

## BÖBREK NAKLİ SONRASINDA VERİCİ HLA ANTİJENLERİNE KARŞI OLUŞAN ANTİKORLARIN AKIM SİTOMETRİSİ İLE ÇAPRAZLAMA YÖNTEMİ İLE SAPTANMASI

### DETECTION OF POST TRANSPLANT DONOR SPECIFIC ANTIBODIES AGAINST DONOR HLA ANTIGENS BY FLOW CYTOMETRIC CROSS MATCH

Tülay KILIÇASLAN AYNA, Ali Sarper DİLER, Mahmut ÇARİN\*

#### ÖZET

**Amaç:**Bu çalışmada böbrek nakli sonrası oluşan Donör Spesifik Antikor (DSA)'ların klinik önemi, grafta karşı oluşan humoral cevabın karakteri, graft yetmezliği ve rejeksiyonda bu antikorların rolünün değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Gereç ve yöntem:** Bu çalışmaya Mart 2001 - Nisan 2004 arasında böbrek transplantasyonu yapılan 50 hasta dahil edilmiştir. Elli hasta-verici çiftine Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda Akım Sitometrisi ile "Cross Match"- Çaprazlama (ASCM) testi uygulanmıştır. Nakil sonrası hastaların 1., 7., 14. günlere, 1., 3., 6. ve 12. aylara ait serumları ve vericilerin taze hücreleri ile T ve B ASCM testi yapılmıştır.

**Bulgular:** 39 hastanın (%78) sonucu negatifken, 11 hastanın (%22) test sonucunun pozitif olduğu saptanmıştır. DSA'ların %82'si ilk ay içinde, %18'i ise birinci aydan sonraki dönemde oluşmuştur. Bunlardan 4 (% 8) hastanın test sonucu hem T, hem de B ASCM (+), 3 (% 6) hastanın T ASCM (+), 4 (% 8) hastanın da B ASCM sonucu (+) olarak bulunmuştur. Elde edilen antikorlar, nakil sonrası erken ve geç dönemde oluşanlar olmak üzere iki gruba ayrılarak klinik sonucu değerlendirilmiştir. Her iki grupta da T ve/veya B ASCM (+) sonuca sahip hastalarda rejeksiyon olduğu görülmüştür. Ayrıca hastalar graft yetmezliği açısından değerlendirilmiş ve nakil sonrası T ve/veya B ASCM (+) olan hastaların %18,1'inde graft yetmezliği varken, T ve/veya B ASCM (-) olan hastaların hiçbirisinde graft yetmezliği görülmemiştir. Rejeksiyon ile  $\geq 2$  mg/dl kreatinin düzeyleri arasındaki bağlantı istatistiksel anlamlılık açısından değerlendirildiğinde 1. gün dışındaki tüm sonuçlar anlamlı bulunmuştur. Aynı kreatinin düzeyininin, T ve/veya B ASCM (+)'liği ile arasındaki bağlantı istatistiksel anlamlılık açısından değerlendirildiğinde ise, 7. ve 14. günlerdeki sonuçlar anlamlı bulunmuştur.

**Sonuç:** Nakil sonrası ASCM yöntemi ile DSA'ların araştırılmasının nakledilen böbreğin sağkalımını, dolayısıyla hastanın yaşam kalitesini etkilediği düşüncesindeyiz. Özellikle nakil sonrası ilk bir ay içindeki test sonuçları böbreğin sağkalımı hakkında kliniği önemli ölçüde aydınlatacaktır.

**Anahtar kelimeler:** Akım sitometrisi ile "Cross Match", nakil sonrası DSA, rejeksiyon, graft sağkalımı

#### ABSTRACT

**Objective:** This study was designed to reveal the clinical importance of Donor Specific Antibody (DSA) formed following renal transplantation, properties of humoral response against the graft, graft failure, and the role of antibodies in rejection.

**Materials and methods:** Fifty patients who had renal transplant between March 2001 and April 2004 were included in this study. T and B Flow Cytometric Cross-Match (FCCM) test was applied to patient sera obtained at the 1st, 7th, and 14th days and 1st, 3rd, 6th and 12th months and fresh donor cells were used for this analysis.

**Results:** Thirty-nine (78%) FCCM results were found to be negative, while 11 (22%) patients depicted positive results. DSAs were formed mainly in the first month (82%) while 18% after the first month. Four patients (8%) had T and B FCCM positive while 3 patients (6%) only T FCCM positive and 4 patients (8%) only B cell positive. DSA formation classified as early and late. T and B FCCM positive results correlated well with rejection. There patients

Dergiye geldiği tarih/ Date received: 20.07.2006

\* İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Çapa, İstanbul  
(İletişim kurulacak yazar: duruayna@yahoo.com.tr)

- Bu araştırma tez çalışmasıdır. İ.Ü. Bilimsel Araştırma Fonu Yürütücü Sekreterliği tarafından desteklenmiştir. Proje no: T-206/06032003

depicted graft rejection (18.1%) as well, though T and / or B FCCM negative patients did not result in graft rejection. Apart from the 1st day serum creatinin levels of  $\geq 2$  mg/dl significantly related with rejection and T and B FCCM positivation 7th and 14th day.

**Conclusion:** DSA evaluation with FCCM in post transplant period relates well with graft survival and quality of life of renal transplanted patients. FCCM results in the 1st post transplant month will likely to shed light to the fate of transplantation.

**Key words:** Flow Cytometry Cross-Match, post transplant DSA, rejection, graft survival

## GİRİŞ

Son dönem böbrek yetmezliği olan hastalara akraba vericilerden veya kadavradan yapılacak böbrek nakli bu kişilerin büyük bölümü için kesin tedavi şeklidir (5,10,11).

Nakil öncesinde hasta ve vericinin immunolojik açıdan değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu amaçla ABO kan gruplarının, "İnsan Lökosit Antijen" (Human Leukocytes Antigen-HLA)'lerinin belirlenmesi ve hastada verici (donör) HLA antijenlerine karşı oluşmuş anti HLA antikorlarının saptanması gereklidir (1,2).

Anti HLA antikorları klasik olarak serolojik yöntemlerle saptanmaktadır. Anti HLA antikorlarının bu yöntemlerle saptanmasına rağmen hastalarda organ reddinin görülmesi nedeniyle geliştirilen tekniklerden birisi, Akım Sitometrisi ile Çaprazlama (Flow Cytometry Crossmatch – ASCM)'dir (1,4).

ASCM'nin sağladığı önemli avantajlar:

- Graft sağkalımında çok önemli olan düşük düzeydeki Sınıf I HLA antikorlarının saptanması,
- Sınıf II HLA antikorlarının belirlenmesi,
- Aktivasyonu komplemana bağlı olan (IgG1, IgG3) ve aktivasyonu komplemana bağlı olmayan (IgG2, IgG4) IgG grubu antikorların saptanması,
- Objektif olmasıdır.

Söz konusu anti HLA antikorları nakil öncesinde gelişebileceği gibi nakil sonrasında da oluşabilmektedir. Nakil sonrası oluşan bu antikorların çalışma mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte nakil sonrası bu antikora sahip bireylerde rejeksiyon atakları ve graft yetmezliği olasılığından bahsedilmektedir (8).

Bu çalışmada, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda akraba canlı vericiden nakil olan 50 hastada nakil öncesi ve sonrası ASCM testi uygulanmış ve alıcısındaki DSA'lar araştırılmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Mart 2001 - Nisan 2004 tarihleri arasında böbrek transplantasyonu yapılan 50 hasta ile vericilerine Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda iki renkli ASCM testi uygulanmıştır. T hücrelerini tanımak için CD3-PE, B hücrelerini tanımak için CD20-PE monoklonal antikorları kullanılmıştır. IgG antikorlarını tanımak amacıyla ise IgG-FITC ikincil antikor kullanılmıştır. Hastaların nakil sonrası 1. gün, 7. gün, 14. gün, 1. ay, 3. ay, 6. ay, ve 12. ayda kanları alınarak santrifüj ile serumları elde edilmiş ve tüm serumlar etiketlenerek -20 0C'de saklanmıştır. Bu hastaların vericilerine ulaşarak randevu verilmiş ve belirlenen günde "ficoll hypaque gradient" santrifüj yöntemi ile verici lenfositleri elde edilerek hücre sayısı 5.105 hücre / ml'ye ayarlanmıştır. Verici hücreleri negatif kontrol serumu, pozitif kontrol serumu ve hastanın nakil sonrası elde ettiğimiz serumları üzerine ilave edilerek 30 dakika oda ısısında inkübe edilmiştir. Yıkama aşamalarından sonra uygun tüplere CD3-PE, CD20-PE ve tüm tüplere IgG-FITC ilave edilerek buzdolabında 20 dakika inkübasyon yapılarak test tüpleri analiz edilmiştir. Analiz sonrasında, tek parametrelili IgG-FITC histogramındaki % floresan değeri, negatif kontrolün IgG-FITC histogramındaki % floresan değeri ile karşılaştırılmıştır. T ASCM için %5'in, B ASCM için % 7,5'un üzerindeki bir artışta sonuç pozitif olarak yorumlanmıştır. İstatistiksel analiz,

**Tablo 1. Hasta ve verici arasındaki HLA uyumunun dağılımı**

| 1A1B1DR | 2A1B1DR | 1A1B2DR | 1A2B1DR | 1A2B2DR | 2A2B2DR |
|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 33      | 5       | 4       | 3       | 1       | 4       |

**Tablo 2. I.grup ve II.grupta DSA oluşan hasta sayısı ve IgG antikorların hedef hücreleri**

| GRUP I       |               | GRUP II      |            |
|--------------|---------------|--------------|------------|
| Hasta sayısı | ASCM tipi     | Hasta sayısı | ASCM tipi  |
| 4            | T, B ASCM (+) | 2            | T ASCM (+) |
| 4            | B ASCM (+)    |              |            |
| 1            | T ASCM (+)    |              |            |

Fisher's Exact testi ve Pearson ki-kare test kullanılarak yapılmıştır.

## BULGULAR

Tez çalışmasına dahil edilen 50 hasta ve verici çifti arasındaki HLA uyumunun dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir. Hasta grubunun yaş ortalaması  $29,18 \pm 8,68$  (7-51), verici grubunun yaş ortalaması  $51,68 \pm 11,05$  (23,74) olarak bulunmuştur.

Hastaların nakil sonrası 1., 7., 14. günlerdeki 1., 3., 6 ve 12. aylardaki serumları ve canlı verici hücreleri ile T ve B ASCM uygulanmıştır. 39 (% 78) hastanın nakil sonrası T ve B ASCM sonuçları negatifken, 11 (% 22) hastada nakil sonrası ASCM sonuçları pozitif olarak değerlendirilmiştir. Bunlardan 4 (% 8) hastanın test sonucu hem T (+), hem de B ASCM (+), 3 (% 6) hastanın T ASCM (+), 4 (% 8) hastanın da B ASCM sonucu (+) olarak bulunmuştur. Bu antikorlar tespit edilme zamanına göre de nakil sonrası ilk ay içinde belirlenenler I. grup, nakilden sonra birinci ay ile on ikinci ay arasında oluşanlar II. grup olarak değerlendirilmiştir (Tablo 2).

I.grupta, T, B ASCM (+) olan 4 hastadan 2 (%50)'si hiperakut rejeksiyon geçirerek böbreklerini kaybetmişlerdir. Rejeksiyon geçiren hastaların nakilden önce ve sonra yapılan Panel Reaktif Antikor (PRA) test sonuçları değerlendirildiğinde, bir hastanın nakil öncesi PRA % 0 iken, nakilden sonra değişik tarihlerde % 100 ile 96 arasında değişen pozitiflikler görülmüştür. Nakil sonrası 2. gün diyalize geri dönen bu hastaya yaklaşık 20 yıl önce 6 ünite, transplantasyondan 2 ay önce 3 ünite kan transfüzyonu yapılmıştır. Nakil öncesinde "Complement Dependent Cytotoxicity (CDC)" yöntemi ile Panel Reaktif Antikora (PRA) bakılmış ve sonuç negatif olarak bulunmuştur. Rejeksiyon geçiren diğer hastanın ise nakil öncesi PRA'sı pozitif (%34) olmasına rağmen, nakilden sonra değişik tarihlerde ise % 89'a varan pozitiflikler görülmüştür. Nakil öncesi "Complement Dependent Cytotoxicity Cross Match (CDCCM)" (-) olduğundan dolayı böbrek nakli yapılmış ve hasta 3. gün diyalize geri dönmüştür. Aynı grupta, T, B ASCM (+) olan iki hastada herhangi bir komplikasyon gö-

rülmemiştir. I.grupta B ASCM (+) olan 4 hastadan 1 tanesi nakil sonrası 2. gün akut rejeksiyon atağı geçirmiş ve kronik rejeksiyon nedeni ile takip edilmektedir. 2 hasta ise yine kronik rejeksiyon nedeni ile takip edilmektedir. B ASCM (+) olan son hasta ise sorunsuz biçimde yaşamına devam etmektedir. Nakil sonrası erken dönemde T ASCM (+) olan hastada ise herhangi bir komplikasyon görülmemiştir.

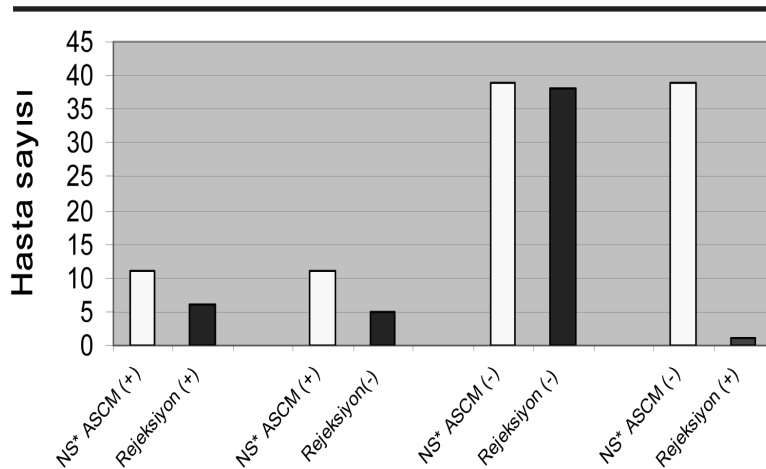
II.grupta ise iki alıcının T ASCM sonucunun (+) olduğu tespit edilmiştir. Bunlardan birisi kronik rejeksiyon nedeni ile takip edilirken, diğer hasta sorunsuz olarak poliklinik takiplerine devam etmektedir. Nakil sonrası T ve B ASCM (-) olan hastalardan 3 tanesi farklı günlerde akut rejeksiyon atağı geçirmiştir. Bu hastalardan birisi kronik rejeksiyon nedeni ile takip edilmektedir.

Hastalar rejeksiyon açısından değerlendirildiğinde; Nakil sonrası T ve/veya B ASCM sonucu (+) olan hastaların 6 (%54,6)'sı rejeksiyon geçirirken, nakil sonrası T ve/veya B ASCM sonucu (+) olarak tespit edilen hastaların 5 (%45,4)'inde rejeksiyon bulgusuna rastlanmamıştır. Hastaların 2'si hiperakut rejeksiyon geçirerek böbreklerini kaybetmişler, 4 hasta ise kronik rejeksiyon nedeni ile takip edilmektedir. ASCM (-) olan alıcıların % 7,6' sını rejeksiyon veya rejeksiyon atağına uğrarken, %92,4'ü nakil sonrası dönemde sorun yaşamamıştır (Grafik 1).

Nakil sonrası ASCM pozitifliği ile rejeksiyon, rejeksiyon atağı ve graft kaybı arasındaki ilişki Fisher's Exact testine göre değerlendirilmiştir (Tablo 3).

**Tablo 3. Nakil sonrası ASCM (+)'liği ile rejeksiyon, rejeksiyon atağı graft kaybı arasındaki ilişki**

|                  | T ve/veya B ASCM (+) |
|------------------|----------------------|
| Rejeksiyon       | p= 0,0002            |
| Rejeksiyon atağı | p= 1,000             |
| Graft kaybı      | p= 0,045             |



**Grafik 1. Nakil sonrası ASCM sonuçları ile rejeksiyon arasındaki bağlantı**

NS\*: Nakil sonrası

**Tablo 4.  $\geq 2$  mg/dl kreatin düzeylerinin T ve/veya B ASCM ve rejeksiyon ile bağlantısı**

| $\geq 2$ mg/dl kreatin düzeyleri | T ve/veya B ASCM (+) | Rejeksiyon |
|----------------------------------|----------------------|------------|
| 1.gün                            | p= 0,724             | p= 0,200   |
| 7.gün                            | p= 0,031             | p= 0,000   |
| 14.gün                           | p= 0,008             | p= 0,000   |
| 1.ay                             | p= 0,370             | p= 0,000   |
| 3.ay                             | p= 1,000             | p= 0,000   |
| 6.ay                             | p= 0,188             | p= 0,012   |
| 12.ay                            | p= 0,188             | p= 0,012   |

Hedef hücre özelliğine göre rejeksiyon ile ASCM pozitifliği değerlendirildiğinde ise, hem T ASCM (+) (p=0,0478), hem de B ASCM (+) (p= 0,0005) hastalarda rejeksiyon geçirme olasılığının, T ASCM (-) ve/veya B ASCM (-) hastalardan yüksek olması istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur.

Çalışmaya dahil edilen hastaların 35 (% 79)'inin nakil öncesi ASCM ve nakil sonrası ASCM sonuçları (-) olarak bulunurken, nakil öncesi ASCM (-) olan 9 hastanın ( nakil sonrası ASCM (+) olan 2 hastaya nakil öncesi ASCM yapılmamıştır) nakil sonrası ASCM sonuçları pozitif olarak tespit edilmiştir. Nakil öncesi B ASCM (+) olan iki hastanın da nakil sonrası dönemde B ASCM sonucu negatif olarak bulunmuştur. B ASCM (+) olan hastalardan bir tanesi nakil sonrası 6. gün rejeksiyon atağı geçirmiştir. Halen kronik rejeksiyon nedeni ile takip edilmektedir. Nakil öncesi B ASCM (+) olan diğer hasta ise nakil sonrası dönemde herhangi bir komplikasyon ile karşılaşmamıştır.

Çalışmaya dahil edilen hastalar graft yetmezliği açısından değerlendirildiğinde, nakil sonrası T ve/veya B ASCM (+) olanların % 18,1'inde graft yetmezliği belirlenirken, ASCM (-) olanların ise hiçbirisinde graft yetmezliği saptanmamıştır.

$\geq 2$  mg/dl kreatinin değerleri esas alınarak ASCM pozitifliği ve rejeksiyon arasındaki bağlantı Fisher's Exact test ve ki-kare testi ile değerlendirildiğinde ise, ASCM sonuçlarının yine 7. ve 14. günlerdeki kreatinin değerleri ile bağlantısı istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, rejeksiyon ile kreatinin değerleri arasındaki bağlantı 1. gün dışındaki zamanlarda (7., 14., günler 1., 3., 6., ve 12. aylar) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Tablo 4).

## TARTIŞMA

Böbrek nakli olan hastalarda verici HLA antijenlerine karşı oluşabilen anti HLA antikorlarının saptanması gereklidir (9). Klasik olarak bu antikorlar serolojik yöntemlerle saptanmaktadır. Nakil öncesi anti HLA antikorlarının varlığında hastalarda organ reddi ortaya çıkmaktadır. Nakil sonrası oluşan HLA antikorlarına sahip hastalarda da rejeksiyon atakları ve graft yetmezliği olasılığından bahsedilmektedir (8). ASCM, anti HLA antikorlarını serolojik yöntemlere göre daha iyi belirleyebilen gelişmiş yöntemlerden biridir. Bu çalışmaya akraba canlı vericiden nakil olan 50 kronik böbrek yetmezliği hastası alınmıştır. HLA uyumu en az 1A 1B 1DR olan canlı akraba vericilerden böbrek transplantasyonu yapılan 50 hastanın

1.gün-12.ay arasında 7 farklı tarihe ait olan serumlarında ASCM ile DSA'lar araştırılmıştır. ASCM sonuçlarına bakıldığında, 50 alıcıdan toplam 11(% 22)'inin nakil sonrası ASCM sonuçlarının (+) olduğu ve bu pozitif olan sonuçların, % 36,3'ünün T ve B ASCM, % 27,2'sinin T ve % 36,3'ünün de B ASCM olması dikkat çekicidir. Hastalar rejeksiyon açısından değerlendirildiğinde, ASCM sonucu (+) olan hastaların % 54,6'sı rejeksiyon geçirirken, % 45,4'ünde rejeksiyon bulgusuna rastlanmamıştır. ASCM (-) olan 39 alıcının % 7,6'sı rejeksiyon veya rejeksiyon atağı yaşamamıştır. Hastaların 2'si hiperakut rejeksiyon geçirerek böbreklerini kaybetmişler, 4 hasta ise kronik rejeksiyon nedeni ile takip edilmektedir. Bu çalışma, Rodriguez ve arkadaşlarının (9) yaptığı çalışmada ile uyumlu olarak ASCM (+)'liğinin hiperakut rejeksiyon ile ilişkili olduğu, Rodriguez ve arkadaşlarının (9) bulgularından farklı olarak da kronik rejeksiyonu da yansıttığını göstermektedir.

1.grupta toplam 9 T ve/veya B ASCM (+) olan hastanın 2'sinin hiperakut rejeksiyon geçirmesi, 3'ünün ise kronik rejeksiyon nedeniyle takip edilmesi erken dönemde oluşan DSA'ların rejeksiyon ile bağlantısı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu sonuç da Puig ve arkadaşlarının (8) sonuçları ile paralellik göstermektedir. Yıllar önce immunize olmuş ancak nakil öncesi DSA tesbit edilemeyen bir hastada rejeksiyon görülmesi, bu alıcı grubunun riskli bir grup olduğunu ve daha titizlikle araştırılması gerektiğini göstermektedir. Crespo ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir (3).

Çalışmaya dahil edilen hastaların 35 (% 79)'inin nakil öncesi ASCM ve nakil sonrası ASCM sonuçları (-) olarak bulunurken, nakil öncesi ASCM (-) olan 9 hastanın da (nakil sonrası ASCM (+) olan 2 hastaya nakil öncesi ASCM yapılmamıştır) nakil sonrası ASCM sonuçları pozitif olarak tespit edilmiştir. Nakil öncesi B ASCM (+) olan iki hastanın da nakil sonrası dönemde ASCM sonucu negatif olarak bulunmuştur. Christiaans ve arkadaşları da kadavradan böbrek nakli olmuş hastalarının bir grubunda nakil öncesi T veya B ASCM'nin (+) olduğu, ancak nakil sonrası bu hastaların büyük kısmında T veya B ASCM'nin (-) olduğunu tespit etmişlerdir. Nakil öncesi ASCM (+) sonuçların (-)'e dönme mekanizması bilinmemektedir. Bu pozitifliklerin antiidiyotipik antikorlardan kaynaklanabileceği savunulmaktadır (1,6). Çalışmamızda elde edilen sonuçlar ile Christiaans ve arkadaşlarının (1) elde ettiği

sonuçlar değerlendirildiğinde, ASCM ile nakil öncesi saptanan DSA'ların nakil sonrasında tespit edilememesi bakımından paralellik görülmektedir.

T ve/veya B ASCM (+)'liği ve rejeksiyonun  $\geq 2$  mg/dl kreatinin değerleri arasındaki bağlantı değerlendirildiğinde ise, T ve/veya B ASCM (+) olan hasta grubunda, T ve/veya B ASCM (-) olan hasta grubundan daha yüksek kreatinin değerlerine sahip olduğu, ancak bu sonuçların 7. ve 14. günlerde istatistiksel olarak anlamlı olduğu tesbit edilmiştir. Rejeksiyon ile kreatinin değerleri arasındaki bağlantı ise, 1. gün dışındaki zamanlarda (7., 14., günler 1., 3., 6., ve 12. aylar) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Çalışma bu yönü ile de Puig ve arkadaşları ve Piazza ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalar ile uyumludur (7,8).

Sonuç olarak bu çalışmada, nakil sonrasında hastalara uygulanan ASCM testinin böbrek naklinden hemen sonra ortaya çıkabilecek hiperakut rejeksiyon tanısına destek olabileceği veya ilerleyen dönemde ortaya çıkabilecek olan kronik rejeksiyon ile ilgili olarak kliniğin aydınlatılabileceği görülmektedir. Bu çalışmada nakil sonrasında elde edilen ASCM (+) sonuçlar ile rejeksiyon ve graft sağkalımı arasındaki sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0,0002$ ,  $p=0,045$ ). Hedef hücre özelliğine göre rejeksiyon ile ASCM pozitifliği değerlendirildiğinde ise, hem T ASCM hem de B ASCM istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ( $p= 0,0478$ ,  $p= 0,0005$ ).  $\geq 2$  mg/dl kreatinin düzeyleri ile rejeksiyon arasındaki bağlantı istatistiksel anlamlılık açısından değerlendirildiğinde, 1. gün dışındaki tüm sonuçlar anlamlı bulunmuştur.  $\geq 2$  mg/dl kreatinin düzeyleri ile T ve/veya B ASCM (+)'liği arasındaki bağlantı istatistiksel anlamlılık açısından değerlendirildiğinde ise, 7. ve 14. günlerdeki sonuçlar anlamlı bulunmuştur (Tablo 4).

Böbrek nakli sonrasında özellikle ilk ay içinde uygulanan ASCM'nin böbrek rejeksiyonunun değerlendirilmesine katkıda bulunacağı görülmektedir. ASCM'in hassas bir teknik, nakil sonrası immun cevabın aydınlatılmasında ümit verici bir yaklaşım olduğu söylenebilir. Ayrıca nakil sonrası ASCM, hastanın klinik durumu rejeksiyon olasılığı gösterdiği zaman uygulanabilecek bir test yöntemidir.

## KAYNAKLAR

1. Christiaans MH, Overhof-de Roos R, Nieman F, van Hooff JP, van den Berg-Loonen EM. Donor-specific antibodies after transplantation by flow cytometry: relative change in fluorescence ratio most sensitive risk factor for graft survival. *Transplantation* 1998; 15:427-433.
2. Christopher FB, Karen AB, Paul WN, Alan ML, John M, George EP, Gilbert R, Charles FS, III, Bradley AW, Mark IA, Thomas SH, And Nic M. Long term graft survival is improved in cadaveric renal retransplantation by flow cytometric crossmatching. *Transplantation* 1998; 66:1827-1832.
3. Crespo M, Pascual M, Tolckoff-Rubin N, Mauyyedi S, Collins AB, Fitzpatrick D, Farrell ML, Williams WW, Delmonico FL, Cosimi AB, Colvin RB, Saidman SL. Acute humoral rejection in renal allograft recipients: I. Incidence, serology and clinical characteristics. *Transplantation* 2001;15:652-658.
4. Garovoy MR, Melzer JS, AScher N, Magilligan D, Ozdeh M. Clinical transplantation, In: Stites DP, Terr AI (ed), *Basic and Clinical Immunology*. Los Altos, California, USA, 7th ed. 1991; pp 747-765.
5. Karpuzoğlu T. Organ Nakli İmmunobiyolojisi. Karpuzoğlu T (çev.ed.). *Böbrek Nakli El Kitabı*. Öncü Basımevi. Ankara, Türkiye 3.baskı., 2003; sayfa17-38.
6. Kubly J. Cell mediated and humoral effector responses, In: *Immunology*; New York USA 3.th ed. 1997; pp 555-571.
7. Piazza A, Adorno D, Poggi E, Borrelli L, Buonomo O, Pisani F, Valeri M, Torlone N, Camplone C, Monaco PI, Fraboni D, Casciani CU. Flow cytometry crossmatch: A sensitive technique for assessment of acute rejection in renal transplantation. *Transplant Proc.* 1998; 30:1769-1771.
8. Puig N, Pallardo LM, Villalba JV, Sanchez J, Crespo J, Rodriguez R, Montoro JA. Donor-specific flow cytometric crossmatch after kidney transplantation. *Transplant Proc.* 1995;27:2369-2370.
9. Rodriguez PC, Palacio JL, Arango L, Henao JE, Garcia LF. Detection of allo and auto antibodies in kidney transplantation by flow cytometry. *Transplantations Proceedings*, 1999;31:282-284 .
10. Scornik JC. Detection of alloantibodies by flow cytometry: relevance to clinical transplantation *Cytometry (Communications In Clinical Cytometry)* 1995; 22: 259-263.
11. Strom TB. The immunopharmacology of graft rejection. *Transplant Proc.* 1987;19: 128-129.