



Organ Redlerine Işık Tutabilecek Nakiller: Kompozit Doku Nakilleri

Transplantations which might Shed Light on Organ Rejections: Composite Tissue Transplantations

Mustafa Gökhan ERTOSUN¹, Özlenen ÖZKAN², Ömer ÖZKAN²

¹Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

²Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

Yazışma Adresi

Correspondence Address

Ömer ÖZKAN

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik
Cerrahi Anabilim Dalı,
Antalya, Türkiye

E-posta: omozkan@akdeniz.edu.tr

ÖZ

Son dönem böbrek ve karaciğer yetmezliği gibi ölümlü sonuçlanabilecek hastalıkların kesin tedavisi olarak organ nakli (Transplantasyon) uygulanmaktadır. Organ nakilleri her ne kadar hastayı yaşama bağlayan bir yöntem olsa da; nakledilen organların reddedilme riski mevcuttur. Organ Rejeksiyonlarının organ nakillerinin önemli bir dezavantajı olmasından dolayı üzerinde yapılan araştırmaların sayısı fazladır.

Son on yılda hastanın yaşam kalitesini artırmak için uygulanan kompozit doku nakillerinin sayısı artmıştır. Yapılan nakil sayılarının artması sonucu, kompozit doku nakillerinde gelişen kronik rejeksiyon sıklığının solid organ naklindekinden daha az olduğu görülmüştür. Daha immünolojik özellikteki dokuların nakledilmesine rağmen kronik rejeksiyon görülme sıklığının az olması merak uyandırıcıdır. Bu seyrek görülen rejeksiyonların altında yatan moleküler ve immünolojik nedenlerin aydınlatılması büyük önem taşımaktadır. Elde edilecek bilgiler doğrultusunda solid organ nakillerinde de oluşacak rejeksiyonların erken tanısı ve de önlenmesinde bilim camiası önemli bir ilerleme gösterecektir.

Anahtar Sözcükler: Rejeksiyon, Kompozit, Doku nakli, Organ nakli

ABSTRACT

Transplantation is used as a cure for the end-stage renal and liver failure that may be fatal. Although transplantation is an option for the patient to cling to life, there is a risk of rejection of the transplanted organ. Extensive research has been conducted on this subject as organ rejections are a major problem of transplantation.

The number of composite tissue transplants, which are performed to improve the patient's quality of life, has increased during the last decade. The frequency of chronic rejection in composite tissue transplantation with this method has been observed to be less than that of solid organ transplantation. A lower frequency of chronic rejection is intriguing given the fact that more immunogenic tissues are transplanted in composite tissue transplantation. The elucidation of molecular and immunological mechanisms underlying this "rare rejection" phenomenon is of utmost importance. The scientific community might make significant progress in the early diagnosis and prevention of solid organ rejections data from future studies.

Key Words: Rejection, Composite, Tissue transplantation, Transplantation

Geliş tarihi \ Received : 28.04.2015

Kabul tarihi \ Accepted : 28.04.2015

GİRİŞ

Transplantasyon (Nakil); son dönem böbrek, karaciğer yetmezliği gibi ölümcül sonuçlara sebep olan hastalıkların tedavisinde kullanılan en güncel tedavi yöntemidir. Örnekleri verilen ölüm ile sonuçlanabilecek hastalıklarda tam kür sağlayan başka herhangi bir tedavinin günümüzde var olmaması, transplantasyonun önemini daha da arttırmaktadır. Bu nedenle transplantasyon sadece klinik dalların değil, araştırmacıların da dikkatlerini üzerine çekmiştir.

DOI: 10.17954/amj.2015.12

Organ nakilleri her ne kadar avantajlı bir durum gibi görülse de rejeksiyon gibi negatif ve büyük önem arz eden yönü de göz önünde bulundurulmalıdır. Alıcıya cerrahi yöntem ile aktarılan doku veya organın, alıcının immün sistemi tarafından saldırıya uğraması sonucuyla dokunun bütünlüğünün bozulması bu nedenle de fonksiyonunu yerine getirememesine organ reddi veya rejeksiyonu denilmektedir.

Cerrahi ekip ne kadar iyi olursa olsun, cerrahi travmaya uğrayan organ veya doku, sitokinlerin başrolünü oynadığı bir inflamasyonel yanıtla karşılaşır. Greft yani nakledilen doku veya organ; makrofaj ve dendritik hücre olarak adlandırılan antijen sunan hücrelerle birlikte nötrofil ve lenfositlerin infiltrasyonuna uğrar. Bu inflamasyon olayını da sitokinler yönetmektedir. Sitokinler, aktive edilmiş immün sistem hücreleri tarafından salınan ve diğer immün hücrelerin inflamasyona katılmasını sağlayan çözünme yeteneğine sahip küçük moleküllerdir. Sitokinler sekresyon özelliği olan hücrelerin özelliğini değiştirerek "otokrin"; komşu hücrelerin aktivasyonunu ve diferansiyasyonunu değiştirerek "parakrin" özellik gösterir. Tipik olarak IL-2, TNF-alpha, IFN-gamma ve IL-1 β allogreft transplantasyon sonrası salgılanan sitokinlerin başında yer almaktadır. Bunlar ve bunlara benzer sitokinler immün sistem hücrelerinin lenfatik sistemden doku veya organa migrasyonuna neden olur. Böylelikle alıcının T hücreleri greftin antijenik yapısı ile uyarılmış olur ve infiltrasyon başlar. Bu grefte karşı oluşturulmuş düzenli immün yanıt T hücre aracılı B hücrelerin antikor salgılamasına neden olur. Nakil sonrasında nakledilen dokuya karşı oluşan immün cevabın daha iyi anlaşılabilmesi için nakledilen dokunun rejeksiyonundaki ve de toleransındaki immün cevabın/sitokin profilinin iyi bilinmesi ve bu immün cevabın oluşumundaki bilinmeyen mekanizmaların ortaya çıkarılması gerekmektedir.

Sitokinler ve Rejeksiyon

Akut rejeksiyon (erken rejeksiyon) sırasında T hücreleri kendi proliferasyonunu ve differensiyasyonunu sağlayan sitokinleri salgırlar. Hücre bazı rejeksiyonun gerçekleşme sürecinde aktive olmuş T hücreleri IL-2'nin başı çektiği birçok sitokinin üretimini gerçekleştirir. Sitokinler ayrıca dendritik hücreler, makrofajlar ve B hücreleri gibi immün sistemde başrolü oynayan hücre tiplerinin de farklılaşmasına neden olur (1). Bilindiği üzere IL-2, T hücre aktivasyonunda başrol oynamaktadır. IL-2 tarafından uyarılan T hücreleri proliferasyona başlar. Bu uyarım yardımcı T hücrelerinin Th1'e yönelimine neden olur. Th1 yanıtının da organ rejeksiyonuna neden olduğu bilinmektedir.

Horak ve ark.nın da üzerinde durmuş olduğu üzere IL-2 defektli fareler üzerinde yapılan çeşitli çalışmalarda MHC

uyumsuzluğu olan çoklu organ nakillerinde yine rejeksiyon görülmüştür (2) . IL-2 knock-out farelerde periferik damarlarda aktive olmuş T hücrelerinin sürekliliğine neden olan akut lenfo-proliferatif sendromunun meydana geldiği de görülmüştür(2).

IL-2, T hücre proliferasyonuna neden olmasının yanı sıra T hücrelerini apoptoza da götürmektedir. Böylelikle aktive olan T hücre sayısını ayarlayarak T hücre homeostazisinde de sorumluluğu vardır. T hücrelerinin hem proliferasyonunda hem de apoptozunda nasıl görev aldığı tam olarak aydınlatılmamıştır. Yapılan in vivo deneylerde IL-2'nin Fas aracılı T hücre apoptozuna; Fas'ın alt yolağında bulunan inhibitör etkili FLIP adlı molekülü inhibe ederek neden olduğu gösterilmiştir(3). Böylelikle IL-2 kaspaz aktivasyonu aracılığıyla apoptoza neden olan FAS seviyesini artırmış olmaktadır(4). Xianchang Li, hücre bölünmesinin ilk safhalarında IL-2'nin T hücrelerinin klonal aktivasyonunun indüksiyonunu başlatmak için gerekli olduğunu belirtmiştir. IL-2 daha sonra kendi reseptörünün gamma zincirini downregüle eder ve hücreyi apoptoza duyarlı hale getirir. IL-2'nin bu özellikleri, bu sitokinin ikili rolünü göstermektedir(5).

IFN-alpha ve IFN-beta ile tip 1 sitokin ailesine üye olan IL-12, Th1 hücrelerinin gelişmesinde kilit bir rol üstlenmektedir. Bu sitokinler, dendritik hücrelerin ve makrofajların aktive olması sonucu bu hücreler tarafından sentezlenmektedir. Th1 tip hücrelere dönüşüm gerçekleştikten sonra IFN-gamma ile birlikte IL-2, nakil bölgesinde bulunan ve greftin kaybına neden olan Th1 aracılı CD4+ hücre değişimine neden olur. Aktivasyona ek olarak; IFN-gamma ve TNF-alpha gibi bazı sitokinler fibroblast, timik epitel hücresi başta olmak üzere değişik dokularda MHC tip II sentezini up-regüle eder. Bu ekspresyon artışı daha az immünolojik özellik gösteren hücrelerin non-profesyonel APC (antijen sunan hücreler)'e dönüşümünü sağlar. Böylelikle nakledilmiş doku veya organa karşı oluşturulan alloreaksiyon artmış olur. Özellikle pro-inflamator sitokinlerden olan TNF-alpha'nın makrofaj fonksiyonlarını aktive ettiği ve MHC tip II ekspresyonunu artırarak akut rejeksiyonda önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir(6).

Nakil edilmiş greft mikroçevresinde hücreler tarafından salınmış Th1 tip sitokinlerin yanı sıra Th2 tip olarak adlandırılan IL-4, IL-5, IL-6 ve IL-10 sitokinleri de bulunmaktadır ki bu sitokinler T ve B hücrelerin aktivasyonunda görev almaktadırlar. IL-4, IL-5 ve IL-10 tarafından oluşturulan sinyal sonucu B hücreleri, antikor sentezi yapma özelliği olan plazma hücrelerine dönüşmektedirler. Th2 tip sitokin olarak kabul edilen IL-6, Th17 hücreleri tarafından salınmaktadır. Kalp nakillerinde IL-6'nın neden olduğu B hücre olgunlaşmasının yararlı mı, zararlı mı olduğu hakkında kesin bir sonuca varılmamıştır(7).

Nakil bölgesinde bulunan Th1, Th2 ve Th17 adlı üç yardımcı T hücre alt grubu immünolojik dengenin kurulmasını sağlar. Bu;

- IFN-gama ve IL-12 sitokinlerinin Th2 formasyonunu engellemesi ve IFN-gama'nın B hücrelerinin aktive olmasını engelleyerek Th1'in Th2 cevabını inhibe etmesi ile sağlar.
- IL-4 aracılığıyla ise Th2, Th1 hücrelerini baskılar.
- Th17 hücreleri ise genelde IL-4 ve IFN-gama ile inhibe edilir.

Th1 üzerinden aktivasyon görüldüğünde, pro-inflamasyon sitokinleri tarafından aktive olmuş lenfositlerin nakil bölgesine damar endotel yapılarından infiltrasyonu gerçekleşir. Bu olay, TNF-alpha ve VEGF'in vasküler geçirgenliği ve dolayısıyla proinflatuvar granulositlerin grefte infiltrasyonunu artıran "çift yönlü" bir yapıya sahiptir. Damardaki geçirgenlik artışı sonucu infiltrasyonun gerçekleşmesi ICAM-1 ve VCAM-1 gibi farklı kemokin reseptörlerinin ve E-selectin gibi adhezyon proteinlerinin up-regülasyonu takip eder. Aktive olan hücreler ekstra lenfoid bölgelerine göç ederler ve olgunlaşmamış lenfositleri yönlendirerek grefte karşı immün tepkinin artışı sağlarlar(8,9).

Th2 cevabı sürecinde IL-2 ve IL-10'un nakil sonunda greftin sağkalım süresi ile bağlantılı olduğu da bilinmektedir. Örnek olarak IL-10 sitokin cevabı antijen sunan hücrelerin (APC) fonksiyonunu ve TNF-alpha ürünlerini baskılar(10). Yine IL-10, MHC tip II uyumsuzluğu modellerinde PD-1'i ve *in vitro* deneylerde de ICAM-1'i inhibe eder(11,12).

İmmün sistem tarafından ayrıcalıklı bölgelerden olan korneanın rejeksiyonunda da sitokinler rol oynamaktadır. Her ne kadar immünolojik bakımdan ayrıcalıklı bölgelerden biri olsa da kornea greftinin rejeksiyonunda IFN-gamma ve TNF-alpha etkinlik göstermektedir. CD4+ hücreler ile ön plana çıkan Th1 tipi immün cevap hücreleri, korneal greft rejeksiyonunda etkilidirler(13). TNF-alpha seviyeleri serum ve aqueous humor sıvısında artarak korneal rejeksiyonda etkindir. Aynı şekilde korneal rejeksiyonda IFN-gamma miktarları da artış göstermektedir(14). Buna rağmen IFN-gamma knock-out farelerde yani Th1 tipi cevabın olmadığı durumlarda da rejeksiyon gözlenmiştir. Buna ek olarak nakil bölgesinde eozinofil filtrasyonu görülmüştür ki bu da Th1/Th2 oranının önemini tekrar gözler önüne sermiştir(15,16). Bununla birlikte korneal rejeksiyon bölgesinde bulunan eozinofilin görevi hâlâ tam olarak aydınlatılmamıştır(9).

Sitokinler ve Tolerans

Nakilde tolerans, takılan greftin immünsupresansız veya minimal immünsüpresan varlığında fonksiyonlarını devam ettirmesi olarak tanımlanabilmektedir. Başka bir yabancı dokunun nakledilmesi sonucu greft immünolojik cevap

ile karşı karşıya kalır. Çoğu olguda immünomodulator kullanılmazsa greft nakli rejeksiyon ile sonuçlanır. İmmünomodülasyon stratejilerinin temel amacı; immüno-supressif ajanlar ile immünolojik cevabı kontrol altına alıp greft sağ kalımını arttırmak ve immün cevabı greftin toleransı doğrultusunda ayarlamaktır.

Günümüze kadar nakilde toleransı açıklayacak birçok teori ortaya atılmıştır. Bunlardan ilk "iki sinyal teorisi"ne dayanmaktadır. "iki sinyal teorisi" isminden de anlaşılacağı üzere iki farklı sinyalin T hücrelerini aktive etmesi üzerine kurulmuş bir teoridir. Bu bahsi geçen sinyallerin ilki; antijen sunan hücreler aracılığıyla peptidlerin sunulmasıdır. İkincisi ise ko-stimülatör sinyal olarak da adlandırılan ve antijen sunan hücrelerin yüzeyi ile T hücre yüzeyinin etkileşime geçmesidir. Örnek vermek gerekirse; T hücre yüzeyinde sentezlenen CD28 molekülü antijen sunan hücrelerin yüzeyinde bulunan CD80 (B7.1) ve CD86 (B7.2) olarak adlandırılan reseptörlerine bağlanır. İlk uyarın ardından oluşacak ikincil uyarının yani ko-stimülasyonun oluşmaması, T hücre reseptörlerinin neden olması sonucu, tolerans oluşmasına yol açmış olacaktır(17). Janeway, T hücre aktivasyonu için gerekli olan APC'lerin dahil olduğu bu "iki sinyal teorisi" üzerinde durmuştur. Bu teori Matzinger'in önerdiği "tehlike sinyali teorisi" için yolu açtı. Matzinger, hasarlı veya apoptotik hücrelerden salgılanan ürünlerin immün sistemin cevabına neden olduğunu söylemiştir(16). Aynı şekilde bu ürünlerin yokluğunun da toleransa neden olabileceğini akllara getirmektedir(16). Antijen sunan hücreler (APC), salgılanan sitokin miktarına ve türüne göre, alıcının immün cevabını kontrol altına alarak grefte karşı tolerans geliştirebilir. Monk ve ark.nın öne sürdüğü teoriye göre sınırlı sağkalım faktörü (örn: IL-7 ve IL-15) ve yetersiz aktivasyon (örn: IL-10 ve TGF-beta) T hücreyi öldürmediği gibi proliferasyonuna da neden olmamaktadır. Bu sitokin profiline göre de toleransın gelişebileceğini öne sürmüşlerdir(17,18).

Regulör T hücreleri (Treg; CD4+CD25+) tolerans ile ilişkilendirilmiş olup nakilde görülen toleranstaki en önemli T hücre alt gruplarının başında gelmektedir. Bilindiği üzere Tregler immün sistemi kontrol altında tutan önemli mediatörlerdendir. Tregler IL-10 ve hücre yüzeyine bağlı TGF-beta sentezlemektedirler. Deri greft modellerinde, IL-10'nin Treglerin immün sistemi baskılayıcı özelliğini iyileştirdiği gösterilmiştir(19). Buna ek olarak nakilde Th2 tipi immün sistem cevabı (IL-4 ve IL-10), tolerans oluşumunu kontrol etmektedir(20). T hücre reseptörlerinden CD3 ile birlikte IL-2 Treg hücrelerini aktive edebilmektedir. Fakat hala IL-2'nin, Treglerin direkt proliferasyonunda mı; yoksa IL-15 ile birlikte Treglerin yaşayabilme özelliğinde mi etkili olduğu için proliferasyonunda söz sahibi olduğu kesin olarak bilinmemektedir.

IL-2 allogreft rejeksiyonu için değil de toleransın ayarlanması için son derece önemlidir. IL-2 knock-out farelerde yapılan adacık naklinde ve kalp naklinde T hücrelerin apopitoza uğramasının engellenmesi sonucu greftlere tolerans gelişmediği gösterilmiştir (21,22). Bu rejeksiyonlar IL-2'nin greft toleransında ne kadar önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir. Aynı şekilde normal yani fizyolojik şartlarda IL-2 ekspresyonuna sahip farelerde, IL-2 seviyesi farmakolojik ajan aracılığıyla baskılandığında greft toleransının gerçekleşmediği gözlenmektedir ki bu da IL-2'nin tolerans oluşmasında önemli bir göreve sahip olduğunu göstermektedir.

IL-2'nin, toleransın oluşumundaki katkısı gibi; IL-4 knock-out farelerde yapılan kalp nakil deneylerinde de IL-4'ün greft tolerans oluşumunda önemli bir role sahip olduğu gösterilmiştir(23). İlginçtir ki IL-4 ve IL-2 reseptörlerinde aynı gamma zincirini sentezlerler. Normal fizyolojik IL-4 ve IL-2 sentezleyen yabancı tip farelerde adacık nakli sonrası interlökin reseptörlerinin aynı gamma zincirine karşı oluşturulmuş farmakolojik ajan ile fareler muamele edildiğinde, T hücrelerinin apopitoza girdiği bu nedenle de stabil bir greft toleransı gözlenmiştir(24). Greft toleransında görev alan diğer bir sitokin ise IL-9'dur. Tolerans göstermiş deri nakillerinde aktive Treg'ler tarafından salınan IL-9'un, mast hücrelerini aktive ettiği ve kuvvetlendirdiği gösterilmiştir. Bununla birlikte deri nakilleri yapılmış farelerde, IL-9'un nötralize edilmesi greft rejeksiyonun hızlanmasına neden olmuştur(25).

CD4+ T hücrelerinden olan Th17 de toleransın gelişmesinde önemli bir role sahiptir. CD4+ T hücrelerinin TGF-beta etkisi altında Treg hücrelerine; TGR-beta ve IL-6 altında Th17 hücrelerine dönüştüğü bilinmektedir. Th17 hücreleri IL-23 ile uyarıldığında, daha önce Th1 ve Th2 hücreleri tarafından salındığı gösterilmemiş olan IL-17 sitokinin salınımını gerçekleştirmektedir.

Th17 hücrelerinin, Treg hücrelerinin üretimini kontrol altına alması ve nakledilen greftin toleransının azalmasına neden olması dolayısıyla daha çok araştırılması gerekmektedir. Renal iskemik perfüzyon sonrası makrofajlardan üretilen IL-6'nın Th17 hücrelerini aktive ettiği gösterilmiştir. Bunun sonucu olarak da Treg hücrelerinin sayısı ve grefte olan tolerans azalmıştır(26). Yoshida ve ark. iskemik akciğer reperfüzyon cerrahisinden sonra bölgesel IL-23 ve IL-17'nin varlığını göstermişlerdir(27). Başka bir çalışmada ise, akut rejeksiyon süresince IL-17 salgılandığı gösterilmiştir(28). Kalp nakillerinde IL-17 reseptör antagonisti kullanılarak IL-17 ağının engellendiği gösterilmiştir. IL-17 ağının engellenmesi sonucu ise IFN-gamma gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin sentezi azalmış ve greftin sağkalım süresi artmıştır(29). İlginç bir şekilde reseptör antagonistinin akut dönemde kronik dönemden daha etkili olduğu gösterilmiştir(30). Son olarak IL-17'nin organ greft

rejeksiyonu sırasında dendritik hücrelerin olgunlaşmasında görev aldığı belirtilmiştir(31). Bu nedenledir ki IL-6, IL-23 ve IL-17 gibi sitokinlerin engellenmesi greft toleransına neden olabilmektedir.

Özetlemek gerekirse Th1 ve Th2 cevaplarının, greftin sağkalımı ile doğrudan ilişkili olduğu birden fazla araştırma ile gösterilmiştir. Nakil sonrası verilen immünolojik cevabın büyük bir oranı aynı gibi görünse de farklı doku nakillerinde başrolü oynayan sitokinler farklılık gösterebilir. Akciğer nakillerinde IL-1, IL-2 ve IL-12 başrolü oynarken; kornea nakillerinde TNF-alpha ve IFN-gama başrolü oynamaktadır (11,16). Bu farklılıkların, farklı dokuların rejeksiyon sürelerinin de farklı olmasını sağladığı düşünülmektedir. Bu nedenle bazı dokuların akut, bazılarının da kronik rejeksiyon gösterme eğiliminde olması şartıdır.

Farklı organ nakillerindeki periferik kandaki farklı sitokin profilleri klinik bulguları ve rejeksiyon özellikleri ile değerlendirildiğinde rejeksiyon farklılıklarında görev alan sitokinler hakkında ipucu vermiş olur.

Th1 sitokinlerinin ön planda olduğu nakil tiplerinde Th1 hücrelerinin sitotoksik T hücrelerini aktive etmesi sonucu daha erken yani akut rejeksiyonun görülmesi beklenmektedir. Yine aynı şekilde Th2 sitokinlerin ön planda olduğu nakillerde ise B hücrelerin antikör üretiminin amaçlanmasıyla uzun süreli (kronik) rejeksiyon görülmektedir.

Rejeksiyon ve Kompozit Doku Nakilleri

Kronik Rejeksiyon, solid organ nakillerine kıyasla daha az görülmesine rağmen kompozit doku nakillerinde de görülmektedir. Kompozit doku nakillerinde ilk kronik rejeksiyon bildirilene kadar klasik kronik rejeksiyon kriterlerinin bu tür nakiller içinde geçerli olabileceği varsayıyordu(32). Ve bu tür nakillerde kronik rejeksiyonların sonucu olarak damar çapının daralması, myointimal proliferasyon, deri ve kas atrofisi, derin doku fibrozisi gibi bulguların oluşabileceği öngörülyordu.

Farklı merkezlerde yapılan kompozit doku nakillerinin sonuçları birbiriyle karşılaştırıldığında tutarlı kronik rejeksiyon bulgularının olmadığı görülmektedir. Kaufman ve ark. tarafından bildirilen o zamana kadar takip edilen kronik rejeksiyon göstermiş el nakilli hastaları içeren en büyük seride intimal hiperplasi sonucu doku iskemisi gerçekleştiği belirtilmiştir(33). Konveksiyonel anjiyografi ile saptanılmadığı söylenen bu iskemi sonrası doku kaybı meydana gelmiştir. İskemiye neden olan hiperplazinin verici damarları ile sınırlı kalması, bu hiperplazinin teknik nedenden çok immünolojik nedenler sonucu gerçekleştiğini düşündürmektedir. Diğer dikkat çekici olan konu ise bu kronik rejeksiyon atağı geçiren hastaların, immünsüpresan tedavisi ile uyum göstermesidir(34).

Kanıtakis ve arkadaşları, tarafından yapılan çift taraflı kol nakli sonrası alıcıda vericiye ait Langerhans Hücrelerine rastladıklarını belirtmektedirler. Langerhans Hücrelerinin bulunması nakil sonrasındaki 10 yıl boyunca devam etmiştir(35,36). Kol nakli yapılmış hastalar üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise, donör derisinde FoxP3+ T hücreleri bulunmuştur(37). Diğer kol nakilli hastalarda yapılan çalışmalarda da nakilden uzun zaman sonra rejeksiyonun gözlemlendiği süreler boyunca deride FoxP3 ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir(38). Treg hücreleri, verici-spesifik antijenlere karşı alıcının immün sistemini sahip olduğu geri besleme döngüsü aracılığıyla düzenlemekte kritik bir öneme sahiptir. Büyük olasılıkla Treg hücreleri efektör T hücrelerinin infiltrasyonunu engelleyerek bu düzenlemeye katkıda bulunmaktadır.

Almanya'da yapılan altı farklı diz naklinden birinde benzer damarsal bozukluklar bulunmuştur. Diz hareket derecesinde azalma bulguları varlığı nedeni ile 36. ayda derin doku biyopsisi yapıldığında intimal hiperplazi ve de damar oklüzyonu olduğu görülmüştür. 56. ayda ise allogreft, infeksiyon yüzünden kaybedilmiştir(39). Bu hastanın biyopsisi üzerinde immünohistokimyasal ve de C4d boyaması yapılmadığı için kronik rejeksiyonun gelişimi hakkında daha ayrıntılı moleküler bilgiye sahip değiliz.

Kompozit doku nakillerinde kronik rejeksiyonun oluşma mekanizmasını açıklamak için deney hayvanları üzerinde farklı çalışmalar mevcuttur. 2009 yılında yapılan bir çalışmada, arka bacak nakli yapılmış ratlarda intimal hiperplaziye ve de damarlarda progresif olarak gerçekleşen daralmaya rastlanmıştır(40). Bu çalışmada, immünsüpresif bir ajan siklosporin, akut rejeksiyon bulguları görülene kadar kesilmiş; bulguların ortaya çıkması sonrası akut rejeksiyon bulguları ortadan kalkana kadar tekrar uygulanmıştır. Nakilden 90 gün sonra bakıldığında yaklaşık yarısında distal myointimal proliferasyon gözlenmiştir. Bu bulguya ek olarak tüylerde atrofi, deride incelleme, atrofik myosit fibrozisi ve sebace bez fibrozisi de gözlenmiştir. Bu çalışma akut rejeksiyon ataklarının, kronik rejeksiyon ataklarının oluşumunda rol aldığını düşündürmektedir. Benzeri bir çalışma da ise kronik rejeksiyon bulguları ile anti-donor antikoru arasında bir ilişki kurulamamıştır(41).

Başka bir grup tarafından ratlar üzerinde yapılan bacak dokusu nakilinde uzun dönem kısmi kimerizmin de gerçekleştiği gösterilmiştir(42). Bu çalışmadan, elde edilen sonuçlara rağmen klinik araştırmalarda kompozit doku nakli yapılmış bireylerde periferik kanda kısa süreli bir mikrokimerizm olduğu gösterilmiştir(43). Bu kısa süreli kimerizmin yeteri kadar hematopoetik kök hücre içeren kemik parçasının nakledilmemesinden ya da nakledilen kök hücrelerin alıcı immün sistemi tarafından yok edilmesi sonucu gerçekleşme ihtimali yüksektir.

İnsan olmayan primatlar üzerinde yapılan diğer iki kompozit doku nakili çalışmalarında takrolimus tabanlı immünsüpresif tedavide de kronik rejeksiyon bulguları görülmüştür. Hem serbest fibula naklinde hem de heterotopik yüz naklinde myointimal hiperplazi, lenfoid folikül gelişimi ve greft fibrozisi ortaya çıkmıştır(44). Bu damarsal değişimler greftte bulunan farklı çaplardaki damarlarda gerçekleşmiştir. Bu damarsal değişimlerin varlığında akut deri rejeksiyonunun görülmemesi, kronik rejeksiyonun derin doku ve de yüzeysel dokudaki etkilerinin farklı olabileceğini göstermiştir. Bu primatlar üzerinde yapılan çalışmalar, klinik çalışmalardan elde edilen bulgularla örtüşmektedir.

Kompozit doku nakillerinde, nakledilen dokunun, solid organ nakillerinde olduğu gibi vücut boşluğunda bulunmaması, sürekli çevre ile etkileşimde olması nedeni ile kronik rejeksiyonu etkileyecek muhtemel faktörleri iki başlık altında incelemek doğru olacaktır(45):

1. İmmünolojik Nedenler
 - a. Alıcı-Verici HLA Uyumsuzluğu
 - b. Akut Rejeksiyonların Sayısı ve Derecesi
 - c. T hücre kaynaklı Rejeksiyonlar
 - d. Antikor kaynaklı Rejeksiyonlar
 - e. Nakledilen Greftin Deri İçeriği
 - f. Nakledilen Greftin Kemik İliği İçeriği
 - g. Alıcı-Verici CMV Enfeksiyon Durumu
 - h. Enfeksiyon
2. Non-İmmünolojik Nedenler
 - a. Nakil Tipi
 - b. Mekanik Travmalar
 - c. Nakledilen Damarın Kan Akışına Olan Direnci
 - d. Alıcı-Verici Lenfosit Kanallarının Rejenerasyon Derecesi
 - e. Greftin Sinirsel Denervasyonu
 - f. İskemik Zedelenme

Nakledilen dokunun vücut boşluğunda bulunmaması, çevre ile sürekli etkileşim halinde olması ve de deri içeriğinin olması rejeksiyon bakımından kompozit doku nakillerini solid organlardan ayırır. Sürekli çevre ile etkileşimde olması greftin fiziksel travmaya uğrama sıklığını artıracaktır. Nitekim otolog parmak ve el nakli yapılan hastalarda fiziksel travmalar sonrası intimal hiperplazinin geliştiği bilinmektedir(46). Bu fiziksel travmaya, kemokin ve sitokin efektör yolağı gibi immünolojik nedenlerin eklenmesi ile intimal hiperplazinin gözlenme oranı artmaktadır. Bu kadar farklı etkenin rol almasına rağmen yüz nakillerinde bugüne kadar hiç kronik rejeksiyon bildirilmemiştir. Nakledilen el ve bacak dokusundan damarsal akışın daha dirençli olmasına rağmen böyle bir sonucun ortaya çıkması şaşırtıcıdır.

Bütün bu veriler incelendiğinde kompozit doku naklinde kronik rejeksiyon sıklığının seyrek olduğu görülmektedir. Bu tür nakillerde kronik rejeksiyon genellikle intimal hiperplazi, lenfoid folikül oluşumu, greft fibrozisi, greft ödemi ve bunlara ek olarak spesifik olmayan başka bulgular ile kendini belli eder. Greftin iskemisi sonucu dokunun kaybının söz konusu olması kronik rejeksiyonun erken dönemde tanımlanmasını daha önemli bir hale getirmektedir. Kompozit doku nakillerinde kronik rejeksiyon deride hiçbir bulgu vermeden seyredebilir ve de bu durum rutin biyopsiler ile kontrol altına alınmalıdır.

Kompozit doku nakillerinde, solid organ nakillerinde kullanılan immünesupresif rejimin benzeri kullanılmasına rağmen kronik rejeksiyon atakları daha seyrek gelişmektedir. Deri gibi immülojik açıdan önemli dokuların nakledilen greftle birlikte olmasına rağmen solid organ nakillerinden daha seyrek kronik rejeksiyon gelişmesinin nedeni hala tam

olarak aydınlatılamamıştır. Bu tür nakillerde daha seyrek kronik rejeksiyon görülme nedenlerinin bulunmasıyla solid organ nakillerinde görülen rejeksiyonların da önüne geçilebilecektir. Bu nedendir ki kompozit doku nakillerindeki rejeksiyonların oluşum mekanizmalarının araştırılması büyük öneme sahiptir. Deney hayvanları üzerinde gerçekleştirilen çalışmaların bazılarının bugüne kadar yapılmış nakilli bireylerden elde edilen sonuçlar ile uyumaması, klinik çalışmaların önemini daha da artırmaktadır.

Kompozit doku nakillerindeki rejeksiyon mekanizmalarının aydınlatılması diğer nakillere de ışık tutacağı unutulmamalıdır. Kompozit doku nakillerinde yapılan etik çalışmalar klinik açıdan bütün nakillerde gerçekleşen kronik rejeksiyonun önüne geçilmesi için bilim insanlarına ışık tutacaktır.

KAYNAKLAR

- Josien R, Pannetier C, Douillard P, Cantarovich D, Menoret S, Bugeon L, Kourilsky P, Soulillou JP, Cuturi MC. Graft-infiltrating T helper cells, CD45RC phenotype, and Th1/Th2-related cytokines in donor-specific transfusion-induced tolerance in adult rats. *Transplantation* 1995; 60: 1131-9.
- Horak I, Lohler J, Ma A, Smith KA. Interleukin-2 deficient mice: a new model to study autoimmunity and self-tolerance. *Immunol Rev* 1995; 148:35-44.
- Refaeli Y, Van Parijs L, London CA, Tschopp J, Abbas AK. Biochemical mechanisms of IL-2-regulated Fas-mediated T cell apoptosis. *Immunity* 1998; 8: 615-23.
- Irmeler M, Thome M, Hahne M, Schneider P, Hofmann, K, Steiner V, Bodmer JL, Schroter M, Burns K, Mattmann C, Rimoldi D, French LE, Tschopp J. Inhibition of death receptor signals by cellular FLIP. *Nature* 1997; 388:190-5.
- Li X. The common gamma-cytokines and transplantation tolerance. *Cell Mol Immunol* 2004; 1:167-72.
- McLaughlin PJ, Aikawa A, Davies HM, Ward RG, Bakran A, Sells RA, Johnson PM. Evaluation of sequential plasma and urinary tumor necrosis factor alpha levels in renal allograft recipients. *Transplantation* 1991; 51:1225-9.
- Deng MC, Plenz G, Labarrere C, Marboe C, Baba HA, Erre M, Itescu, S. The role of IL6 cytokines in acute cardiac allograft rejection. *Transpl Immunol* 2002; 9:115-20.
- Reinders ME, Sho M, Izawa A, Wang P, Mukhopadhyay D, Koss KE, Gechan CS, Luster AD, Sayegh MH, Briscoe DM. Proinflammatory functions of vascular endothelial growth factor in alloimmunity. *J Clin Invest* 2003; 112, 1655-65.
- Luscinskas FW, Cybulsky MI, Kiely JM, Peckins CS, Davis VM, Gimbrone MA Jr. Cytokine-activated human endothelial monolayers support enhanced neutrophil transmigration via a mechanism involving both endothelial-leukocyte adhesion molecule-1 and intercellular adhesion molecule-1. *J Immunol* 1991; 146: 1617-25.
- Tripp CS, Wolf SF, Unanue ER. Interleukin 12 and tumor necrosis factor alpha are costimulators of interferon gamma production by natural killer cells in severe combined immunodeficiency mice with listeriosis, and interleukin 10 is a physiologic antagonist. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 3725-9.
- Chang CH, Furue M, Tamaki K. Selective regulation of ICAM-1 and major histocompatibility complex class I and II molecule expression on epidermal Langerhans cells by some of the cytokines released by keratinocytes and T cells. *Eur J Immunol* 1994; 24: 2889-95.
- Sandner SE, Clarkson MR, Salama AD, Sanchez-Fueyo A, Domenig C, Habicht A, Najafian N, Yagita H, Azuma M, Turka LA, Sayegh MH. Role of the programmed death-1 pathway in regulation of alloimmune responses in vivo. *J Immunol* 2005; 174:3408-15.
- Yamada J, Yoshida M, Taylor AW, Streilein JW. Mice with Th2-biased immune systems accept orthotopic corneal allografts placed in "high risk" eyes. *J Immunol* 1999; 162: 5247-55.
- Niederhorn JY. Immune mechanisms of corneal allograft rejection. *Curr Eye Res* 2007; 32:1005-16.
- Hargrave S, Chu Y, Mendelblatt D, Mayhew E, Niederhorn J. Preliminary findings in corneal allograft rejection in patients with keratoconus. *Am J Ophthalmol* 2003; 135: 452-60.

16. Matzinger P. Friendly and dangerous signals: Is the tissue in control? *Nat Immunol* 2007; 8: 11-3.
17. Schwartz RH. Natural regulatory T cells and self-tolerance. *Nat Immunol* 2005; 6:327-30.
18. Monk NJ, Hargreaves RE, Simpson E, Dyson JP, Jurcevic S. Transplant tolerance: Models, concepts and facts. *J Mol Med (Berl)* 2006; 84, 295-304.
19. Kingsley CI, Karim M, Bushell AR, Wood KJ. CD25+CD4+ regulatory T cells prevent graft rejection: CTLA-4- and IL-10-dependent immunoregulation of alloresponses. *J Immunol* 2002; 168:1080-6.
20. Onodera K, Hancock WW, Graser E, Lehmann M, Sayegh MH, Strom TB, Volk HD, Kupiec-Weglinski JW. Type 2 helper T cell-type cytokines and the development of "infectious" tolerance in rat cardiac allograft recipients. *J Immunol* 1997; 158:1572-81.
21. Wells AD, Li XC, Li Y, Walsh MC, Zheng XX, Wu Z, Nunez G, Tang A, Sayegh M, Hancock WW, Strom TB, Turka LA. Requirement for T-cell apoptosis in the induction of peripheral transplantation tolerance. *Nat Med* 1999; 5:1303-7.
22. Dai Z, Konieczny BT, Baddoura FK, Lakkis FG. Impaired alloantigen-mediated T cell apoptosis and failure to induce long-term allograft survival in IL-2-deficient mice. *J Immunol* 1998; 161: 1659-63.
23. Bushell A, Niimi M, Morris PJ, Wood KJ. Evidence for immune regulation in the induction of transplantation tolerance: A conditional but limited role for IL-4. *J Immunol* 1999; 162: 1359-66.
24. Li XC, Ima A, Li Y, Zheng XX, Malek TR, Strom TB. Blocking the common gamma-chain of cytokine receptors induces T cell apoptosis and long-term islet allograft survival. *J Immunol* 2000; 164: 1193-9.
25. Lu LF, Lind EF, Gondek DC, Bennett KA, Gleeson MW, Pino-Lagos K, Scott ZA, Coyle AJ, Reed JL, Van Snick J, Strom TB, Zheng XX, Noelle RJ. Mast cells are essential intermediaries in regulatory T-cell tolerance. *Nature* 2006; 442:997-1002.
26. Kielar ML, John R, Bennett M, Richardson JA, Shelton JM, Chen L, Jeyarajah DR, Zhou XJ, Zhou H, Chiquett B, Nagami GT, Lu CY. Maladaptive role of IL-6 in ischemic acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16:3315-25.
27. Yoshida S, Haque A, Mizobuchi T, Iwata T, Chiyo M, Webb TJ, Baldrige LA, Heidler KM, Cummings OW, Fujisawa T, Blum JS, Brand DD, Wilkes DS. Anti-type V collagen lymphocytes that express IL-17 and IL-23 induce rejection pathology in fresh and well-healed lung transplants. *Am J Transplant* 2006; 6:724-35.
28. Chen Y, Wood KJ. Interleukin-23 and TH17 cells in transplantation immunity: Does 23+17 equal rejection? *Transplantation* 2007; 84:1071-4.
29. Li J, Simeoni E, Fleury S, Dudler J, Fiorini E, Kappenberger L, von Segesser LK, Vassalli G. Gene transfer of soluble interleukin-17 receptor prolongs cardiac allograft survival in a rat model. *Eur J Cardiothorac Surg* 2006; 29:779-83.
30. Tang JL, Subbotin VM, Antonysamy MA, Troutt AB, Rao AS, Thomson AW. Interleukin-17 antagonism inhibits acute but not chronic vascular rejection. *Transplantation* 2001; 72:348-50.
31. Antonysamy MA, Fanslow WC, Fu F, Li W, Qian S, Troutt AB, Thomson AW. Evidence for a role of IL-17 in organ allograft rejection: IL-17 promotes the functional differentiation of dendritic cell progenitors. *J Immunol* 1999; 162:577-84.
32. Cendales LC, Kanitakis J, Schneeberger S, Burns C, Ruiz P, Landin L, Remmelink M, Hewitt CW, Landgren T, Lyons B, Drachenberg CB, Solez K, Kirk AD, Kleiner DE, Racusen L. The Banff 2007 working classification of skin-containing composite tissue allograft pathology. *Am J Transplant* 2008; 8:1396-400.
33. Kaufman CL, Ouseph R, Blair B, Kutz JE, Tsai TM, Scheker LR, Tien HY, Moreno R, Ozyurekoglu T, Banegas R, Murphy E, Burns CB, Zaring R, Cook DF, Marvin MR. Graft vasculopathy in clinical hand transplantation. *Am J Transplant* 2012; 12:1004-16.
34. Kaufman CL, Ouseph R, Marvin MR, Manon-Matos Y, Blair B, Kutz JE. Monitoring and long-term outcomes in vascularized composite allotransplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 2013; 18:652-8.
35. Kanitakis J, Morelon E, Petruzzo P, Badet L, Dubernard JM. Self-renewal capacity of human epidermal Langerhans cells: Observations made on a composite tissue allograft. *Exp Dermatol* 2011; 20:145-6.
36. Kanitakis J, Petruzzo P, Dubernard JM. Turnover of epidermal Langerhans' cells. *N Engl J Med* 2004; 351:2661-2.
37. Eljaafari A, Badet L, Kanitakis J, Ferrand C, Farre A, Petruzzo P, Morelon E, Dubosson M, Tiberghien P, Dubois V, Martin X, Miossec P, Dubernard JM. Isolation of regulatory T cells in the skin of a human hand-allograft, up to six years posttransplantation. *Transplantation* 2006; 82:1764-8.
38. Hautz T, Brandacher G, Zelger B, Muller HG, Lee AW, Fuchs D, Margreiter R, Schneeberger S. Indoleamine 2,3-dioxygenase and foxp3 expression in skin rejection of human hand allografts. *Transplant Proc* 2009; 41: 509-12.
39. Diefenbeck M, Nerlich A, Schneeberger S, Wagner F, Hofmann GO. Allograft vasculopathy after allogeneic vascularized knee transplantation. *Transpl Int* 2011; 24: e1-5.

40. Unadkat JV, Schneeberger S, Horibe EH, Goldbach C, Solari MG, Washington KM, Gorantla VS, Cooper GM, Thomson AW, Lee, WP. Composite tissue vasculopathy and degeneration following multiple episodes of acute rejection in reconstructive transplantation. *Am J Transplant* 2010; 10:251-61.
41. Unadkat JV, Schneeberger S, Goldbach C, Solari MG, Washington KM, Afroz PN, Pulikkottil BJ, Zheng XX, Lee WP. Investigation of antibody-mediated rejection in composite tissue allotransplantation in a rat limb transplant model. *Transplant Proc* 2009; 41:542-5.
42. Hewitt CW, Black KS, Henson LE, Achauer BM, Nguyen JH. Lymphocyte chimerism in a full allogeneic composite tissue (rat-limb) allograft model prolonged with cyclosporine. *Transplant Proc* 1988; 20:272-8.
43. Granger DK, Briedenbach WC, Pidwell DJ, Jones JW, Baxter-Lowe LA, Kaufman CL. Lack of donor hyporesponsiveness and donor chimerism after clinical transplantation of the hand. *Transplantation* 2002; 74:1624-30.
44. Munding GS, Munivenkatappa R, Drachenberg CB, Ha JS, Vaca EE, Shipley ST, Papadimitriou JC, Bartlett ST, Rodriguez ED, Barth RN. Histopathology of chronic rejection in a nonhuman primate model of vascularized composite allotransplantation. *Transplantation* 2013; 95:1204-10.
45. Munding GS, Drachenberg CB. Chronic rejection in vascularized composite allografts. *Curr Opin Organ Transplant* 2014; 19:309-14.
46. Meuli-Simmen C, Eiman T, Alpert BS, Meyer VE, Buncke GM, Buncke HJ. Fibromuscular proliferation in finger arteries after hand replantation: a case report. *Microsurgery* 1996; 17:551-4.