. *Int J Organ Transplant Med*. 2017;8: 78-84.

Rhodes DA, Trowsdale J. Genetics and molecular genetics of the MHC. *Rev Immunogenet.* 1999;1: 21-31.

Richie RE, H K Johnson, M B Tallent, B Turner, W Vaughn, and G Niblack .The role of HLA tissue matching in cadaveric kidney transplantation. *Ann Surg.* 1979;189: 581–586.

Ritz E, Amann K, Koleganova N, Benz K. Prenatal programming-effects on blood pressure and renal function. *Nat Rev Nephrol.* 2011;7: 137-44.

Robinson J, Halliwell JA, Hayhurst JD, Flicek P, Parham P, Marsh SG. The IPD and IMGT/HLA database: allele variant databases. *Nucleic Acids Res.* 2015;43: 423-431.

Robinson J, Waller MJ, Parham P, de Groot N, Bontrop R, Kennedy LJ, Stoehr P, Marsh SG. IMGT/HLA and IMGT/MHC: sequence databases for the study of the major histocompatibility complex. *Nucleic Acids Res.* 2003;31: 311-4.

Rocha Y, Jaramillo A, Neumann J, Hacke K, Palou E, Torres J. Crossmatch assays in transplantation: Physical or virtual? A review. *Medicine (Baltimore).* 2023; 102: e36527.

Rohrs JA, Wang P, Finley SD. Understanding the Dynamics of T-Cell Activation in Health and Disease Through the Lens of Computational Modeling. *JCO Clin Cancer Inform.* 2019;3: 1-8.

Rosenberger C, Pratschke J, Rudolph B, Heyman SN, Schindler R, Babel N, Eckardt KU, Frei U, Rosen S, Reinke P. Immunohistochemical detection of hypoxia-inducible factor-1alpha in human renal allograft biopsies. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18: 343-51.

Ryan HE, Lo J, Johnson RS. HIF-1 alpha is required for solid tumor formation and embryonic vascularization. *EMBO J.* 1998;17: 3005-30015.

Sahin GK, Usta S, Erdogmus S, Ors Sendogan D, Kutlay S, Erturk S, Keven K, Sengul S. Characteristics and Sensitization Risk Factors in Kidney Transplant Wait List Candidates: Panel Reactive Antibodies Status Is Crucial for Successful Kidney Allocation Systems in Turkey. *Exp Clin Transplant.* 2023;21: 229-235.

Salem F, Perin L, Sedrakyan S, Angeletti A, Ghiggeri GM, Coccia MC, Ross M, Fribourg M, Cravedi P. The spatially resolved transcriptional profile of acute T cell-mediated rejection in a kidney allograft. *Kidney Int.* 2022;101: 131-136.

Salhi S, Congy-Jolivet N, Hebral AL, Esposito L, Vieu G, Milhès J, Kamar N, Del Bello A. Utility of Routine Post Kidney Transplant Anti-HLA Antibody Screening. *Kidney Int Rep.* 2024;9: 1343-1353.

Salvadori M, Tsalouchos A. Current protocols and outcomes of ABO-incompatible kidney transplantation. *World J Transplant.* 2020;10: 191–205.

Salvalaggio PR, Graff RJ, Pinsky B, Schnitzler MA, Takemoto SK, Burroughs TE, Santos LS, Lentine KL. Crossmatch testing in kidney transplantation: Patterns of practice and associations with rejection and graft survival. *Saudi J. Kidney Dis. Transplant.* 2009;20: 577–589.

Santana MA, Esquivel-Guadarrama F. Cell biology of T cell activation and differentiation. *Int Rev Cytol.* 2006;250: 217-274.

Saran R., Robinson B., Abbott KC, Agodoa LY, Albertus P, Ayanian J, Balkrishnan R., Bragg-Gresham J, Cao J, Chen, JL, Cop E, Dharmarajan S, Dietrich X. X. Eckard A, Eggers PW, Gaber C, Gillen D, Gipson D, Gu H., Shahinian V. US Renal Data System 2016 Annual Data Report: Epidemiology of Kidney Disease in the United States. *Am J Kidney Dis.* 2017; 69: A7-A8.

Sasaki H, Tanabe T, Tsuji T, Hotta K. Mechanism and treatment for chronic antibody-mediated rejection in kidney transplant recipients. *International Journal of Urology.* 2023;30: 624-633.

Sawinski D, Blumberg EA. Infection in Renal Transplant Recipients. *Chronic Kidney Disease, Dialysis, and Transplantation.* 2019;6: 621–638.

Schaub JA, Venkatachalam MA, Weinberg, JM. Proximal Tubular Oxidative Metabolism in Acute Kidney Injury and the Transition to CKD. *Kidney360.* 2020;2: 355–364.

Schipani E, Ryan HE, Didrickson S, Kobayashi T, Knight M, Johnson RS. Hypoxia in cartilage: HIF-1 α is essential for chondrocyte growth arrest and survival. *Genes Dev.* 2001;15: 2865-2876.

Schmid T, Zhou J, Brüne B. HIF-1 and p53: communication of transcription factors under hypoxia. *J Cell Mol Med.* 2004;8: 423-431.

Scornik JC, Bromberg JS, Norman DJ, Bhanderi M, Gitlin M, Petersen J. An update on the impact of pre-transplant transfusions and allosensitization on time to renal transplant and on allograft survival. *BMC nephrology*. 2013;14: 217.

Semenza GL, Roth PH, Fang HM, Wang GL. Transcriptional regulation of genes encoding glycolytic enzymes by hypoxia-inducible factor 1. *J Biol Chem*. 1994;23: 69: 23757-23763.

Semenza GL, Wang GL. A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation. *Mol Cell Biol* 1992;12: 5447–5454.

Semenza GL. Oxygen sensing, hypoxia-inducible factors, and disease pathophysiology. *Annu Rev Pathol*. 2014; 9:47-71.

Semenza GL. Regulation of metabolism by hypoxia-inducible factor 1. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 2011;76: 347-353.

Semenza GL. Targeting HIF-1 for cancer therapy. *Nature Reviews Cancer*. 2003;3: 721-732.

Senev A, Emonds MP, Van Sandt V, Lerut E, Coemans M, Sprangers B, Kuypers D, Naesens M. Clinical importance of extended second field high-resolution HLA genotyping for kidney transplantation. *Am J Transplant*. 2020;20 :3367-3378.

Shehade H, Acolty V, Moser M, Oldenhove G. Cutting Edge: Hypoxia-Inducible Factor 1 Negatively Regulates Th1 Function. *J Immunol*. 2015;195: 1372-1376.

Shen Y, Jiang L, Wen P, Ye Y, Zhang Y, Ding H, Luo J, Xu L, Zen K, Zhou Y, Yang J. Tubule-derived lactate is required for fibroblast activation in acute kidney injury. *American journal of physiology. Renal physiology*. 2020;31; 689–701.

Sherstha BM. Immune System and Kidney Transplantation. *JNMA J Nepal Med Assoc*. 2017;56: 482-6.

Shi F, Ljunggren H, Sarvetnick N. Innate immunity and autoimmunity: from self-protection to self-destruction. *Trends in immunology*. 2001;22: 97-101.

Shi LZ, Wang R, Huang G, Vogel P, Neale G, Green DR, Chi H. HIF1alpha-dependent glycolytic pathway orchestrates a metabolic checkpoint for the differentiation of TH17 and Treg cells. *J Exp Med*. 2011;208: 1367-76.

Shor S, Lewi G, Issa F. An Immune Atlas of T Cells in Transplant Rejection: Pathways and Therapeutic Opportunities. *Transplantation*. 2023;107: 2341 - 2352.

Shrestha BM. Immune System and Kidney Transplantation. *JNMA J Nepal Med Assoc*. 2017;56: 482-486.

Shurin MR, Umansky V. Crosstalk between HIF and PD-1/PD-L1 pathways in carcinogenesis and therapy. *J Clin Invest*. 2022;2: e159473.

Smith-Garvin JE, Koretzky GA, Jordan MS. T cell activation. *Annu Rev Immunol*. 2009;27: 591-619.

Snell G. The genetic and antigenic basis of tumor transplantation. *J. Pathol. Bacteriol*. 1937;44: 691–699.

Solez K, Colvin RB, Racusen LC, Sis B, Halloran PF, Birk PE, Campbell PM, Cascalho M, Collins AB, Demetris AJ, Drachenberg CB, Gibson IW, Grimm PC, Haas M, Lerut E, Liapis H, Mannon RB, Marcus PB, Mengel M, Mihatsch MJ, Nankivell BJ, Nickleleit V, Papadimitriou JC, Platt JL, Randhawa P, Roberts I, Salinas-Madruga L, Salomon DR, Seron D, Sheaff M, Weening JJ. Banff '05 Meeting Report: differential diagnosis of chronic allograft injury and elimination of chronic allograft nephropathy ('CAN'). *Am J Transplant*. 2007;7: 518-526.

Soosay A, O'Neill D, Counihan A, Hickey D, Keogan M. Causes of sensitization in patients awaiting renal transplantation in Ireland. *Ir. Med. J*. 2003;96: 109–112.

Soyöz M, Kılıçaslan Ayna T, Çerçi Gürbüz B, Güleç D, Kılıçoğlu M, Yüksel C, Pirim İ. Böbrek Nakli Bekleme Listesindeki Hastalarda Anti-HLA Antikorlarının Tanımlanması. *SDÜ Tıp Fak Derg*. 2017;24: 41-45.

Staples KJ, Sotoodehnejadnematalahi F, Pearson H, Frankenberger M, Francescut L, Ziegler-Heitbrock L, Burke B. Monocyte-derived macrophages matured under prolonged hypoxia transcriptionally up-regulate HIF-1 α mRNA. *Immunobiology*. 2011;216: 832-839.

Stoumpos S, Crowe K, Sarafidis P, Barratt J, Bolignano D, Del Vecchio L, Małyszko J, Więcek A, Ortiz A, Cozzolino M. Hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase inhibitors for anaemia in chronic kidney disease: a clinical practice document by the European Renal Best Practice board of the European Renal Association. *Nephrol Dial Transplant*. 2024;39: 1710-1730.

Su X, Zenios SA, Chakkera H, Milford EL, Chertow GM. Diminishing significance of HLA matching in kidney transplantation. *Am J Transplant*. 2004;4: 1501-1508.

Sumida K, Kovesdy CP. Disease trajectories before esrd: Implications for clinical management. *Semin Nephrol*. 2017;37: 132-43.

Süsal C, Döhler, B, Opelz G. Presensitized kidney graft recipients with HLA class I and II antibodies are at increased risk for graft failure: a Collaborative Transplant Study report. *Human immunology*. 2009;70: 569–573.

Süsal C, Opelz G. Kidney graft failure and presensitization against HLA class I and class II antigens. *Transplantation*. 2002;73: 1269-1273.

Szumilas K , Wilk A, Wiśniewski P, Gimpel A, Dziedziejko V, Kipp M, Pawlik A. Current Status Regarding Immunosuppressive Treatment in Patients after Renal Transplantation. *Int J Mol Sci*. 2023;24: 10301.

Tafulo S, Osório E, Mendes C, Liwski R. Complement-dependent cytotoxicity crossmatch in solid organ transplantation: The gold standard or golden history? *Hum Immunol*. 2024;85: 110734.

Tait BD, Hudson F, Cantwell L, Brewin G, Holdsworth R, Bennett G, et al. Luminex Technology for HLA Antibody Detection in Organ Transplantation. *Nephrology (Carlton)*. 2009;14: 247-254.

Tait BD, Süsal C, Gebel HM, Nickerson PW, Zachary AA, Claas FH, Reed EF, Bray RA, Campbell P, Chapman JR, Coates PT, Colvin RB, Cozzi E, Doxiadis II, Fuggle SV, Gill J, Glotz D, Lachmann N, Mohanakumar T, Suciu-Foca N, Sumitran-Holgersson S, Tanabe K, Taylor CJ, Tyan DB, Webster A, Zeevi A, Opelz G. Consensus guidelines on the testing and clinical management issues associated with HLA and non-HLA antibodies in transplantation. *Transplantation*. 2013;95: 19-47.

Tait BD. Detection of HLA Antibodies in Organ Transplant Recipients - Triumphs and Challenges of the Solid Phase Bead Assay. *Front Immunol.* 2016;7: 570.

Takeda N, O'Dea EL, Doedens A, Kim JW, Weidemann A, Stockmann C, Asagiri M, Simon MC, Hoffmann A, Johnson RS. Differential activation and antagonistic function of HIF- α isoforms in macrophages are essential for NO homeostasis. *Genes Dev.* 2010;24: 491-501.

Takemoto S, Port FK, Claas FHJ, Duquesnoy RJ. HLA matching for kidney transplantation. 2004;65: 1489-1505.

Talbot D. Flow cytometric crossmatching in human organ transplantation. *Transpl Immunol* 1994;2: 138-139.

Talks KL, Turley H, Gatter KC, Maxwell PH, Pugh CW, Ratcliffe PJ, Harris AL. The expression and distribution of the hypoxia-inducible factors HIF-1 α and HIF-2 α in normal human tissues, cancers, and tumor-associated macrophages. *Am J Pathol.* 2000;157: 411-421.

Tamargo CL, Kant S. Pathophysiology of Rejection in Kidney Transplantation. *Journal of Clinical Medicine.* 2023;12: 4130.

Tanabe K, Hideki Ishida, Masashi Inui, Masayoshi Okumi, Hiroki Shirakawa, Tomokazu Shimizu, Kazuya Omoto, Tsunenori Kondo. ABO-incompatible kidney transplantation: long-term outcomes. *Clin Transpl.* 2013:307-312.

Tanaka S, Baba Y. B Cell Receptor Signaling. *Adv Exp Med Biol.* 2020; 1254:23-36.

Tanaka T, M. Angiogenesis and hypoxia in the kidney. *Nat Rev Nephrol.* 2013;9: 211-222.

Tang YY, Wang DC, Wang YQ, Huang AF, Xu WD. Emerging role of hypoxia-inducible factor-1 α in inflammatory autoimmune diseases: A comprehensive review. *Front Immunol.* 2023;13: 1073971.

Tang YY, Wang DC, Wang YQ, Huang AF, Xu WD. Emerging role of hypoxia-inducible factor-1 α in inflammatory autoimmune diseases: A comprehensive review. *Front Immunol.* 2023;25: 13:1073971.

Taylor CT, Scholz CC. The effect of HIF on metabolism and immunity. *Nat Rev Nephrol.* 2022;18: 573-587.

Terasaki PI, Cho Y, Takemoto S, Cecka M, Gjertson D. Twenty-year follow-up on the effect of HLA matching on kidney transplant survival and prediction of future twenty-year survival. *Transplant Proc.* 1996;28: 1144-1145.

Terasaki PI, Ozawa M. Predicting kidney graft failure by HLA antibodies: a prospective trial. *Am J Transplant.* 2004;4: 438-443.

Terzuoli E, Puppo M, Rapisarda A, Uranchimeg B, Cao L, Burger AM, Ziche M, Melillo G. Amino flavone, a ligand of the aryl hydrocarbon receptor, inhibits HIF-1 α expression in an AhR-independent fashion. *Cancer Res.* 2010;70: 6837-6848.

Thompson AA, Elks PM, Marriott HM, Eamsamrongs S, Higgins KR, Lewis A, Williams L, Parmar S, Shaw G, McGrath EE, Formenti F, Van Eeden FJ, Kinnula VL, Pugh CW, Sabroe I, Dockrell DH, Chilvers ER, Robbins PA, Percy MJ, Simon MC, Johnson RS, Renshaw SA, Whyte MK, Walmsley SR. Hypoxia-inducible factor 2 α regulates key neutrophil functions in humans, mice, and zebrafish. *Blood.* 2014;123: 366-376.

Toledo RA, Jimenez C, Armaiz-Pena G, Arenillas C, Capdevila J, Dahia PLM. Hypoxia-Inducible Factor 2 Alpha (HIF2 α) Inhibitors: Targeting Genetically Driven Tumor Hypoxia. *Endocr Rev.* 2023;44: 312-322.

Tonelli M, Muntner P, Lloyd A, Manns BJ, Klarenbach S, Pannu N, James MT, Hemmelgarn BR; Alberta Kidney Disease Network. Risk of coronary events in people with chronic kidney disease compared with those with diabetes: a population-level cohort study. *Lancet.* 2012;380: 807-14.

Toth RK, Warfel NA. Strange Bedfellows: Nuclear Factor, Erythroid 2-Like 2 (Nrf2) and Hypoxia-Inducible Factor 1 (HIF-1) in Tumor Hypoxia. *Antioxidants (Basel).* 2017;6: 27.

Trachtenberg EA. A Erlich DNA-based HLA typing for cord blood stem cell transplantation. *J Hematother.* 1996;5: 295-300.

Tsai YF, Liu FC, Kuo CF, Chung TT, Yu HP. Graft outcomes following immunosuppressive therapy with different combinations in kidney transplant recipients: a nationwide cohort study. *Ther Clin Risk Manag.* 2018;14: 1099-1110.

Tung-Min Yu, Mei-Chin Wen, Chi-Yuan Li, Chi-Hung Cheng, Ming-Ju Wu, Cheng-Hsu Chen, Kuo-Hsiung Shu, Expression of hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) in infiltrating inflammatory cells is associated with chronic allograft dysfunction and predicts long-term graft survival. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2013;28: 659–670.

Vadakedath S, Kandi V. Dialysis: A Review of the Mechanisms Underlying Complications in the Management of Chronic Renal Failure. *Cureus*. 2017; 9:1603.

Vanholder R, Pletinck A, Schepers E, Glorieux G. Biochemical and Clinical Impact of Organic Uremic Retention Solutes: A Comprehensive Update. *Toxins*. 2018;10: 33.

Vazquez MI, Catalan-Dibene J, Zlotnik A. B cells responses and cytokine production are regulated by their immune microenvironment. *Cytokine*. 2015;74: 318-26.

Venkataraman S, Kendrick J. Barriers to kidney transplantation in ESKD. *Semin Dial*. 2020;33: 523-532.

Victorino F, Bigley TM, Park E, Yao CH, Benoit J, Yang LP, Piersma SJ, Lauron EJ, Davidson RM, Patti GJ, Yokoyama WM. HIF1 α is required for NK cell metabolic adaptation during virus infection. *Elife*. 2021;10: e68484.

Voorter CE, Palusci F, Tilanus MG. Sequence-based typing of HLA: an improved group-specific full-length gene sequencing approach. *Methods Mol Biol*. 2014;1109: 101-14.

Voronoi U. Blocking the reticuloendothelial system in man in some forms of mercuric chloride intoxication and the transplantation of the cadaver kidney as a method of treatment for the anuria resulting from the intoxication. *Siglo Med*. 1938;97: 296.

Walmsley SR, Print C, Farahi N, Peyssonnaud C, Johnson RS, Cramer T, Sobolewski A, Condliffe AM, Cowburn AS, Johnson N, Chilvers ER. Hypoxia-induced neutrophil survival is mediated by HIF-1 α -dependent NF-kappaB activity. *J Exp Med*. 2005;201: 105-115.

Wang B, Li ZL, Zhang YL, Wen Y, Gao YM, Liu BC. Hypoxia and chronic kidney disease. *EBioMedicine*. 2022;77: 103942.

Wang GL, Jiang BH, Rue EA, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92: 5510–5514.

Wang T, Liu H, Lian G, Zhang SY, Wang X, Jiang C. HIF1 α -Induced Glycolysis Metabolism Is Essential to the Activation of Inflammatory Macrophages. *Mediators Inflamm*. 2017;90: 293-297.

Warnecke C, Weidemann A, Volke M, Schietke R, Wu X, Knaup KX, Hackenbeck T, Bernhardt W, Willam C, Eckardt KU, Wiesener, M.S. The specific contribution of hypoxia-inducible factor-2 α to hypoxic gene expression in vitro is limited and modulated by cell type-specific and exogenous factors. *Exp. Cell Res*. 2008;314: 2016-2027.

Weidemann A, Johnson RS, Biology of HIF-1 α Cell Death and Differentiation. 2008;15: 621–627.

Wei-jie Z, Xiao-pin C. Influence of desensitization pretreatment on panel reactive antibody and clinical outcome in highly sensitized living renal transplantation recipients. *Organ transplantation*. 2010;01: 216-220.

Welch WJ. Intrarenal oxygen and hypertension. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol*. 2006;33: 1002–1005.

Welsh K, Bunce M. Molecular typing for the MHC with PCR-SSP. *Rev Immunogenet*. 1999;1: 157-76.

Wiebe C, Nickerson PW. Human leukocyte antigen molecular mismatch to risk stratifies kidney transplant recipients. *Curr Opin Organ Transplant*. 2020;25: 8-14.

Williams ME, Stanton R. Diabetic Kidney Disease: Current Challenges. In: Himmelfarb J, Ikizler TA eds. *Chronic Kidney Disease, Dialysis, and Transplantation*. 4th Ed. W.B. Saunders; 2018, p: 39-56.

Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, Ojo AO, Ettenger RE, Agodoa LY, Held PJ, Port FK. Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med*. 1999;341: 1725-30.

- Worsley CM, Mayne ES, Suchard MS. Luminex-based virtual crossmatching for renal transplantation in South Africa *S Afr Med J*. 2011;102: 40–43.
- Woszczek G, Borowiec M, Mis M, Gorska M, Kowalski ML. Comparison of serological and molecular (PCR-SSP) techniques of HLA-DR typing in clinical laboratory routine. *Ann. Transplant*. 1997;2: 39–42.
- Wu M, Chen W, Miao M, Jin Q, Zhang S, Bai M, Fan J, Zhang Y, Zhang A, Jia Z, Huang S. Anti-anemia drug FG4592 retards the AKI-to-CKD transition by improving vascular regeneration and antioxidative capability. *Clin Sci (Lond)*. 2021;135: 1707-1726.
- Yang C, Zhong ZF, Wang SP, Vong CT, Yu B, Wang YT. HIF-1: structure, biology, and natural modulators. *Chin J Nat Med*. 2021;19: 521-527.
- Yi SG, Gaber AO, Chen W. B-cell response in solid organ transplantation. *Frontiers in immunology*. 2022;13: 895157.
- You L, Wu W, Wang X, Fang L, Adam V, Nepovimova E, Wu Q, Kuča K. The role of hypoxia-inducible factor 1 in tumor immune evasion. *Medicinal Research Reviews*, 2020;41: 1622 - 1643.
- Yu F, White SB, Zhao Q, Lee FS. HIF-1 alpha binding to VHL is regulated by stimulus-sensitive proline hydroxylation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98: 9630-9635.
- Yu HT. Progression of chronic renal failure. *Archives of Internal Medicine*. 2003;163: 1417-1429.
- Zhang WR, Parikh CR. Biomarkers of Acute and Chronic Kidney Disease. *Annu Rev Physiol*. 2019; 81: 309–333.
- Zhang Z, Haimovich B, Kwon YS, Lu T, Fyfe-Kirschner B, Olweny EO. Unilateral Partial Nephrectomy with Warm Ischemia Results in Acute Hypoxia Inducible Factor 1-Alpha (HIF-1 α) and Toll-Like Receptor 4 (TLR4) Overexpression in a Porcine Model. *PloS one*. 2016;11; e0154708.
- Zhao M, Wang S, Zuo A, Zhang J, Wen W, Jiang W, Chen H, Liang D, Sun J, Wang M. HIF-1 α /JMJD1A signaling regulates inflammation and oxidative stress following

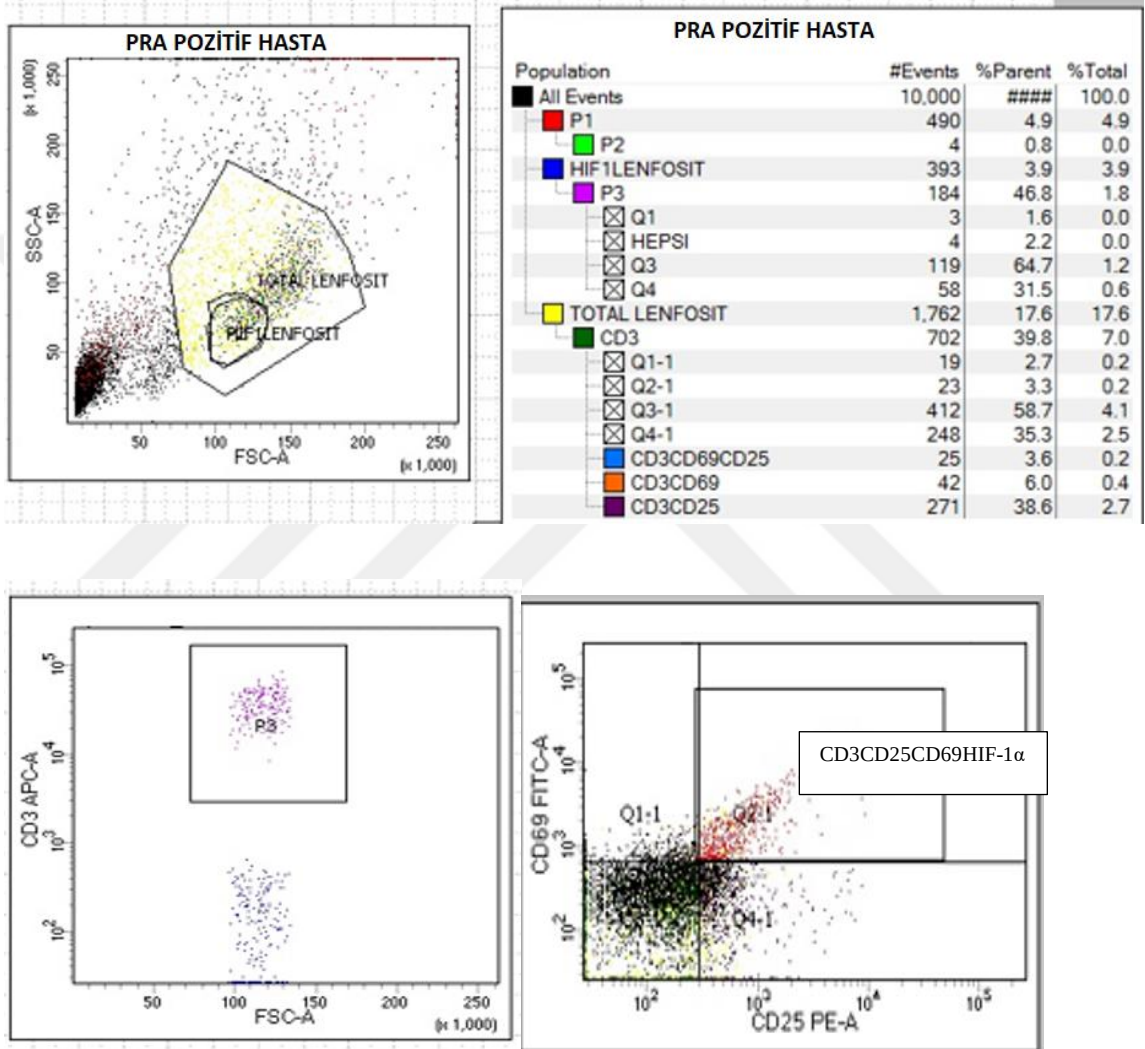
hyperglycemia and hypoxia-induced vascular cell injury. Cellular & Molecular Biology Letters.2021;2: 26.

Zhao Y, Xing C, Deng Y, Ye C, Peng H. HIF-1 α signaling: Essential roles in tumorigenesis and implications in targeted therapies. Genes Dis. 2023;11: 234-251.

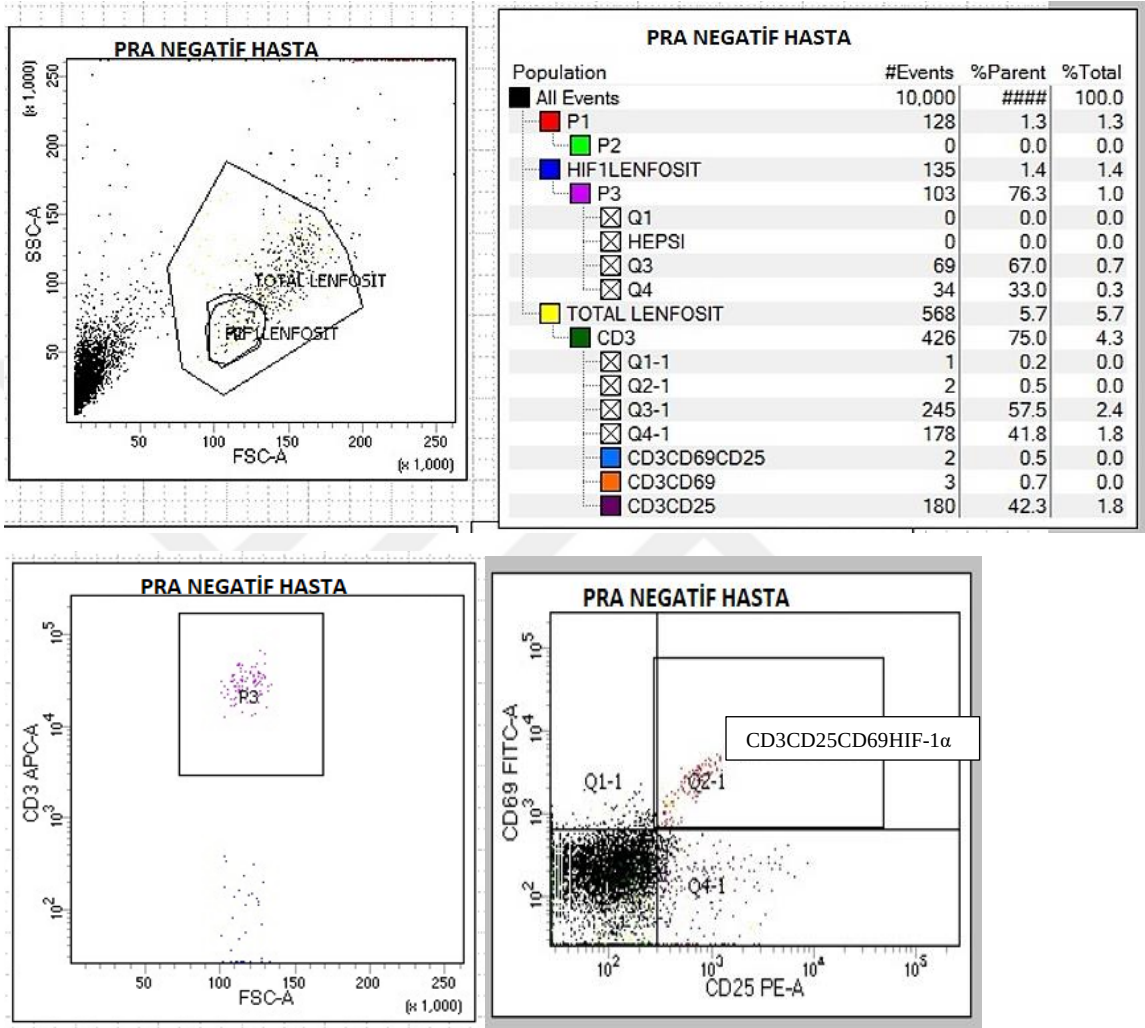


EKLER

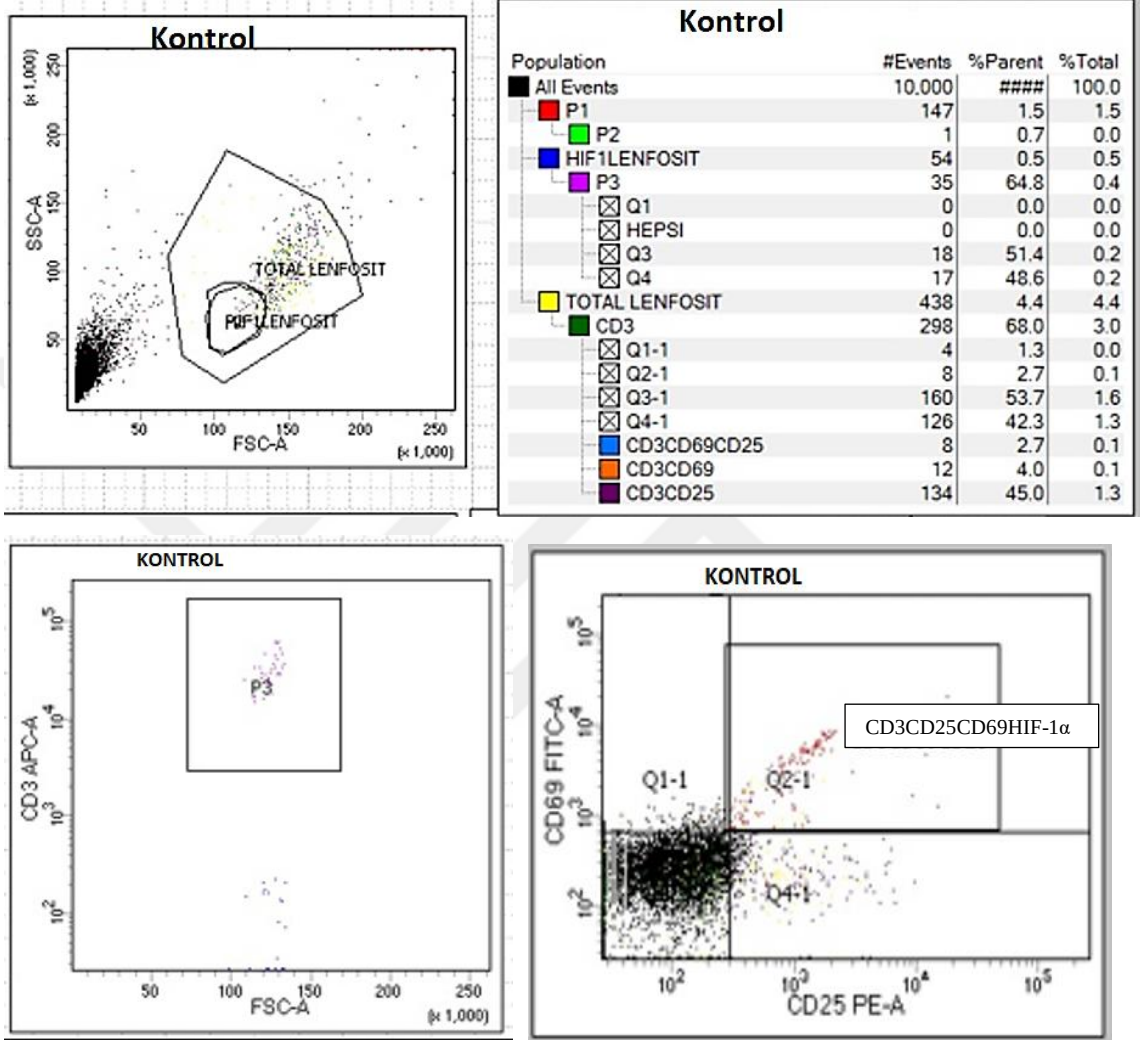
Ek 1. PRA pozitif Hasta Grubunun Akım Sitometri Analizi Örnek Görüntüleri



Ek 2. PRA Negatif Hasta Grubunun Akım Sitometri Analizi Örnek Görüntüleri



Ek 3. Kontrol Grubunun Akım Sitometri Analizi Örnek Görüntüleri



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Burcu	Uyruğu	T.C.
Soyadı	Karakuş Turan	Tel no	
Doğum tarihi		e-posta	

Eğitim Bilgileri

	Mezun olduğu kurum	Mezuniyet yılı
Lise	Sokullu Mehmet Paşa Lisesi	2007
Lisans	Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi/ Biyoloji	2013
Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi /SABE Tıbbi Genetik	2017

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl-yıl)
Biyolog	Akdeniz Üniversitesi Doku Tipleme Laboratuvarı	2017-2020
Klinik Veri Uzmanı	Özel Medstar Antalya Hastanesi	2022-2024

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
İngilizce	YÖKDİL	78

Proje Deneyimi

Proje Adı	Destekleyen kurum	Süre (Yıl-Yıl)
Kronik Böbrek Yetmezliği Hastalarının Etiyolojilerine Göre HLA Doku Tipinin Belirlenmesi ve Antikor Seviyelerinin Araştırılması	Akdeniz Üniversitesi	2016-2018
Bilimsel Araştırmalarda Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalının Yeri ve Önemi	Akdeniz Üniversitesi	2019-2020

Yayınlar ve Bildiriler:

Yayınlar

‘Kronik Böbrek Yetmezliği Hastalarının Etiyolojilerine Göre HLA Doku Tipinin Belirlenmesi’

Burcu Karakuş Turan, Fahri Uçar, Vural Taner Yılmaz, Yahya Kılınç, Sule Darbas, Hüseyin Koçak, Nurten Sayın Ekinci, Bülent Aydınllı, Habibe Sema Arslan

Bildiriler

1.Kronik Böbrek Yetmezliği Hastalarının Etiyolojilerine Göre Hla Doku Tipinin Belirlenmesi

Burcu Karakuş, Vural Taner Yılmaz, Yahya Kılınç, Şule Darbaş, Hüseyin Koçak, Nurten Sayın Ekinci, Bülent Aydınllı, Fahri Uçar, Habibe Sema Arslan. 8. ULUSAL Transplantasyon Immünolojisi Ve Genetiği Kongresi. 14-17 Nisan 2022- Antalya (sözlü sunum)

2. Kronik böbrek yetmezliği bulunan hastalarda PRA pozitifliği ile serum IL-17, IL-16, IL-12 ve IL-21 sitokin düzeyleri arasındaki ilişki

Nurten Sayın Ekinci, Şule Darbaş, Nil Hizay Akıncı, Burcu Karakuş, Habibe Sema Arslan, Fahri Uçar. Molecules In Immunology Symposium. 18-21 oct 2018 (poster)

3. Böbrek Nakilli Covid-19 Hastalığı Geçirmiş Bireylerde Panel Reaktif Antikor Seviyesindeki Etkisinin Araştırılması

Şule Darbaş, Yahya Kılınç, Nurten Sayın Ekinci, Burcu Karakuş, Sadi Köksoy, Esvet Mutlu, Mustafa Gökhan Ertosun, Hüseyin Koçak, Vural Taner Yılmaz, Bülent Aydınllı, Nil Akıncı, Fahri Uçar. 8. ULUSAL Transplantasyon Immünolojisi Ve Genetiği Kongresi. 14-17 Nisan 2022- Antalya (poster)