



**KARACİĞER TRANSPLANTASYONU HASTALARININ
OPERASYON ÖNCESİ ve SONRASINDA
İNFLAMATUAR ve ANTI-İNFLAMATUAR GEN
İFADELERİNİN İNCELENMESİ**

Gamze KARACA

TIBBİ BİYOLOJİ ve GENETİK ANABİLİM DALI

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Başak KAYHAN**

Doktora Tezi-2022

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

**KARACİĞER TRANSPLANTASYONU HASTALARININ OPERASYON ÖNCESİ
ve SONRASINDA İNFLAMATUAR ve ANTI-İNFLAMATUAR GEN
İFADELERİNİN İNCELENMESİ**

Gamze KARACA

**Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Başak KAYHAN**

Bu Araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından
TDK/20202115 Proje Numarası ile Desteklenmiştir.

**MALATYA
2022**

İÇİNDEKİLER

ÖZET	vii
ABSTRACT.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Karaciğer ve Fizyolojik İşlevleri	2
2.2. Karaciğerin Histolojisi.....	3
2.3. Karaciğer Hastalıkları	4
2.3.1. Akut Karaciğer Yetmezliği	4
2.3.2. Hepatitler	5
2.3.3. Budd-Chiari sendromu	6
2.3.4. Alkolik Karaciğer Hastalıkları	6
2.3.5. Karaciğer Yağlanması	7
2.3.6. Otoimmün Karaciğer Hastalıkları	8
2.3.7. Kalıtsal Karaciğer Hastalıkları	9
2.3.8. Siroz	9
2.3.9. Kriptojenik Siroz	10
2.3.10. Hepatoselüler Kanser.....	10
2.4. Karaciğerde İmmünite	11
2.4.1. Karaciğerde Sitokinler.....	12
2.5. Karaciğerde Doğal Bağışıklık.....	13
2.5.1. Kupffer Hücreleri	13
2.5.2. Nötrofiller.....	15
2.5.3. Dendritik Hücreler.....	16
2.5.4. NK Hücreleri	16
2.5.5. NKT Hücreleri.....	17
2.6. Karaciğerde Kazanılmış Bağışıklık	17

2.7. Karaciğer Nakli ve Tarihçesi	20
2.7.1. Karaciğer Nakli Sonrası Karşılaşılabilen Komplikasyonlar	22
2.7.2. Karaciğer Naklinde Kullanılan Biyokimyasal Parametreler	23
2.7.3. Karaciğer Transplantasyonu ve Sitokinler Arasındaki İlişki	27
2.7.4. FOXP3	28
2.7.5. TREM1	29
2.7.6. HLA-G5	30
2.7.7. CD14	30
2.8. Karaciğer Transplantasyonunda Kullanılan İmmüsupresif İlaçlar	31
3. MATERYAL VE METOT	33
3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler	33
3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	34
3.3. Karaciğer Transplantasyonu Sonrası Uygulanan İmmün Süpresyon Protokolü	36
3.4. Kan Örneklerinin Alınması ve Örneklerin Analizleri	38
3.5. Gen İfadesi Analizleri	38
3.5.1. RNA Saflaştırma Prosedürü	38
3.5.2. Komplementer DNA (cDNA) Elde Edilmesi	39
3.5.3. Gerçek Zamanlı PZR ile Gen İfadesinin Tayini	39
3.5.4. PZR Ürünlerinin Görüntülenmesi	40
3.6. İstatistiksel Analizler	40
4. BULGULAR	42
4.1. Biyokimyasal Parametreler	42
4.2. Moleküler Genetik Bulgular	43
4.2.1. RNA Absorbans Ölçümleri	43
4.2.2. Gerçek Zamanlı PZR ile Gen İfadesi Analizi Bulguları	45
4.3. <i>IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TREM1, TNF-α, IFN-γ, FOXP3, CD14</i> ve <i>HLA-G5</i> Genlerinin İfade Edilme Düzeyleri	49
4.4. Rejeksiyon Gerçekleşen ve Gerçekleşmeyen Hastaların Gen İfadeleri Karşılaştırmaları	52
4.5. Gen İfade Değişimlerinin Korelasyonları	54
5. TARTIŞMA	57

6. SONUÇ ve ÖNERİLER	69
KAYNAKLAR	71
EK-1. ETİK KURUL KARARI.....	92
EK-2. HASTA BİLGİLENDİRME FORMU	94
EK-3. HASTALARIN GEÇİRMİŞ OLDUĞU ENFEKSİYON TABLOSU.....	96
EK-4. ÖZGEÇMİŞ	98



TEŐEKKÜR

Bu araştırmaya maddi destek sağlayan İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne, çalışmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı ve Karaciğer Nakli Anabilim Dalı öğretim elemanlarına teőekkür ederim.



ÖZET

Karaciğer Transplantasyonu Hastalarının Operasyon Öncesi ve Sonrasında İnflamatuvar ve Anti-inflamatuvar Gen İfadelerinin İncelenmesi

Amaç: Karaciğer nakli sonrasında inflamasyon, rejeksiyon, rejenerasyon ve immünyüpresyon tedavisi gibi durumların takibinde yararlı olabilecek biyobelirteçler hala aranmaktadır. Projemizin amacı, transplantasyon öncesi ve sonrası immün sistemin verdiği tepkinin daha iyi anlaşılması ve aday biyobelirteçlerin değerinin ortaya konmasıdır.

Materyal ve Metot: Karaciğer nakli hastalarının operasyondan önce, operasyondan 1 ve 6 ay sonra periferik kan örneklerinde bazı sitokin genlerinin ve çeşitli enfeksiyon hastalıklarında biyobelirteç olabileceği düşünülen genlerin ifade edilme düzeyleri araştırılmış, serumlarından biyokimyasal analizler yapılmıştır.

Bulgular: Karaciğer naklinden 1 ay sonra gerçekleştirilen ölçümlerde ALT, PLT ve CRP seviyelerinin yükseldiği; AFP, Bilirubin D ve Bilirubin T seviyelerinin azaldığı tespit edilmiştir. Operasyondan 6 ay sonra gerçekleştirilen ölçümlerde PLT seviyesinin yükseldiği; AST, AFP Bilirubin D ve Bilirubin T seviyelerinin azaldığı tespit edilmiştir. Operasyondan 1 ay sonraki ölçümlerin 6 ay sonraki ölçümlerle karşılaştırılmasında ALT, PLT, CRP ve Bilirubin D seviyelerinin 6. ayda azaldığı tespit edilmiştir. Operasyondan 1 ay sonra gerçekleştirilen ölçümlerde *IL-2* ve *IFN- γ* gen ifade düzeylerinin azaldığı tespit edilmiştir. Operasyondan 6 ay sonra gerçekleştirilen ölçümlerde *TNF- α* gen ifadelerinde artış gözlenmiştir. Operasyondan 1 ay sonra ve 6 ay sonra gerçekleştirilen ölçümlerin karşılaştırılmasında ise *IL-2*, *HLA-G5* ve *IFN- γ* gen ifadelerinin 6. ayda yükseldiği tespit edilmiştir. Operasyondan sonraki 2 yıllık süreçte rejeksiyon gözlenen hastaların 1. aydaki *TNF- α* gen ifadelerinin rejeksiyon geçirmeyen hastalara oranla azaldığı tespit edilmiştir. *IL-2* ve *IFN- γ* genlerinin tüm zaman dilimlerindeki ifade değişiklikleri pozitif korelasyon göstermektedir.

Sonuç: Karaciğer nakli sonrasında geleneksel biyokimyasal parametrelerin yanı sıra ilk 6 aylık dönemde ifade edilme seviyeleri değişen *IL-2*, *IFN- γ* , *TNF- α* ve *HLA-G5* gen ifadelerinin ölçümü hastaların takip edilmesinde faydalı olabilir.

Anahtar kelimeler: Gen ifadesi, karaciğer nakli, rejeksiyon

ABSTRACT

Investigation of Inflammatory and Anti-Inflammatory Gene Expressions in Liver Transplantation Patients Before and After the Operation

Aim: Biomarkers that may be useful in the follow-up of conditions such as inflammation, rejection, regeneration and immunosuppression therapy are still sought after liver transplantation. The aim of our project is to better understand the immune system response before and after transplantation and to reveal the value of candidate biomarkers.

Material and Method: Expression levels of some cytokine genes and genes thought to be biomarkers in various infectious diseases were investigated in peripheral blood samples of liver transplantation patients before, 1 month and 6 after the operation, and biochemical analyzes were made from their serums.

Results: ALT, PLT and CRP levels increased in measurements performed 1 month after liver transplantation; AFP, Bilirubin D and Bilirubin T levels were found to be decreased. In the measurements performed 6 months after the operation, the PLT level increased; It was determined that AST, AFP Bilirubin D and Bilirubin T levels were decreased. Comparing the measurements 1 month after the operation with the measurements 6 months later, it was determined that ALT, PLT, CRP and Bilirubin D levels decreased at 6 months. In the measurements performed 1 month after the operation, it was determined that IL-2 and IFN- γ gene expression levels decreased. In the measurements performed 6 months after the operation, an increase in TNF- α gene expressions was observed. Comparing the measurements performed 1 month after the operation and 6 months after the operation, it was determined that IL-2, HLA-G5 and IFN- γ gene expressions increased at the 6th month. It was determined that the TNF- α gene expressions of the patients who were observed to be rejected in the 2 years after the operation were decreased compared to the patients who did not experience rejection. Expression changes of IL-2 and IFN- γ genes in all time periods show positive correlation.

Conclusion: In addition to traditional biochemical parameters after liver transplantation, measurement of IL-2, IFN- γ , TNF- α and HLA-G5 gene expressions, whose expression levels change in the first 6 months, may be useful in the follow-up of patients.

Key words: Gene expression, liver transplantation, rejection

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	:Amerika Birleşik Devletleri
AFP	:Alfa Feto Protein
ALT	:Alanin Aminotransferaz
APC	:Antijen Sunabilen Hücre
AST	:Aspartat Aminotransferaz
ATP7B	:Adenosine Triphosphatase Copper Transporting β Gene
Bilirubin D	:Direkt Bilirubin
Bilirubin T	:Total Bilirubin
cDNA	:Komplementer Deoksiribonükleik Asit
CRP	:C-Reaktif Protein
Ct	:Threshold Cycle
DAMP	:Tehlikeyle İlişkili Moleküler Kalıplar
DC	:Dendritik Hücre
DNA	:Deoksiribonükleik Asit
FDA	:Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FKBP12	:FK Bağlayıcı Protein-12
FOXP3	:Forkhead Box P3
GAPDH	:Gliseraldehid-3-Fosfat Dehidrojenaz
HAV	:Hepatit A Virüsü
HBV	:Hepatit B Virüsü
HCC	:Hepatosellüler Karsinom
HCV	:Hepatit C Virüsü
HLA	:İnsan Lökosit Antijeni
HSH	:Hepatik Stellat Hücre
IFN	:İnterferon
Ig	:İmmunoglobulin
IL	:İnterlökin
KOAH	:Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı

LBS	:Lipopolisakkarit Bağlayıcı Protein
LPS	:Lipopolisakkarit
MAPK	:Mitogen Activated Protein Kinase
MELD	:Model For End-Stage Liver Disease
MHC	:Major Histocompability Complex
MPA	:Mikofenolat Mofetil
mRNA	:Messenger Ribonucleic Acid
mTOR	:Mammalian Target of Rapamycin
NAFLD	:Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı
NASH	:Non-Alkolik Steatohepatit
NK	:Doğal Katil Hücre
NKT	:Doğal Katil T Hücre
NLR	:NOD-Benzeri Reseptör
PAMP	:Patojenle İlişkili Moleküler Kalıplar
PLT	:Trombosit Sayısı
PRR	:Kalıp Tanıyan Reseptörler
PZR	:Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RORγt	:Retineic-Asid-Receptor-Related Orphan Nuclear Receptor Gamma-t
ROS	:Reaktif Oksijen Türleri
STAT	:Signal Transducer and Activator of Transcription
TAE	:Tris-Acetate-EDTA
T-bet	:T-box Expressed in T cells
T_{FH}	:Foliküler Yardımcı T Lenfositler
TGF	:Transforming Growth Factor
T_H	:Yardımcı T Hücre
TLR	:Toll Benzeri Reseptör
TNF	:Tümör Nekroz Faktör
Treg	:Regülatör T Hücre
TREM	:Miyeloid Hücrelerde İfade Edilen Tetikleyici Reseptör
WBC	:Lökosit Sayısı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 2.1. Karaciğer Sinüzoidleri ve Hücre Tipleri	4
Şekil 2.2. Bir Bağışıklık Organı Olarak Karaciğerin Anatomik Organizasyonu	12
Şekil 2.3. M1 ve M2 Kupffer Hücreleri Aktivasyonları ve Etkinlikleri.....	15
Şekil 3.1. Nakil Hastalarının Hastalık Dağılımlarının Pasta Grafiği.....	36
Şekil 4.1. Gerçek Zamanlı PZR Ürünlerinin Jel Elektroforezinde Görüntülenmesi.	45
Şekil 4.2. <i>IL-2</i> Geninin Erime Noktası Grafiği.	45
Şekil 4.3. <i>IL-4</i> Geninin Erime Noktası Grafiği.	46
Şekil 4.4. <i>IL-6</i> Geninin Erime Noktası Grafiği.	46
Şekil 4.5. <i>IL-10</i> Geninin Erime Noktası Grafiği.	46
Şekil 4.6. <i>TNF-α</i> Geninin Erime Noktası Grafiği.....	46
Şekil 4.7. <i>IFN-γ</i> Geninin Erime Noktası Grafiği.	47
Şekil 4.8. <i>FOXP3</i> Geninin Erime Noktası Grafiği.	47
Şekil 4.9. <i>TREMI</i> Geninin Erime Noktası Grafiği.....	47
Şekil 4.10. <i>CD14</i> Geninin Erime Noktası Grafiği.....	47
Şekil 4.11. <i>HLA G5</i> Geninin Erime Noktası Grafiği.....	48
Şekil 4.12. <i>GAPDH</i> Geninin Erime Noktası Grafiği.....	48
Şekil 4.13. Gen İfade Edilme Düzeyleri.....	50
Şekil 4.14. Rejeksiyon Gözlenen ve Gözlenmeyen Hastaların Operasyondan 1 Ay Ölçülen Gen İfade Seviyelerinin Karşılaştırmaları	53
Şekil 4.15. Rejeksiyon Gözlenen ve Gözlenmeyen Hastaların Operasyondan 6 Ay Sonrasında Ölçülen Gen İfade Seviyelerinin Karşılaştırmaları	53

TABLolar DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 3.1. Deneylerde Kullanılan Cihazlar.....	33
Tablo 3.2. Deneylerde Kullanılan Kimyasal, Çözelti ve Kitler	34
Tablo 3.3. Karaciğer Nakli Hastalarının Demografik ve Klinik Özellikleri.....	35
Tablo 3.4. Hastaların Operasyon Sonrası 6 Aylık Dönemde Takrolimus ve Everolimus Kullanım Süreleri.....	37
Tablo 3.5. Kullanılan Primerlerin Özellikleri	40
Tablo 4.1. Nakil Hastalarına Ait Biyokimyasal Parametreler.....	42
Tablo 4.2. Kontrol Grubundan Elde Edilen RNA Miktarları ve Absorbans Değerleri.....	43
Tablo 4.3. Deney Grubundan Elde Edilen RNA Miktarları ve Absorbans Değerleri.....	44
Tablo 4.4. Gen İfadesi Ortalama Değerleri	51
Tablo 4.5. Gen İfadesi Kat Değişimleri	51
Tablo 4.6. Rejeksiyon Gözlenen ve Gözlenmeyen Hastaların Gen Ortalama Değerleri	52
Tablo 4.7. Operasyondan Önce ve Operasyondan 1 Ay Sonraki Gen İfade Değişimlerinin Korelasyonu.	54
Tablo 4.8. Operasyondan Önce ve Operasyondan 6 Ay Sonraki Gen İfade Değişimlerinin Korelasyonu.	55
Tablo 4.9. Operasyondan 1 Ay Sonra ve Operasyondan 6 Ay Sonraki Gen İfade Değişimlerinin Korelasyonu.	56

1. GİRİŞ

Karaciğer nakli canlı veya beyin ölümü gerçekleşmiş kadavradan cerrahi müdahale ile tamamı veya bir kısmı alınan karaciğerin alıcıya nakledilmesidir. Günümüzde ülkemizdeki birçok merkezde organ nakli işlemleri başarılı bir şekilde gerçekleştirilmektedir (1). Karaciğer nakli farklı nedenlere bağlı akut ve kronik karaciğer yetmezliklerinin en etkili tedavi yöntemi haline gelmiştir. İleri evre karaciğer hastalığı olan bireylerin karaciğer nakli öncesi aylarla sınırlı olan yaşam süresi karaciğer nakli ile uzatılmış ve yaşam kalitesi bu tedavi yöntemiyle iyileştirilmiştir. Son yıllarda gelişmiş cerrahi ve yeni immünsüpresif yaklaşımların uygulanması hemen hemen her türlü yaşamsal organın veya dokunun başarıyla naklini mümkün hale getirmiştir. Buna rağmen yapılan organ nakillerinin çoğu genetik olarak farklı donörlerden yapıldığı için alıcı ile donör arasındaki doku uygunluğu bir problem olmayı sürdürmektedir. Bu nedenle alıcının donör greft antijenlerine karşı geliştirdiği immün yanıt göz önünde bulundurulmalıdır (1, 2).

Karaciğer naklinde inflamatuvar ve anti-inflamatuvar yanıtın sorumlu genlerin rolü tam olarak ortaya konulmamıştır. Bu yüzden çalışmamızda karaciğer nakli hastalarının operasyondan önce, operasyondan 1 ay ve 6 sonra elde edilen periferik kan örneklerinden bazı inflamatuvar İnterlökin-2 (*IL-2*), *IL-6*, İnterferon- γ (*IFN-\gamma*), Tümör Nekroz Faktör- α (*TNF-\alpha*) ve anti-inflamatuvar *IL-4* ve *IL-10* sitokin genleri ile, akut ve kronik inflamatuvar hastalıkların patolojisine katkıda bulunan Miyeloid Hücrelerde İfade Edilen Tetikleyici Reseptör 1 (*TREMI*), immün yanıtı baskılayan İnsan Lökosit Antijeni-G5 (*HLA-G5*), düzenleyici T-lenfositler (Treg) de ifade edilen transkripsiyon faktör *Forkhead box P3* (*FOXP3*) ve çeşitli enfeksiyon hastalıklarında biyobelirteç olabileceği düşünülen ve monositlerde ifade edilen *CD14* genlerin ifade edilme seviyeleri ölçülecektir. Bunun yanı sıra serum örneklerinden klasik karaciğer belirteçleri olan Aspartat Aminotransferaz (AST), Alanin Aminotransferaz (ALT), Trombosit Sayısı (PLT), Alfa Feto Protein (AFP), Direkt Bilirubin (Bilirubin D), Total Bilirubin (Bilirubin T) ve C-Reaktif Protein (CRP) gibi biyokimyasal parametrelerin seviyeleri ölçülecektir. Elde edilecek veriler ışığında karaciğer nakli sonrası rejeksiyona ve enfeksiyona yönelik prediktif değeri yüksek biyobelirteçler bulunması hedeflenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğer ve Fizyolojik İşlevleri

Karaciğer insan vücudundaki en büyük organdır. Erişkin bir bireyin karaciğeri yaklaşık olarak 1500 gram ağırlığındadır ve vücut ağırlığının yaklaşık %2-3'ünü oluşturur (3). Karaciğer esas olarak karın boşluğunun sağ üst kadranda yer alır, burada göğüs kafesi ve diyafram tarafından korunmaktadır. Karaciğerin yüzeyi düzdür ve diyaframa komşu olan üst bölgesi kubbe şeklini almıştır (4).

Karaciğer vücutta bir çok metabolik ve fizyolojik işlevi yerine getirir. Bunlardan önemli bir tanesi safra üretimidir. Safra; yağ, kolesterol ve kan pıhtılaşmasında etkin rol oynadığı bilinen K vitamininin de içinde bulunduğu önemli bazı vitaminlerin emiliminde ince bağırsağa yardımcı olur. Karaciğerin safra üretiminin yanı sıra bir başka önemli işlevi ise hemoglobin metabolizmasını yönetmesidir. Hemoglobinin parçalanmasıyla açığa çıkan demir karaciğerde ve kemik iliğinde depolanarak yeni kan hücrelerinin yapımında kullanılır. Ayrıca yine hemoglobininin parçalanmasıyla ortaya çıkan bilirubinin emilimi ve metabolizasyonu karaciğer tarafından sağlanmaktadır (5, 6).

Karaciğerin bir başka görevi ise oldukça önemli bir molekül olan kolesterolün sentezlenmesidir. Kolesterol hücre membran yapısının önemli bir parçasıdır. Kolesterol esas olarak adrenal bez tarafından üretilen hormonların sentezi ve testosteron, progesteron gibi steroid bazlı hormonların sentezi için gereklidir. Kolesterol ayrıca D vitamini ve safra asitlerinin üretimi için de gereklidir (7).

Karaciğer karbonhidrat metabolizmasında da önemli roller oynamaktadır. Karaciğerde depolanan karbonhidratlar gerektiği zaman yapıtaşları olan glikoza ayrılır ve normal glikoz seviyelerini korumak için kan dolaşımına salınır. Glikoz miktarı gereğinden fazla miktarda arttığında karaciğer glikozu glikojen olarak depolar ve enerji ihtiyacı olduğunda glikojeni yeniden glikoza parçalar ve kan dolaşımına salar (8). Karaciğer ayrıca A, D, E, K ve B12 vitaminlerini de depolar. Bazı durumlarda birkaç yıllık vitaminler yedek olarak depolanabilmektedir (9). Karaciğer vitaminlerin yanı sıra bakırın da depolanmasında ve serbest bırakılmasında rol oynar (10). Karaciğer birçok proteinin sentezinden, aminoasitlerin işlenmesinden ve proteinlerin parçalanmasıyla oluşan metabolizma

artıklarının uzaklaştırılmasından sorumludur. Karaciğer alkol ve diğer ilaçlar gibi vücuda zararlı bileşenleri filtreleyerek vücuttan uzaklaştırılmasını sağlamaktadır (11).

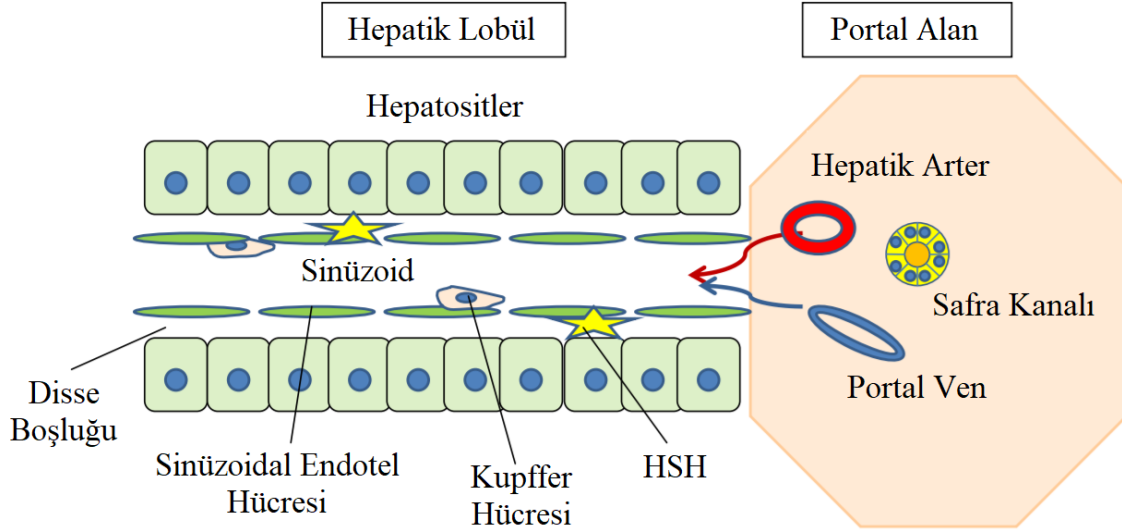
Karaciğer albümin üretimini sağlar. Albümin, kan serumunda en yaygın bulunan proteindir. Kan basıncının korunmasına ve kan damarlarındaki sızıntıların dengeli bir şekilde gerçekleştirilmesine yardımcı olur (12). Karaciğer anjiyotensinojen sentezleyerek kan damarlarını daraltır ve kan basıncını yükseltir (13). Son olarak karaciğer immün sisteminin önemli bir parçasıdır. Bağışıklık aktivitesine katılan çok sayıda Kupffer hücresi içermektedir. Ayrıca bu hücreler beslenme sonrası bağırsak yoluyla gelen patojenlere karşı ilk direnç noktasını oluşturmaktadır (14).

2.2. Karaciğerin Histolojisi

Karaciğer parankimal hücreler ve parankimal olmayan hücreler olarak adlandırılan birçok farklı hücre tipinden oluşmaktadır. Karaciğerin parankimal hücreleri olan hepatositler karaciğer doku hacminin yaklaşık olarak %78'ini oluşturur. Parankimal olmayan hücreler ise yaklaşık %6'sını oluşturmaktadır. Parankimal olmayan hücreler; endotel hücreleri, Hepatik Stellat Hücreleri (HSH), Kupffer hücreleri, Doğal Katil (ing. *Natural Killer Cells*; NK) hücreleri ve safra epitel hücrelerinden oluşur. Ekstrasellüler boşluk ise karaciğer doku hacminin yaklaşık olarak %16'sını oluşturmaktadır (15).

Karaciğer hepatic arter ve portal ven yoluyla kan almaktadır. Hepatic arter yoluyla gelen kan yüksek oksijen içeriğine sahipken portal ven yoluyla gelen kan bağırsak tarafından emilen besinlerce zenginleştirilmiştir. Portal kan ayrıca pankreas, bağırsak ve dalak tarafından salgılanan ürünleri de içermektedir (16). Kan karaciğere girdikten sonra hepatic lobül adı verilen karaciğerin fonksiyonel birimlerine dağılır (17). Hepatic lobüller sinüzoid adı verilen küçük yapılardan oluşur. Sinüzoidler oldukça ince kapiller damarlar şeklinde organize olmuş yapılardır. Bu sayede total damar çapı arttırılmaktadır ve böylece gerekli metabolik işlevler daha kolay gerçekleştirilmektedir. Sinüzoidal yapı hepatositler tarafından çevrelenmiştir. Sinüzoidal endotel hücreleri hepatositlerden disse boşluğu ile ayrılmıştır (Şekil 2.1). Endotel hücrelerinin yüzeylerinde bulunan fenestralar olarak bilinen por yapıları sayesinde disse boşluğu ile sinüzoidal lümen arasında madde geçişi sağlanmaktadır. HSH'lerde disse boşluğunda yer almaktadır. Kupffer hücreleri ise sinüzoidal endotel hücrelerinin üzerine tutunmuşlardır. HSH'ler A vitamininin

depolanmasından sorumludur ve kronik yaralanmaya yanıt olarak hepatik fibrozisin gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır. Bu hücreler ayrıca kollajen tip I, III ve IV gibi ekstraselüler matris proteinlerinin üretimini sağlar (18). Sinüzoidal lümende bulunan NK hücreleri ise viral enfeksiyonlara ve tümörlere karşı bağışıklık savunmasının ilk hattında yer alan doğal bağışıklık hücreleridir (19, 20).



Şekil 2.1. Karaciğer Sinüzoidleri ve Hücre Tipleri (16)

2.3. Karaciğer Hastalıkları

Karaciğer hastalıkları kalıtsal veya karaciğere zarar veren çeşitli faktörler nedeniyle ortaya çıkabilmektedir. Virüs, ilaç veya kimyasallardan kaynaklanan hasarlar, obezite, diyabet veya vücudun kendi bağışıklık sisteminden kaynaklanan bir saldırının neden olabileceği birçok karaciğer hastalığı türü vardır. Bu durum tedavi edilmediğinde hayati tehlike oluşturabilmektedir. Karaciğerin fonksiyonu tipik bazı enzimlerin, metabolitlerin ve maddelerin varlığı, yokluğu veya miktarını ölçen bir dizi özel klinik çalışmalar ile tespit edilebilmektedir (21).

2.3.1. Akut Karaciğer Yetmezliği

Akut karaciğer yetmezliği karaciğerin çalışma yeteneğini hızla kaybetmesiyle ortaya çıkar. Daha yaygın olarak, karaciğer yetmezliği yıllar içerisinde yavaş yavaş

gelişebilmektedir. Ancak akut karaciğer yetmezliği birkaç gün içerisinde gelişir. Akut karaciğer yetmezliği aşırı kanama ve beyinde artmış basınç gibi birçok komplikasyona neden olabilmektedir. Akut karaciğer yetmezliği hastaneye yatış gerektiren acil bir durumdur. Akut karaciğer yetmezliği tedavi edilebilir. Ancak bazı durumlarda, akut karaciğer yetmezliğinin tek tedavi seçeneği karaciğer nakli olabilmektedir (22).

2.3.2. Hepatitler

Hepatit; virüsler (Hepatit A, B, C, D ve E), bakteriler ya da parazitlerden kaynaklanan enfeksiyonlar, alkol kullanımı veya otoimmün olarak da gerçekleşmektedir. Çoğu durumda karaciğer kendini iyileştirebilir, ancak ciddi vakalarda karaciğer yetmezliği ortaya çıkabilmektedir (23). Hepatit A Virüsü (HAV), Hepatit B Virüsü (HBV) ve Hepatit C Virüsü (HCV) enfeksiyonları karaciğer iltihaplanmasına yol açan en önemli etkenlerdir (24).

HAV semptomların ortaya çıkmasından yaklaşık 15-45 gün önce virüsle enfekte kişinin dışkıında ve kanında tespit edilebilmektedir.. Belirtiler genellikle virüse maruz kaldıktan 2-6 hafta sonra ortaya çıkar. Belirtileri genellikle hafiftir, ancak özellikle yetişkinlerde iyileşme süresi birkaç aya kadar uzayabilmektedir (25).

HBV hastalığı taşıyan bir kişinin kan veya vücut sıvıları (meni, vajinal sıvılar ve tükürük gibi) ile temas edilmesiyle yayılmaktadır. Hepatit B semptomları, enfeksiyondan sonraki 6 aya kadar ortaya çıkmayabilir (26).

Hepatit C, HCV ile enfekte olmuş kişilerden kan teması yoluyla yayılır. Bu hastalık sağ üst karında ağrı, sıvı nedeniyle karın şişmesi, kil renkli veya soluk dışkı, koyu renkli idrar, yorgunluk, ateş, kaşıntı, sarılık, iştahsızlık, bulantı ve kusma gibi belirtilerle ortaya çıkabilmektedir (27).

Hepatit D virüsü sadece HBV taşıyan kişilerde bulunur ve sadece hepatit B enfeksiyonu olan kişilerde semptomlara neden olmaktadır. Hepatit D virüsü, akut veya kronik hepatit B karaciğer hastalığına neden olabilir. Risk faktörleri arasında yanlış intravenöz (IV) uygulamaları, hamileyken virüsle enfekte olmak (anne virüsü bebeğe geçirebilir), hepatit B virüsünü taşımak, çok sayıda kan nakli yapılması sayılabilir. Semptomlar karın ağrısı, koyu renkli idrar, yorgunluk, sarılık, eklem ağrısı, iştahsızlık, bulantı ve kusmayı içerebilmektedir (28).

Hepatit E virüsü ağırlıklı olarak kötü sterilizasyon nedeniyle içme suyunun fekal kontaminasyonu ile bulaşmaktadır (29). Diğer bulaşma yolları; enfekte hayvanlardan elde edilen çiğ veya az pişmiş et gibi kontamine gıdaların tüketimini içerir. Semptomlar sarılık, halsizlik, iştahsızlık, bulantı, kusma, karın ağrısı, hepatomegali, kaşıntı ve artraljiyi içerebilmektedir (30).

2.3.3. Budd-Chiari sendromu

Budd-Chiari sendromu, kanı karaciğerden alt vena cavaya taşıyan büyük damarları kısmen veya tamamen tıkayan kan pıhtılarının varlığıyla oluşmaktadır. Genellikle nedeni; polisitemi, orak hücre anemisi, inflamatuvar bağırsak hastalığı ve bağ dokusu bozuklukları gibi kanın pıhtılaşmasına neden olan hastalıklardır (31).

2.3.4. Alkolik Karaciğer Hastalıkları

Alkol karaciğere zarar veren başlıca maddelerden biridir. Karaciğer belirli miktarda alkolü metabolize ederek vücuda zararsız hale getirebilmektedir. Ancak alkol alımının bu miktarı aşması karaciğere ciddi hasar verebilmektedir. Alkol alımının karaciğerde yarattığı ilk problem karaciğer yağlanmasıdır. Hemen hemen tüm alkol bağımlılarında gözlenebilmektedir. Bu durum genellikle belirti vermemekle birlikte yorgunluk, halsizlik ve kilo kaybı gibi hafif semptomlar gösterebilmektedir (32). Alkol tüketiminin terk edilmesi sıklıkla hastalığın gerileyerek ortadan kalkmasına yardımcı olabilmektedir (33).

Alkolik karaciğer yağlanmasından sonra şiddetli alkol alımının devam etmesi hastalığın daha da ilerleyerek alkolik hepatite dönüşmesine neden olmaktadır. Alkolik hepatitte karaciğer yağlanmasına ilaveten karaciğerde iltihaplanma ve şişme tabloya eklenmiş durumdadır. Belirtiler arasında iştahsızlık, bulantı, kusma, karın ağrısı, ateş ve sarılık sayılabilmektedir. Ağır içicilerin yaklaşık %35'inde alkolik hepatit gelişmektedir. Alkolik hepatit hafif veya şiddetli olabilir. Hafif ise, karaciğer hasarı tersine çevrilebilir. Şiddetli ise akut karaciğer yetmezliği ortaya çıkabilir ve ölüm gibi ciddi komplikasyonlara neden olabilmektedir (34).

Alkolik siroz alkolik hepatitten daha ciddi bir tablodur. Alkolik sirozda karaciğerin skarlaştığı gözlenmektedir. Alkolik sirozun semptomları alkolik hepatite benzerdir. Alkol tüketimini durdurmak daha fazla hasarı önlemeye yardımcı olabilir. Ağır içicilerin yaklaşık

%10-20'si sirozdan etkilenmektedir. Sirozdan kaynaklanan hasar geri dönüşümsüz olarak karaciğer yetmezliğine ilerlemektedir. Bu sebeple alkolik siroz hastalarında karaciğer nakli planlanabilmektedir (35).

2.3.5. Karaciğer Yağlanması

Karaciğer ağırlığının %5'inden fazlasının yağlardan oluşması durumuna karaciğer yağlanması denir. Yüksek kalorili diyet karaciğerdeki yağ miktarını artırarak karaciğer yağlanmasına sebep olabilmektedir. Bu durum obez kişilerde daha yaygındır, ancak sağlıklı vücut ağırlıklarına sahip yetişkinlerde de ortaya çıkabilmektedir. Yağlı karaciğere sahip bireyler herhangi bir semptom göstermeyebilir, ancak karaciğerdeki yağ oranının kontrolsüz artışı karaciğerde iltihaplanma ve skar dokusunun oluşumuna neden olabilmektedir. Karaciğer yağlanmasının iki ana türü vardır: Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı (NAFLD) ve Non-Alkolik Steatohepatittir (NASH) (36).

NAFLD çok az alkol tüketen veya hiç alkol almayan insanları etkileyen bir dizi karaciğer rahatsızlığı için kullanılan genel bir terimdir. NAFLD'nin temel özelliği karaciğer hücrelerinde çok fazla yağ depolanmasıdır. NAFLD özellikle Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) nüfusun yaklaşık dörtte birini etkileyen en yaygın kronik karaciğer hastalığıdır. Batı ülkelerinde de kronik karaciğer hastalığının en yaygın nedenidir ve 2030 yılına gelindiğinde karaciğer nakli için en sık endikasyon olacağı tahmin edilmektedir (37). NAFLD; tip 2 *diabetes mellitus*, kardiyovasküler hastalıklar ve kronik böbrek hastalığı gibi hastalıklara yakalanma riskini arttırmaktadır. NAFLD tedavi edilmediği zaman daha da ilerleyerek karaciğer iltihabı, siroz ve karaciğer yetmezliğine sebep olduğu bilinen yağlı karaciğer hastalığının daha agresif bir formu olan NASH'a ilerleyebilir (38).

NASH belirti vermeden ilerleyen ve alkol tüketmeyen hastalarda görülen bir karaciğer hastalığıdır. Alkolik karaciğer hastalığına benzerdir. NASH'ın ana özelliği karaciğer yağlanmasına iltihaplanma ve hasarlanmanın eşlik etmesidir. NASH kronik ve gittikçe şiddetlenebilen bir hastalıktır. NASH'ın sebep olduğu fibrozis daha da ilerleyerek karaciğerin kalıcı olarak hasar gördüğü ve artık düzgün çalışmadığı bir durum olan siroz ve Hepatosellüler Karsinomaya (HCC) ilerleyebilir (39).

2.3.6. Otoimmün Karaciğer Hastalıkları

Otoimmün karaciğer hastalıkları bağışıklık sistemindeki nedeni tam olarak bilinmeyen bozukluklardan kaynaklanmaktadır. Kişinin kendi bağışıklık hücrelerinin normal karaciğer hücrelerini yabancı olarak algılaması ve yok etmesi nedeniyle gerçekleşmektedir. Otoimmün karaciğer hastalıkları üç ana grupta incelenmektedir. Bunlar otoimmün hepatit, primer sklerozan kolanjit ve primer biliyer kolanjittir (40).

Otoimmün hepatit, vücudun kendi bağışıklık hücrelerinin karaciğere saldırarak hepatite neden olduğu bir durumdur. Otoimmün hepatit genellikle 40-60 yaş grubunda artma eğilimi göstermektedir, ancak her yaş grubunda gözlenebilmektedir. Hastalık sessizce ilerleyebilir veya çok çeşitli bazı semptomlar (halsizlik, yorgunluk, bulantı, karın ağrısı kaşıntı karaciğerde büyüme gibi) ile kendini gösterebilir. Erken teşhis ve tedavi edilirse, otoimmün hepatit genellikle etkili bir şekilde kontrol edilebilmektedir. Tedavi tipik olarak aşırı aktif bağışıklık sistemini yavaşlatmak, hastalığın kötüleşmesini önlemek ve hasarın bir kısmını tersine çevirebilmek amacıyla kortikosteroid kombinasyonlu kullanımını içermektedir (41).

Primer sklerozan kolanjit, karaciğerin içi ve karaciğerin dışındaki tüm safra yollarının iltihaplanmasına sebep olmaktadır. Karaciğerin safra kanallarının iltihaplanması safra yollarının yaralanmasına ve sonunda tıkanmasına neden olur. Sonuç olarak safra enfekte olarak kolanjit gelişebilir ve siroza yol açabilmektedir. Tedavi; antibiyotikler, anti-inflamatuarlar, safra incelticiler ve vitamin takviyelerini içermektedir. Primer sklerozan kolanjit sıklıkla inflamatuvar bağırsak hastalığı ile ilişkilidir. Primer sklerozan kolanjit karaciğer yetmezliğine neden olabilir ve ayrıca safra kanalı kanseri gelişimi için bir risk faktörüdür. Bu nedenle yakın takip gereklidir. Bu hastalara karaciğer nakli yapılmadığı takdirde ortalama yaşam ömrü 10-12 yıldır (42).

Primer biliyer kolanjit, karaciğerdeki orta ve küçük çaptaki safra kanallarını geri dönüşümsüz olarak tahrip ederek safranın karaciğerde birikmesine ve karaciğer dokusuna zarar vermesine neden olan bir karaciğer hastalığıdır. Primer sklerozan kolanjitten farkı sadece karaciğer içerisindeki ve daha küçük çaptaki safra yollarının etkilenmiş olmasıdır. İlk tedavi genellikle semptomların giderilmesini amaçlar ve vitamin tedavisi, kalsiyum takviyelerini içermektedir. Safra incelticiler ve iltihap önleyici ilaçlar da yaygın olarak

kullanılmaktadır. Hastalık tedavi edilmediğinde karaciğer ciddi bir şekilde hasar görebilmektedir. Bu durumda tek tedavi yöntemi olan karaciğer nakli önerilmektedir (43).

2.3.7. Kalıtsal Karaciğer Hastalıkları

Karaciğere ait bazı hastalıklar kalıtsal olarak kuşaktan kuşağa aktarılabilir. Yetişkinlerde karaciğer fonksiyon bozukluğuna yol açan genetik hastalıklar Wilson hastalığı ve α -1 antitripsin eksikliğidir (44).

α -1 antitripsin eksikliği Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığına (KOAH) ve özellikle siroz ve HCC gibi karaciğer hastalıklarına yatkınlık yaratan yaygın ancak yeterince tanınmayan bir genetik durumdur (45). α -1 antitripsin, beyaz kan hücrelerinin enfeksiyonlar ile mücadele etmek amacıyla ürettiği nötrofil elastazın kontrol edilmesinde görevlidir. *SERPINA1* genindeki mutasyonlar nedeniyle α -1 antitripsinin üretilmemesi veya anormal üretilmesi nötrofil elastazın kontrolünün kaybedilmesine neden olmaktadır. Nötrofil elastaz sıkı bir şekilde kontrol edilmediği takdirde normal dokulara saldırabilmektedir. Anormal α -1 antitripsin endoplazmik retikulumda birikerek hepatit, siroz, HCC ve karaciğer yetmezliğine sebep olmaktadır (46).

Wilson hastalığı, karaciğer ve beyin başta olmak üzere birçok organda patolojik bakır birikimine neden olan ve çok çeşitli semptomlara yol açan kalıtsal bir bakır metabolizması bozukluğudur. Wilson hastalığı *Adenosine Triphosphatase Copper Transporting β Gene (ATP7B)* genindeki mutasyonlar sebebi ile ortaya çıkan bir hastalıktır. Bu gen bakırın karaciğerden vücudun başka bölgelerine taşınmasında rol oynayan ATPaz proteinini kodlar. *ATP7B* genindeki kusur nedeniyle fazla bakır vücuttan atılamaz ve vücutta fazla bakır birikerek karaciğere hasar verir. Bu durum tedavi edilmezse akut karaciğer yetmezliğine ve siroza neden olabilmektedir. Wilson hastalığı erken teşhis edildiğinde ve doğru tedavi edildiğinde başarılı bir şekilde yönetilebilmektedir (47).

2.3.8. Siroz

Karaciğer fibrozunun daha ileri bir aşaması olan siroz geri dönüşü olmayan yaygın bir karaciğer hasarı ile karakterizedir. Siroz kronik karaciğer hasarına yanıt olarak fibröz bantlarla çevrili rejeneratif nodüllerin histolojik gelişimi olarak tanımlanır. Bu süreçte karaciğer hücrelerinin yerini skar dokunun aldığı görülmektedir. Sonuç olarak sirozda

karaciğer hücrelerinin işlevini kaybetmesi nedeniyle karaciğer yetmezliği gelişebilir. Son dönemde sirozun doğal seyri ve patofizyolojisi daha iyi anlaşılmıştır. Bu sayede komplikasyonların tedavisinde ilerlemeler kaydedilerek hastalığın daha iyi yönetilmesi ve hastaların yaşam kalitesinin artırılması sağlanmıştır, ancak yinede karaciğer nakli son dönem karaciğer hastalığı için tek küratif seçenektir (48).

2.3.9. Kriptojenik Siroz

Tıp alanındaki gelişmelere rağmen karaciğer sirozu vakalarının yaklaşık %10-15'inin nedeni tespit edilememektedir. Bu duruma nedeni bilinmeyen siroz (kriptojenik siroz) denir. Kriptojenik siroz belirli bir karaciğer hastalığına ait klinik ve histolojik kriterlerden yoksun, etiyojisi belirsiz sirozdur. Tüm karaciğer nakli hastalarının yaklaşık %10'u kriptojenik siroz vakalarından oluşmaktadır (49). Kriptojenik sirozun kesin nedeni bilinmemekle birlikte, birçok hastalıkla bağlantılı olduğu yapılan çalışmalarla vurgulanmıştır. Bu hastalıklara; NASH, alkol bağımlılığı, viral hepatit, otoimmün hepatit, biliyer hastalık, hepatik vasküler hastalık, çölyak hastalığı, mitokondriopatiler, Ailesel Akdeniz Ateşi, sistemik lupus eritematozus, alstrom sendromu ve apolipoprotein B anormallikleri dahildir (50).

Kriptojenik siroz vakalarının yaklaşık %10'u diğer bazı hastalıkların teşhisi sırasında tesadüfen keşfedilir ve hastaların yaklaşık %45'inde yalnızca yorgunluk veya daha önce açıklanamayan laboratuvar anormallikleri gibi belirsiz semptomlar görülür. Bununla birlikte, hastaların yaklaşık %45'inde ensefalopati veya hipertansiyon komplikasyonları bulunmaktadır (51). Bazen kriptojenik sirozlu hastalarda HCC görülebilmektedir (52).

2.3.10. Hepatoselüler Kanser

Hepatoselüler Karsinom (HCC), en yaygın birincil karaciğer malignitesidir. HCC dünya çapında en sık görülen altıncı kanser türü ve kansere bağlı ölümlerin en sık ikinci nedenidir (53). Siroz, HCV, HBV veya NAFLD gibi hastalıklar HCC riskini artırmaktadır. Kronik HCV, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki HCC vakalarının üçte birinden fazlasından sorumludur ve tanı anında vakaların yaklaşık %90'ında ya ilerlemiş fibroz ya da siroz görülür (54).

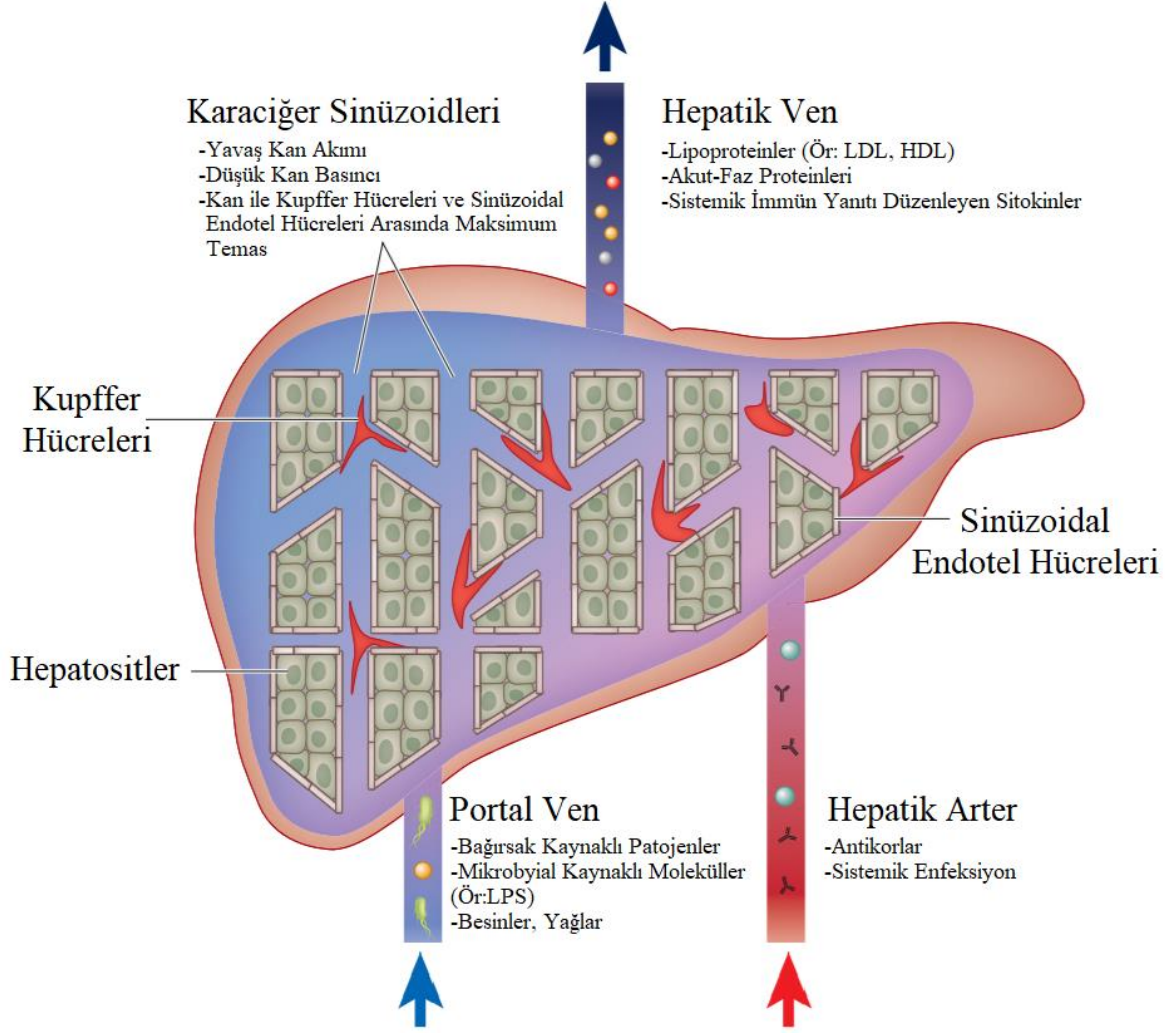
2.4. Karaciğerde İmmünite

İmmün sistem vücudu patojenik mikroorganizmalar, toksinler ve alerjenik maddelerden korumanın yanı sıra tümör hücrelerini de tanıyarak yok eden karmaşık bir sistemdir. İmmün sistemin istilacı bir patojene, toksine veya alerjene karşı yanıtı harekete geçirme yeteneğinin merkezinde kendinden olanı ve kendinden olmayanı ayırt etme yeteneği vardır. İmmün sistem patojenik mikroorganizmaları tespit etmek ve ortadan kaldırmak için hem doğal bağışıklık hem de kazanılmış bağışıklık adı verilen mekanizmaları kullanmaktadır (55).

Karaciğer bağışıklıkta önemli rolü olan bir organdır. Bağırsak yoluyla vücuda giren patojenleri tespit etmek için ideal olarak konumlandırılan karaciğer; bakteri, virüs ve makromolekülleri tespit etmek, yakalamak ve temizlemek için tasarlanmıştır. Vücuttaki en geniş fagositik hücre koleksiyonunu içeren bu organ, dış dünya ile aramızda önemli bir bariyerdir. Karaciğere gelen kan akışında çok sayıda yabancı fakat zararsız molekül (örneğin gıda antijenleri) bulunmaktadır. Bu sebeple karaciğerin varsayılan bağışıklık durumu anti-inflamatuvar veya immün-toleranttır; ancak gerektiği zaman karaciğer, hızlı ve güçlü bir bağışıklık tepkisi oluşturabilmektedir. Bağışıklık ve tolerans arasındaki bu denge, karaciğerin fonksiyonu için esastır. Enfeksiyon yokluğunda aşırı inflamasyon steril karaciğer hasarına, doku hasarına ve rejenerasyona yol açabilir. Yetersiz bağışıklık ise kronik enfeksiyon, siroz ve kansere izin verebilmektedir. Karaciğerde bulunan yüklü miktardaki bağışıklık hücresi arasındaki dinamik etkileşimler immün dengeyi ve genel doku sağlığını korumanın anahtarıdır (56).

Karaciğerin immünolojik rolünde maruz kaldığı kan akımında önemli bir rolü vardır. Karaciğer hem arteriyel hem de portal kanla beslenmesi bakımından eşsiz bir organdır. Oksijen açısından zengin arteriyel kan, hepatik arter yoluyla karaciğere girer; ancak bu, karaciğere sağlanan kanın küçük bir bölümünü oluşturmaktadır. Karaciğere giren kanın yaklaşık %80'i portal ven tarafından sağlanır. Karaciğerin anatomik organizasyonu, bu iki kan kaynağı içeriğinin karaciğerdeki çeşitli hücreler ve yapılarla karışmasına olanak sağlamaktadır (Şekil 2.2) (57). Karaciğer sürekli olarak portal ven yoluyla gastrointestinal sistemden ve hepatik arterle taşınan patojen kaynaklı moleküllerden dolayı antijenik yüke maruz kalır. Bu nedenle karaciğer kendisini patojenlerden korumak ve besinsel antijenleri tolere etmek için uygun bir şekilde donatılmıştır. Karaciğerin doğal immün hücreleri ve

antimikrobiyal bileşenler (inflamatuar sitokinler, kemokinler ve akut faz proteinleri) bu kritik görevi gerçekleştirmek amacıyla istilacı patojenleri ve enfekte olmuş veya dönüştürülmüş konağa ait ürünleri ortadan kaldırmak için koordineli bir şekilde çalışarak kanı immünolojik olarak tarar ve filtreler (58).



Şekil 2.2. Bir Bağışıklık Organı Olarak Karaciğerin Anatomik Organizasyonu (57)

2.4.1. Karaciğerde Sitokinler

Sitokinler tüm karaciğer hücreleri de dahil olmak üzere vücuttaki hemen hemen her çekirdekli hücre tarafından üretilebilen pleiotropik etkili düzenleyici peptitlerdir. Normal şartlarda çoğu dokuda bir uyarın olmadıkça sitokin üretimi ya çok düşüktür ya da yoktur. Ancak fizyolojik ve patolojik uyarılar hücreleri aktive ettikçe sitokin moleküllerin üretimi artar ve dokunun uyarana cevabı düzenlenir (59). İnflamatuar karaciğer hastalıkları ve

karaciğer doku onarımının çeşitli aşamalarında çeşitli sitokinlerin önemini destekleyen kanıtlar giderek artmaktadır. Sitokinler hepatik inflamasyon, karaciğer hücre ölümü, kolestaz ve fibrozisin mediatörleridir (60), aynı zamanda yaralanmadan sonra karaciğerin rejenerasyonuna da aracılık ederler (61). Sitokinler bağışıklık sistemindeki etki mekanizmalarına göre iki sınıfa ayrılabilir; inflamatuvar sitokinler: IL-1, IL-2, IL-6, IL-17, TNF- α ve IFN- γ , antiinflamatuvar sitokinler: IL-3, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, IL-13 ve Transforming Growth Factor- β 'dir (TGF- β) (62).

2.5. Karaciğerde Doğal Bağışıklık

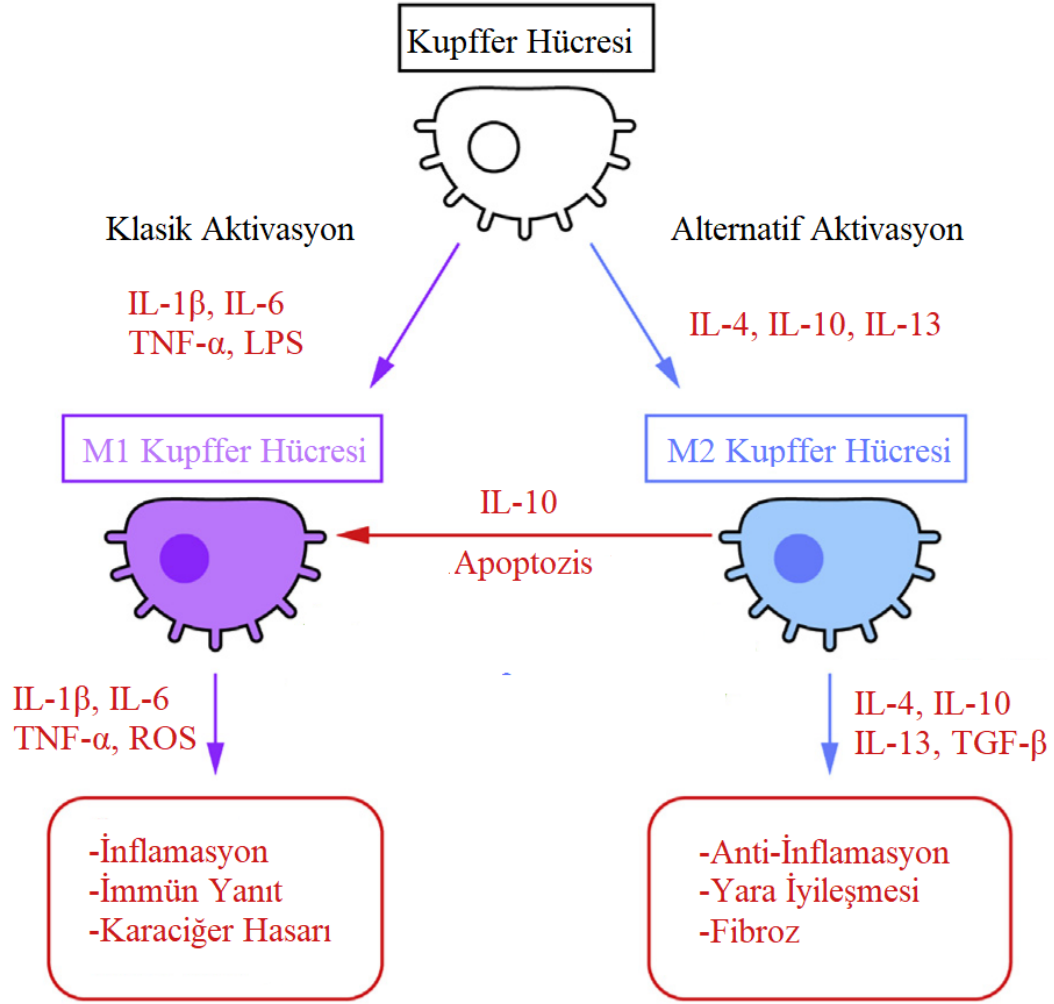
Doğal immün yanıt mikroorganizmalara karşı ilk savunma hattını sağlar. Doğal immün yanıtın ana efektör hücreleri; makrofajlar, nötrofiller, dendritik hücreler, NK hücreleri ve Doğal Öldürücü T hücreleridir (NKT hücreleri) (63). Doğal immün yanıtın temel görevleri; patojenlerin tanınması, fagositoz, inflamatuvar mediatörlerin salınımı, sitokinlerin ve kemokinlerin sentezi, kompleman sistem proteinlerinin aktivasyonu ve ayrıca akut faz proteinlerinin üretilmesidir. Doğal bağışıklık hücreleri mikroorganizmaları yüzeylerinde bulunan spesifik moleküler yapılarla tanır. İnsanlarda bulunmayan ve mikroorganizmalarda bulunun bu moleküllere Patojenle İlişkili Moleküler Kalıplar (*ing. Pathogen Associated Molecular Patterns*; PAMP) adı verilir. Doğal immün yanıtta görevli bu moleküllere Lipopolisakkaritler (LPS), mannoz ve teikoik asit örnek olarak verilebilir. Doğal bağışıklık hücreleri Kalıp Tanıyan Reseptörleri (*ing. Pattern Recognition Receptors*; PRR) olarak bilinen reseptörler ile PAMP'ları tanıyarak immün yanıtı aktive etmektedir (64).

2.5.1. Kupffer Hücreleri

Kupffer hücreleri dolaşım ile karaciğere gelen monositlerin farklılaşmasıyla oluşan makrofajlardır. Kupffer hücreleri karaciğerdeki parankimal olmayan hücrelerin %20-35'ini ve vücutta bulunan doku makrofajlarının %80-90'ını oluşturur (65). Kupffer hücreleri doğal ve kazanılmış bağışıklık sisteminin önemli üyeleridir. Kupffer hücreleri antijen sunarak doğal ve kazanılmış bağışıklık sistemi arasında bir köprü görevi görür. Birçok fagosit edilebilir partikül ve çözünür madde Kupffer hücrelerini aktive edebilmektedir. Kupffer hücreleri Toll-benzeri reseptörler (TLR), mannoz reseptörleri ve NOD-benzeri

reseptörler (NLR) gibi PRR'leri ifade ederek patojenlere ait özel yapılar olan Tehlikeyle İlişkili Moleküler Kalıpları (ing. *Danger Associated Molecular Pattern*; DAMP) ve PAMP'ları tanırlar (66). Hepatik sinüzoidlerde yer alan Kupffer hücreleri gastrointestinal sistemden gelen bakterilere, mikrobiyal kalıntılara ve endotoksinlere karşı ilk savunma hattını oluşturur. Ek olarak Kupffer hücreleri partiküllerin yanı sıra hepatik parankimdeki işlevini yitirmiş eritrositlerin sistemik dolaşımdan temizlenmesini de sağlamaktadır (67). Aktive edilmiş Kupffer hücreleri; inflamatuvar yanıtta, bakteri endotoksin toleransı sırasındaki immün yanıtta, karaciğer naklinde, NAFLD ve alkolik karaciğer hastalığında önemli bir rol oynamaktadır (14).

Kupffer hücreleri çeşitli yollarla uyarılabilmektedir. Kupffer hücreleri tetikleyici ajanlar vasıtasıyla M1 veya M2 Kupffer hücreleri olarak aktif hale gelir (Şekil 2.3). M1 Kupffer hücreleri, proinflamatuvar özelliğe sahiptir ve TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin yanı sıra TGF- β ve ROS üretirler. TGF- β , HSC'leri ve ROS'ları aktive ederek fibrogenizi indükleyebilir. ROS türleri katlanmamış proteinlerin hepatosit endoplazmik retikulumunda birikerek oluşturduğu stres hepatik steatozu, inflamasyonu ve apoptozu indükleyebilir. Yine bu hücrelerin ürettiği IL-6 hepatositlerde ve kolanjiyositlerde hücre proliferasyonunu indükler ve ayrıca fosfatidilinositol-3 ve p38 mitojenle aktive olan protein kinaz yollarını aktive ederek karsinogeneze yol açabilir (68, 69). M2 Kupffer hücreleri anti-inflamatuvar özellik sergiler. IL-4, IL-10, IL-13 ve TGF- β gibi sitokinleri salgırlar ve böylece yara iyileşmesi ve fibrojenezise katılırlar (70).



Şekil 2.3. M1 ve M2 Kupffer Hücreleri Aktivasyonları ve Etkinlikleri (71)

2.5.2. Nötrofiller

Nötrofiller kemik iliğinden köken alan granülositlerdir ve başlıca görevleri fagositozdur. Nötrofiller olası bir enfeksiyon veya karaciğer hasarında inflamasyon bölgelerine hızla göç ederek çeşitli anti-mikrobiyal veya sitotoksik aktiviteler gerçekleştirirler (72). Nötrofil aracılı anti-mikrobiyal ve sitotoksik aktiviteler; fagositoz, sitokin salınımı, reaktif oksijen türlerinin üretimi ve enzimatik degranülasyon yoluyla gerçekleşmektedir (73).

Karaciğerde PAMP'lar burada yerleşik olan makrofaj ve dendritik hücrelerin yüzeyindeki PRR'ler vasıtasıyla tanınır. Makrofaj ve dendritik hücreler, nötrofil ve monositleri enfeksiyon bölgesine çekebilmek için çeşitli kemokinler salgılar (74).

Patojen kaynaklı sinyallerin varlığında (örneğin LPS) makrofajlarda bulunan PRR'lerin büyük bir kısmını oluşturan TLR-4 aktive edilir. TLR-4'ün yüzeyinde LPS reseptörü bulunur. TLR-4; TNF ve IFN gibi sitokinlerin gen ifadesinin ve salınımının artmasına yol açar. Böylece dolaşımdaki nötrofiller hasar görmüş karaciğer dokusuna doğru yönlendirilir. Nötrofiller inflamasyonun olduğu bölgelerde toplanır ve böylece inflamasyona neden olan patojen kaynaklı partikülleri fagosite eder (75).

2.5.3. Dendritik Hücreler

Dendritik Hücreler (DC'ler) karaciğerde seyrek olarak dağılım gösterirler. Sayıca nispeten az olmalarına rağmen, DC'ler karaciğer fibrozu, alkolik karaciğer hasarı ve HCC gibi hasalıkların varlığında karaciğer immün regülasyonunda büyük öneme sahiptir (76).

Antonino ve ark. (77) parsiyel hepatektomiye yanıt olarak karaciğer DC sayısının dramatik bir şekilde arttığını ve bu hücrelerin karaciğer rejenerasyon süreci sırasında da işlevsel olduğunu göstermiştir. Bunun yanı sıra DC'ler kısmi hepatektomi yapılan hastalarda T hücrelerinin IFN- γ üretimini inhibe ederken IL-10 üretimini arttırdığını ve östrojen reseptör ifadesini artırarak karaciğerde rejenerasyonu hızlandırdığı belirtilmiştir (78) Joshua ve ark. ise farelerde yaptıkları araştırmalarında DC'lerin TNF- α salgılayabildiğini ve azalmış TNF- α ifadesinin karaciğer rejenerasyon hızını tehlikeye atabileceğini belirtmişlerdir.

2.5.4. NK Hücreleri

NK hücreleri farklı dokulardaki istilacı patojenlere ve tümör hücrelerine karşı ilk savunma hattını oluşturan doğal bağışıklık sisteminin bir üyesidir. Aktive edici ve inhibitör reseptörlerden oluşan karmaşık bir iletişim ağı aracılığıyla sitotoksikite aktiviteleri hassas bir şekilde kontrol edilmektedir (79).

Makrofajlar gibi NK hücreleri de karaciğerdeki doğal bağışıklık sisteminin önemli bir bileşenidir. NK hücreleri insanlarda intrahepatik lenfositlerin yaklaşık %30-50'sini oluşturur. NK hücreleri karaciğerdeki HBV, HCV ve *Listeria monocytogenes* enfeksiyonu

gibi bakteriyel ve viral enfeksiyonların kontrolünde görev alır (80). Makrofajların aksine karaciğer NK hücreleri karaciğer rejenerasyonunu desteklemekten ziyade inhibe eder. TLR-3 reseptörünün uyarılmasıyla aktive edilen NK hücreleri IFN- γ üreterek rejenerasyonu inhibe eder. Rui ve ark. (81) yaptıkları bir çalışmada NK hücrelerinin Poly I:C (Poly I:C, bazı virüslerde bulunan ve TLR-3'ün doğal bir uyarıcısı olan çift sarmallı RNA'ya yapısal olarak benzeyen bir immün uyarıcı) tarafından aktive edildiğinde karaciğer rejenerasyonunun bozulduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar NK hücre popülasyonunun azalmasının karaciğer rejenerasyon hızını arttırdığını ve IFN- γ eksikliği olan farelerde karaciğer rejenerasyon hızının arttığını göstermişlerdir.

2.5.5. NKT Hücreleri

NKT hücreleri bakteriler ve virüslerin dahil olduğu çeşitli enfeksiyöz organizmalara ve tümörlere karşı hücre aracılı bağışıklığı destekleyen immün sistem hücreleridir. NKT hücreleri aynı zamanda otoimmün hastalıklar ve greft reddi ile ilgili immün yanıtı baskılayabilirler (82). NKT hücreleri, Major Histocompatibility Complex (MHC-I) benzeri molekül CD1d tarafından sunulan lipid antijenlerine yanıt veren bir lenfosit alt kümesidir. NKT hücreleri aktivasyonu takiben IL-4 ve IFN- γ gibi sitokinlerin üretimini sağlayarak hem doğal bağışıklık hemde kazanılmış bağışıklık yanıtına katkıda bulunduğu gösterilmiştir (83).

2.6. Karaciğerde Kazanılmış Bağışıklık

Kazanılmış bağışıklık sistemi doğal bağışıklığın aksine patojenlere karşı oldukça spesifik immün yanıt vermektedir. Kazanılmış bağışıklık sistemi hem humoral bağışıklık hem de hücreli bağışıklık bileşenlerini içerir ve istilacı patojenleri yok eder. Kazanılmış bağışıklık belirli bir patojene verilen ilk yanıtın sonra immünolojik bellek oluşturarak bu patojenle tekrar karşılaşılması halinde hızlı ve daha etkili immün yanıt oluşturmaktadır (84).

Karaciğer klasik bir sekonder lenfoid organ olarak düşünülmemesine rağmen kazanılmış immün yanıtın gelişimi ve işlevi için benzersiz bir ortam sağlar. Karaciğerdeki Antijen Sunabilen Hücrelerin (APC) sayısal olarak üstünlüğü ve bu dokunun çeşitli immün hücre popülasyonlarını hızla toplama yeteneğine rağmen bu bağışıklık yanıtının

oluşturulması vücudun diğer bölgelerine göre daha karmaşıktır. Portal kan akımı ile beslenmesi sebebiyle çok çeşitli gastrointestinal kaynaklı antijenlere maruz kalan karaciğer besinsel ve kommensal antijenleri patojenik antijenlerden ayırarak tolerans göstermesi ve immün yanıt oluşturmaması gerekirken patojenik antijenlere karşı ise kuvvetli bağışıklık yanıtı oluşturması gerekmektedir (85).

Kazanılmış bağışıklık yanıtını oluşturan hücreler lenfositler olarak bilinen beyaz kan hücreleridir. Lenfositler B ve T lenfositler olmak üzere ikiye ayrılır. Her iki tip lenfositte kemik iliğinde üretilmektedir. B hücreleri gelişimini kemik iliğinde tamamlarken T hücreleri ise kan yoluyla timusa taşınarak gelişimini burada tamamlamaktadır. B hücreleri antikor üreterek immün yanıt oluştururken T hücreleri antijen sunucu hücrelerce sunulan antijenik peptidleri tanıyarak immün yanıt oluşturmaktadır. B hücrelerinin salgıladığı antikorlar kan dolaşımında dolaşarak yabancı antijenlere bağlanır ve antijenin konakçıya bağlanmasına izin vermeden etkisiz hale getirilmesini sağlar (86).

T lenfositleri yüzeylerinde CD4⁺ ve CD8⁺ belirteçleri taşırlar. Naive CD4⁺ ve CD8⁺ T lenfositleri antijenle karşılaştığı ortamda bulunan sitokinlerden etkilenirler. T lenfositleri transkripsiyon faktörleri ve efektör moleküllerin ifade edilmesiyle olgun T lenfositlerine dönüşürler (87). İmmün sistemdeki hücreler farklı sitokinler salgılayarak henüz bir antijenle karşılaşmamış naif T lenfosilerinin farklılaşacağı yardımcı T lenfosit alt grubunun belirlenmesini sağlar. Farklı immünolojik etkileri olan dört temel yardımcı T lenfosit vardır. Bunlar yardımcı T lenfosit-1 (T_H1), yardımcı T lenfosit-2 (T_H2), yardımcı T lenfosit-17 (T_H17), regülatör T lenfositler (Treg) ve Foliküler Yardımcı T Lenfositlerdir (T_{FH}) (88).

Naif T lenfositlerinin patojenlere yanıt olarak makrofaj ve dendritik hücreler tarafından üretilen IL-6, IL-12, IL-18, TNF- α ve IFN- γ sitokinlerinin ortamda daha baskın olması durumunda T_H1 hücrelerine dönüşümü uyarılmaktadır (89). IL-12 ve IFN- γ 'nın naive T hücresi yüzeyindeki spesifik reseptörlerine bağlanmasıyla *Signal Transducer and Activator Of Transcription-4* (STAT4) ve STAT4 mediatör molekülleri *T-box expressed in T cells*'in (T-bet) transkripsiyon faktörünü aktive ederler. Böylece naive T hücreleri T_H1 hücrelerine farklılaşarak IFN- γ , IL-12 üretiminin ve bu sitokinlerin reseptörlerinin ifadesini artırarak T_H1 farklılaşmasını daha da pekiştirmektedir. T_H1 tipi hücreler inflammatuar tipte bir immün yanıtın oluşmasına yol açarlar. TNF ve IL-6'nın da T_H1 hücreleri üzerinde

birlikte uyarıcı etkileri vardır. T_{H1} hücreleri kontrolsüz bir şekilde çalıştıklarında doku hasarı ve salgılanan hastalıkların ortaya çıkmasına sebep olabilmektedir (90). T_{H1} tipi hücrelerce oluşturulan IFN- γ 'nın karaciğerde anti-fibrotik etki gösteren bir sitokin olduğu bilinmektedir (91).

T_{H2} tipi hücreler T_{H1} hücrelerin aksine anti-inflamatuar tipte hücrelerdir. Bu hücrelerin salgıladığı sitokinler anti-inflamatuar sitokinler olan IL-4 ve IL-13 gibi sitokinlerdir. Naive T hücrelerinin T_{H2} tipi hücelere farklılaşması için ortamda IL-4 sitokininin bulunması gerekmektedir. IL-4'ün naive T hücresi yüzeyindeki reseptörüne bağlanması ile STAT-6 aracı molekülü aktive olur ve GATA-3 transkripsiyon faktörünün ifade edilmesine neden olur. Böylece T_{H2} tipi hücreler gelişmektedir. Bu hücrelerin kendileri de IL-4 üreterek ortamdaki diğer naive T hücrelerinde T_{H2} tipi hücelere dönüşmesini destekler. T_{H2} tipi hücrelerinin ürettiği sitokinler karaciğerde fibrotik etki göstermektedir (91, 92). T_{H1} ve T_{H2} hücrelerinin ürettikleri sitokinlerin birbirlerini baskıladığı bilinmektedir. T_{H2} farklılaşmasına aracılık eden IL-4 T_{H1} farklılaşmasını baskılamaktadır. IFN- γ 'nın ise tam tersi etki göstererek T_{H1} gelişimini indüklerken T_{H2} gelişimini baskıladığı bilinmektedir (93).

T_{H17} hücreleri bağışıklık sisteminin hücre dışı bakteri ve mantarlara karşı savunmasında görev almaktadır. CD4 naive T hücreleri ortamda bol miktarda IL-6 ve TGF- β olduğu zaman T_{H17} hücelerine farklılaşırlar. IL-6'nın naive T hücresi yüzeyindeki reseptörlerine bağlanması STAT4 aracı molekülünü aktive eder. STAT4 aktive olduktan sonra *Retineic-Acid-Receptor-Related Orphan Nuclear Receptor Gamma-t* (ROR γ t) transkripsiyon faktörünün aktive eder. Daha sonra T_{H17} hücelerinin yüzeyinde IL-23 reseptörü ifade edilmeye başlar. IL-23 sitokininin reseptörüne bağlanması T_{H17} hücelerinin klonal genişlemesini ve stabilizasyonunu sağlamaktadır (94).

Treg'ler self toleransın sağlanmasında ve bağışıklık yanıtının düzenlenmesinde önemli rol oynar. Treg'ler FOXP3 ve CD25 ifadesiyle karakterize edilir. Naive T hüceleri ortamda TGF- β ve IL-2'nin olduğu ancak IL-6 ve diğer pro-inflamatuar sitokinlerin olmadığı ortam koşullarında Treg hücelerine farklılaşmaktadır. IL-2'nin reseptörüne bağlanması STAT5 aracı molekülünü aktive ederek ve FOXP3 transkripsiyon faktörünü harekete geçirerek farklılaşmayı sağlamaktadır. Treg'lerin CD4⁺ T ve CD8⁺ T hücelerinin, B hücelerinin ve DC'lerin aktivasyonunu baskılayabildiği düşünülmektedir. Treg'lerin

TGF- β ve IL-10 gibi sitokinleri üreterek bu baskılayıcı ortamı sağladığı düşünülmektedir (95). TGF- β karaciğer için güçlü fibrotik etki gösterdiği bilinmektedir (91).

T_{FH} hücreleri lenf düğümleri, dalak ve Peyer plakaları gibi ikincil lenfoid organlarda bulunan CD4⁺ T hücreleridir. T_{FH} hücreleri CXCL13 kemokin reseptörü olan CXCR5'i ifade etmektedir. CXCR5 ifadesi T hücrelerinin CXCL13 reseptörünün bol olarak bulunduğu B hücre folikülüne hareket etmek için T_{FH}'lerin farklılaşmasını sağlamaktadır. Bu nedenle T_{FH}'ler B hücreleri ile iletişim sağlayarak görevlerini sürdürmektedir. T_{FH}'ler diğer T hücrelerinden farklı olarak daha fazla miktarda CD40 ligandı, IL-2 ve IL-21 ifade etmektedirler. T_{FH}'lerde bu moleküllerin fazla miktarda ifade edilmesi B hücrelerinin farklılaşmasını sağlayarak B hücreleri tarafından üretilen antikorların miktarını arttırmaktadırlar (96).

2.7. Karaciğer Nakli ve Tarihçesi

Karaciğer nakli canlı bir donörden karaciğerin bir kısmının ya da beyin ölümü gerçekleşmiş kadavradan karaciğerin bir kısmının veya tamamının alınarak organ nakline ihtiyaç duyan hastaya nakil edilmesidir. Karaciğer kendini yenileyebilen bir organ olduğu için canlı donörün karaciğerinin bir kısmının alınması herhangi bir problem oluşturmamaktadır. Başarılı bir karaciğer nakli, karaciğerin artık gerektiği gibi çalışmadığı akut veya kronik karaciğer hastalıkları sonucunda gelişen karaciğer yetmezliği olan kişiler için hayat kurtarıcı bir tedavi yöntemidir (97, 98).

1955'te Welch köpeklerde karaciğer nakliyle ilgili ilk denemeleri gerçekleştirmiştir (99). 1958'de Francis Moore ise köpeklerde ilk ortotopik karaciğer naklini tanımlamıştır (100). 1963'te Starzl ve ark. (101) safra atrezisi bulunan 3 yaşındaki bir erkeğe ilk insan ortotopik karaciğer naklini denedi, ancak hasta operasyon tamamlanamadan ölmüştür. Bu dönemdeki atılımlar büyük ölçüde başarısız olmasına rağmen, karaciğer nakline hala rehberlik eden teknik ilkelerin temellerinin atılmasını sağladı. Bu girişimlerin sonucu olarak karaciğer nakli, son dönem karaciğer hastalığının kesin tedavisi olarak dünya çapında kabul edilmiştir (102). 1980'lere kadar karaciğer nakli sayısı sadece 330'du ve bu dönemlerde cerrahi teknikle ilgili çeşitli kısıtlamalar, inaktif immünsüpresyon ve yetersiz postoperatif bakım nedeniyle 1 yıllık sağkalım oranları %30'un altındaydı (103).

Operasyonla ilgili teknik zorluklar ve yeni immünosupresif ajanlara duyulan ihtiyaç gibi temel sorunlar aşıldıkça operasyonların sayısı büyük ölçüde artmıştır (104).

Haberal ve ark. 1970'lerin başında domuz ve köpeklerde karaciğer nakli ile ilgili ülkemizde ilk deneysel çalışmaları gerçekleştirmişlerdir. O yıllarda organ nakline ilişkin yasaların olmaması Türkiye'deki organ nakli faaliyetlerinin daha da ilerlemesinin önündeki en büyük engeldi. Ülkemizdeki ilk karaciğer nakli 1988 yılında Haberal ve ekibi tarafından kadavradan gerçekleştirdi. 1989'da organların ülke çapında dağılımını sağlayan ve nakil merkezleri arasındaki iletişimi arttıran ulusal bir organ nakli programı başlatıldı ve böylece kadavradan organ nakillerinin sayısı arttı. Canlı donörden ilk karaciğer nakli ise yine Haberal ve ark. (105) tarafından 1990 yılında 10 aylık bir çocuğa annesinden organ alınarak yapılmıştır.

Bir organ nakli organizasyonu ancak tüm yasal, etik, tıbbi, sosyal, psikolojik, teknolojik, ekonomik ve dini yönleri ele alınarak planlanmaktadır. Tüm bu bileşenler dikkate alınmadan etkin bir sistem oluşturmak ve çalıştırmak neredeyse imkansızlaşmaktadır. Ülkemizde bu süreç yavaş yavaş ilerleyerek geliştirilmiştir. Bu süreçte; immünosupresif ilaçlara erişim, sağlık personelinin eğitimi, doku tiplemesindeki teknolojik gelişmeler, greft görüntüleme ve immünosupresif ilaç izlemedeki gelişmeler, ulusal organ nakil programlarının oluşturulması, ulusal ve uluslararası bilimsel toplantıların düzenlenmesi ve derneklerin kurulmasıyla birlikte ülkemizde başarılı organ nakli sayıları artmıştır (106).

İnönü Üniversitesi Karaciğer Nakli Enstitüsü 2016 yılında dünyanın ilk özel Karaciğer Nakli Enstitüsü ve Hastanesi olarak temellerini atmıştır. Bu süre zarfında, 3000'den fazla karaciğer nakli gerçekleştirilmiştir. İnönü Üniversitesi Karaciğer Nakli Enstitüsü başarıyla gerçekleşen en fazla karaciğer nakli yapılan Avrupa'da birinci dünyada ikinci olan bir merkez olarak görevini sürdürmektedir, ayrıca karaciğer nakli öncesi nakil kriterlerinin belirlenmesinde de karar verici bir merkez konumundadır. Haziran 2019'da bir çocuk ve dört yetişkin hasta olmak üzere beş eş zamanlı canlı donör karaciğer nakli gerçekleştirilmiştir, ayrıca karaciğer nakli programı ağırlıklı olarak canlı donörlerin kullanımına dayanmaktadır ve bunun sonucunda ameliyat için minimum bekleme süresi bulunmaktadır (107, 108).

2.7.1. Karaciğer Nakli Sonrası Karşılaşılabilen Komplikasyonlar

Karaciğer vücuttaki tüm sistemler ile aktif olarak etkileşime giren bir organdır. Bu nedenle karaciğer grefti alan hasta oldukça büyük fizyolojik değişikliklerle karşı karşıya kalır. Karaciğer, operasyon esnasında ve hemen sonrasında gelişebilecek hipotansiyon, hipoksi, iskemi ve kullanılan hepatotoksik ilaçlar da dahil olmak üzere çok çeşitli potansiyel olarak zararlı faktörlere maruz kalır. Bunlara ek olarak donörle ilgili faktörler (hepatik steatoz, vazoaaktif ilaç kullanımı, hemodinamik değişiklikler), cerrahi ile ilgili komplikasyonlar (intra veya postoperatif kanama, vasküler veya biliyer komplikasyonlar) gelişebilecek enfeksiyonlar ve salgısal ve hücrel immün yanıt kaynaklı reaksiyonlar (greft reddi) gibi çok farklı faktörler etkili olabilir. Özetle, her hastanın operasyon sonrası genel durumu hastanın operasyon öncesi durumuna, bağışlanan organın kalitesine ve operasyonun kompleksliğine bağlı olarak büyük ölçüde değişebilmektedir (109).

Komplikasyonlar hem nakil sırasında hem de nakilden sonra ortaya çıkabilmektedir. Nakil sonrası erken dönemdeki ana komplikasyonlar greftin işlevi (disfonksiyon ve rejeksiyon), cerrahi teknik, enfeksiyonlar (bakteriyel, fungal veya viral) veya sistemik problemler (pulmoner, renal veya nörolojik) ile ilgili olabilir. Günümüzde gelişen immün süpresif tedaviyle birlikte çoğu nakil merkezinde sağkalımın arttığı görülmektedir ve bunun sayesinde nakil sonrası uzun vadede görülen komplikasyonlara yönelik araştırmalar artmaktadır. En sık görülen komplikasyonlar; kronik rejeksiyon, böbrek yetmezliği, sistemik arteriyel hipertansiyon, hastane kaynaklı ve hastane dışı enfeksiyonlar, diyabetes mellitus, dislipidemi, obezite, de novo tümörlerin gelişimi ve malignitedir (110, 111). Orijinal hastalığın nüksü ana sorunlardan biri olmasına rağmen nakil kaynaklı bir komplikasyon olarak kabul edilmemektedir, ayrıca çoğu durumda nakil karaciğerin hastalığına neden olan asıl sebebi ortadan kaldırmamaktadır (112).

Son yıllarda gelişmiş cerrahi ve yeni immünsüpresif yaklaşımların uygulanması neredeyse tüm yaşamsal organ ve dokuların başarıyla naklini mümkün hale getirmiştir. Buna rağmen nakillerin çoğunluğu genetik olarak farklı donörlerden yapıldığı için alıcı ile donör arasındaki doku uygunluğu bir problem olmayı sürdürmektedir. Bu nedenle alıcının donör greft antijenlerine karşı geliştirdiği immün yanıt göz önünde bulundurulmalıdır (113).

Donör ve alıcı arasında antijen uyumsuzluğu gelişmesi halinde rejeksiyon süreci başlamaktadır. Burada en önemli antijenler HLA-A, HLA-B ve HLA-DR'dir (114). Karaciğerin diğer solid organ nakilleri ile karşılaştırılınca grefte karşı toleransı yüksektir ve bu sebeple karaciğer nakli diğer solid organ nakillerine göre ayrıcalıklı sayılabilmektedir (115).

Greft rejeksiyonu ve enfeksiyonlarda rol oynayan immünolojik faktörler organın kabulünde oldukça önemlidir. İmmünolojik komplikasyon riski yüksek olan alıcıların erken teşhisi solid organ nakli araştırmaları alanında bir öncelik olmuştur. Kişiselleştirilmiş tedavileri uygulamak için immünsüpresif ilaçlara karşı greftin ve immünolojik sistemin birlikte verdiği tepkiyi kliniğe yansıtabilecek spesifik biyobelirteçler gerekmektedir. Biyobelirteç kullanımının amaçları rejeksiyonu erken tahmin etmek, prognozu belirlemek ve immünsüpresif tedavinin maliyetini uygun bir şekilde uyarlamaktır. Rejeksiyon biyobelirteçleri nakil hastalarının yaşam kalitesini birçok yönden arttırmaktadır; örneğin, biyopsi gereksinimini azaltarak ve ilaç tedavisini optimize ederek immünolojik komplikasyon riski düşük olan hastalarda gereksiz yere yüksek immünosüpresyon seviyesinden kaçınmak, rejeksiyonu daha erken saptamak ve sonunda uzun süreli greft sağkalımını sağlamaktır (116).

2.7.2. Karaciğer Naklinde Kullanılan Biyokimyasal Parametreler

İnsan vücudundaki hayati işlevleri yerine getiren karaciğerde bir hasar veya fonksiyon bozukluğu oluştuğunda bu durumun doğru bir şekilde değerlendirilmesi oldukça önemlidir. Serum karaciğer enzimlerindeki yükselmelerin değerlendirilmesi ve sonuçların tıbbi öykü ve fiziksel muayene ile ilişkilendirilmesi ayırıcı tanının belirlenmesine yardımcı olmaktadır. Kısa veya uzun vadede oluşabilecek komplikasyonları erkenden önlemek amacıyla ayırıcı tanıda kullanılan parametreler sağ kalım için de oldukça önemlidir (117).

ALT ve AST karaciğerdeki başlıca belirteç enzimlerdir. Sağlıklı bir bireydeki normal ALT düzeyi genellikle 0-55 U/L arasındadır. ALT yaklaşık 47 saatlik bir yarı ömre sahiptir (118). ALT enzimi amino gruplarının L alaninden alfa-ketoglutarata transferini katalize eder (119). Bu döngünün dönüşüm ürünleri L glutamat ve piruvattır. İşlem karaciğerdeki trikarboksilik asit döngüsünde kritik öneme sahiptir. Piruvat, hücresel enerji üretmek için sitrik asit döngüsünde kullanılabilir. Bu reaksiyon için gerekli olan

koenzim B6 vitamini olarak da bilinen piridoksal fosfattır (119). ALT insan vücudunda böbrek, miyokard, iskelet kası, beyin, pankreas, dalak ve akciğerde bulunmaktadır. Daha spesifik olarak ALT aktivitesinin en yüksek doku konsantrasyonu hepatositlerin sitozolündedir. ALT'nin hepatositlerdeki aktivitesi serum ALT aktivitesinden yaklaşık 3000 kat daha yüksektir. Bu nedenle akut veya kronik hepatoselüler hasarı olan hastalarda hasar görmüş hepatositlerden ALT salınımı serum ALT düzeylerinin artmasına neden olmaktadır (120). Bununla birlikte, hepatosit membran bütünlüğünün kaybına veya nekrozuna yol açan herhangi bir işlem plazmada yüksek konsantrasyonlarda ALT salınımı ile sonuçlanmaktadır. Bu nedenle serum ALT konsantrasyonunun yükselmesi ve yüksekliğin derecesi kesin nedeni belirleyemediğinden hepatoselüler hasarın hassas ancak spesifik olmayan bir ölçüsüdür. En yaygın nedenler alkole bağlı karaciğer hasarı, NAFLD, NASH, kronik hepatit B ve C, otoimmün hepatit veya ilaçlar gibi faktörlerin olduğu karaciğer hasarıdır. Diğer nedenler arasında hemokromatoz, vasküler hastalık, akut viral hepatit ve karaciğeri etkileyen genetik bozukluklar bulunmaktadır (121).

AST enzimi kalp, iskelet kası, böbrek, beyin, karaciğer ve pankreas gibi birçok organ ve dokuda bulunmaktadır. Sağlıklı bir bireydeki normal AST düzeyi genellikle 5-34 U/L arasındadır. Sitoplazmik ve mitokondriyal olmak üzere iki izoformu vardır. Orta derecedeki bir hücre hasarında sitoplazmik izoenzim kana salınır. Öte yandan şiddetli hücre hasarı sırasında mitokondriyal izoenzimin kandaki aktivitesi artar. Serumdaki AST aktivitesinin belirlenmesi esas olarak karaciğer hasarını değerlendirmek için kullanılır. Sağlıklı bireylerde kandaki AST seviyeleri düşüktür. Karaciğer veya kas hücreleri yaralandığında AST'yi kana bırakırlar. Bu nedenle AST karaciğer hasarını veya ilgili enfeksiyonların ve ilaçların bazı yan etkilerini saptamak veya izlemek için yararlı bir testtir. Ancak AST sadece karaciğere özgü değildir ve vücudun diğer kısımlarını etkileyen durumlarda da yükselebilir (122). AST ve ALT karaciğer hasarını saptamak için en önemli testlerden ikisi olarak kabul edilir, ancak ALT karaciğer için AST'den daha spesifiktir ve AST'den daha yaygın olarak artar. Bazen AST doğrudan ALT ile karşılaştırılır ve bir AST/ALT oranı hesaplanır. Bu oran, karaciğer hasarının farklı nedenlerini veya karaciğer hasarını kalp veya kas hasarından ayırt etmek için kullanılabilir (123).

PLT dolaşımında diskoid parçalar halinde dolaşan küçük ve çekirdeksiz hücresel fragmentlerdir. PLT'nin 1 mm³ kandaki normal değeri 150000-400000 arasındadır ve

ortalama dolaşım ömürleri 8-9 gündür ve PLT'lerin oluşumları megakaryositopoez ve trombopoez olarak bilinen iyi düzenlenmiş bir dizi hücresel işlemde meydana gelmektedir. Bu işlemler hematopoietik kök hücrelerin proliferasyonu, megakaryositik hücrelerin farklılaşmasını ve fonksiyonel trombositler üretmek için megakaryositlerin olgunlaşmasını içermektedir. Bu karmaşık süreç, megakaryositlerin pro-platelet yapılarını oluşturduğu ve trombositleri dolaşıma salındığı kemik iliğinde gerçekleşmektedir. PLT yaralı bir kan damarı ile temas ettiğinde yapışma, aktivasyon ve agregasyon süreçleri yoluyla kan kaybını önlemektedir (124). Kronik ve akut karaciğer hastalıklarında trombosit sayısı veya fonksiyonundaki değişiklikler görülebilmektedir (125). Trombosit üretimi sirozlu hastalarda trombopoietin üretiminin azalması nedeniyle azalabilir, ayrıca alkolün veya hepatit C virüsünün kemik iliği üzerindeki doğrudan toksik etkilerinin bir sonucu olarak trombosit üretimi tehlikeye girebilmektedir (126). Trombositleri hedef alan otoantikörlerin gelişimi, trombosit yarı ömrünü azaltır ve sirozlu hastalarda trombositopeniye neden olabilmektedir (127).

CRP Oswald Avery tarafından *Streptococcus pneumoniae* ile enfekte hastalarda yapılan çalışmalar sırasında keşfedilmiştir (128). CRP esas olarak karaciğer hepatositlerinde aynı zamanda düz kas hücreleri, makrofajlar, endotel hücreleri ve lenfositler tarafından da sentezlenmektedir. CRP klasik kompleman yolunu aktive edebilir, fagositozu uyarabilir ve immünooglobulin reseptörlerine bağlanabilir (129). CRP genel olarak plazmada bulunur ve dolaşımdaki konsantrasyonu doku hasarı, enfeksiyon ve inflamasyon sırasında sitokin aracılı inflamasyonda büyük ölçüde artmaktadır. İnsanlarda CRP'nin plazma seviyeleri akut bir inflamasyonda 1000 kat veya daha fazlasına kadar hızlı ve belirgin bir şekilde yükselebilmektedir. CRP güçlü bir inflamatuvar belirteçtir ve tıp alanındaki araştırmalar için önemli bir parametredir. Diğer inflamasyon belirteçlerinden farklı olarak CRP seviyeleri uygun hassasiyetle düşük bir maliyetle kolayca ölçülebilmektedir (130).

Bilirubin, vasküler ağdaki hemin parçalanmasıyla oluşan bir yıkım ürünüdür. Bilirubin ana kaynağı yaşlanan eritrositlerden gelen hemoglobindir. Retikuloendotelial hücrelerde hem, hem oksijenaz enzimi tarafından tetrapirrol biliverdine dönüştürülür, ardından biliverdin redüktaz tarafından indirekt bilirubine indirgenerek albümine bağlı bir şekilde karaciğere taşınmaktadır. Karaciğerde indirekt bilirubin, bilirubin üridin difosfat

glukuronil transferaz tarafından suda eriyebilen Bilirubin D'ye dönüştürülür. Son olarak Bilirubin D salgılanan safra ile duodenuma girer ve daha sonra ürobilinoidlere dönüştürülerek vücuttan atılır (131). Vasküler ağdaki tüm bilirubine ise total bilirubin denir. Bilirubin test sonuçları direkt (Bilirubin D), indirekt veya total bilirubin (Bilirubin T) olarak ifade edilir. Bilirubin T, Bilirubin D ve indirekt bilirubinin bir kombinasyonudur (132). Bilirubin T için normal sonuçlar yetişkinler için 1-2 miligram/desilitre (mg/dL) ve 18 yaşın altındakiler için genellikle 1 mg/dL'dir. Bilirubin D için normal sonuçlar genellikle 0,3 mg/dL'dir. Bu sonuçlar kadınlar ve çocuklar için farklılık gösterebilir ve sonuçlar belirli yiyecekler, ilaçlar veya yorucu egzersizlerden etkilenebilmektedir. Normalden daha düşük bilirubin seviyeleri genellikle bir endişe kaynağı değildir, ancak daha yüksek bilirubin seviyeleri karaciğer hasarını veya hastalığının bir belirtisi olabilmektedir. Kandaki normal Bilirubin D seviyesinin daha yüksek olması karaciğerin bilirubini düzgün bir şekilde temizlemediğini gösterebilir (133). Yüksek Bilirubin D seviyeleri başka sorunlara işaret edebilir. Yüksek bilirubinin en sık görülen nedeni bilirubinin parçalanmasına yardımcı olan uridin difosfat glukuronil transferaz enzimini kodlayan genlerdeki mutasyondan kaynaklanan enzimdeki eksiklik ile ortaya çıkan Gilbert sendromudur (134).

AFP karaciğer hastalıklarında belirteç olarak kullanılan bir glikoproteindir. AFP ilk olarak gelişmekte olan fetüsün yolk kesesinde üretilen bir proteindir, daha sonra ise bu görevi karaciğer üstlenmektedir. Serum AFP düzeyi doğumdan sonra hızla düşer ve normal fizyolojide çok düşük düzeylerde kalır. Serum AFP'nin 1963 gibi erken bir tarihte HCC için bir tümör belirteci olarak kullanıldığı rapor edilmiştir. AFP düzeylerinin belirlenmesi HCC başlangıcını ve ilerlemesini izlemek, küratif tedavinin etkinliğini değerlendirmek ve sonuçları yorumlamak için kullanılmaktadır. AFP HCC için spesifik olmasa da kronik karaciğer hastalığında, viral hepatitler, pankreas, mide, safra ve germ hücreli tümörler gibi karaciğer dışı malignitelerde yüksek AFP seviyeleri görülebilmektedir (135). Özellikle yetişkinlerde 400 ng/ml'nin üzeri serum AFP seviyesi HCC için güçlü bir belirteçtir. Bununla birlikte AFP kronik HCV enfeksiyonunda fibrozis evresini belirlemek için dolaylı olarak bir indeks olarak kullanılabilir. Serum AFP ölçümü kullanımı basit ve nispeten ucuz olduğu için yaygın olarak kullanılmaktadır (136).

2.7.3. Karaciğer Transplantasyonu ve Sitokinler Arasındaki İlişki

Karaciğer naklinden hemen önce ve/veya sonrasında uygulanan immünosüpresif tedavinin amacı ağırlıklı olarak HLA'lara karşı reaksiyona giren konakçı T hücrelerinin neden olduğu akut rejeksiyonu engellemektir. Çoğu immünosüpresif ilaç T hücresi aktivasyonunu ve proliferasyonunu inhibe etmektedir, örneğin T hücrelerinin klonal çoğalmasından sorumlu olan kalsinörin inhibitörleri (takrolimus, siklosporin) IL-2 üretimini ve ardından T hücresi çoğalmasını bloke etmektedir. Ayrıca bu ilaçların yeterli konsantrasyonlara ulaşması genellikle birkaç hafta alır. Bu sebeple transplantasyon öncesi ve sonrasında IL-2 değerinin ölçümü uygulanan immünosüpresif tedavinin ne kadar etkin olduğunu görebilmek açısından yararlı bir belirteç olabileceği söylenmektedir (137, 138).

IL-4'ün transplantasyonda hem immünosüpresif hem de immüno stimülatör olabileceğine dair kanıtlar bulunmaktadır, ayrıca IFN- γ 'ya alternatif bir yolla makrofaj aktivasyonunu indükleyebilir ve bu yolla lenfoid olmayan hücrelere doğrudan etki edebilir. Bazı araştırmalara göre IL-4 mRNA seviyeleri kronik ve akut rejeksiyon durumlarında arttığı belirtilmektedir (139-141).

IL-6 T hücreleri, B hücreleri ve makrofajlar gibi hücrelerin immün yanıtlarını düzenleyen bir sitokindir (142). İnsan ve hayvan deneylerinden elde edilen veriler incelendiğinde pro-inflamatuar sitokinler olan IL-6'nın transplantasyon öncesi ve sonrasında karaciğerde gelişen immünolojik olaylarda önemli rol oynadığı belirtilmiştir. IL-6 serum seviyelerinin transplantasyondan sonraki ilk 6 saat içerisinde belirgin şekilde arttığı ve daha sonra normal düzeyine indiği belirtilmiştir. Son yapılan çalışmalarda IL-6'nın rejenerasyon sürecinde bir büyüme faktörü gibi görev yaptığı vurgulanmıştır (143-147). Cressman ve ark. (148) IL-6 eksikliği bulunan farelerde karaciğerin kısmi hepatektomisi sonrası karaciğer yetmezliği ve nekrozun meydana geldiğini ancak tek doz rekombinant IL-6 tedavisi ile rejeksiyonun geriye döndürülebildiğini göstermişlerdir. Bunun yanı sıra karaciğer hastalıkları ile ilişkili olarak IL-6'nın bir biyobelirteç olabileceğine dair çalışmalar da bulunmaktadır. Remmler ve ark. (149) son dönem karaciğer hastalığı bulunan bireylerde serum IL-6 seviyesinin artışının mortalite ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Serum IL-6 seviyesinin mortalite ile ilgili olarak ölçülen 90

günlük prediktif değeri CRP seviyesi ve Lökosit Sayısı (WBC) sayımı gibi diğer inflamatuvar belirteçlerden daha yüksek olduğu belirtilmiştir.

IL-10 makrofaj ve T hücre kaynaklı güçlü immünosupresif özelliklere sahip anti-inflamatuvar bir sitokindir. Transplantasyon sonrasında IL-10 seviyelerinin prognostik olabileceği düşünülmektedir. Transplantasyon sonrası sistemik olarak IL-10 salınımı olduğu bilinmektedir. Postoperatif erken dönemde artan IL-10 seviyesinin erken greft disfonksiyonu riski ile korele olabileceğine dair çalışmalar mevcuttur (150). Bunlara ek olarak IL-10 B lenfositlerini güçlü bir şekilde aktive edebilmektedir (151).

TNF- α transplantasyon sonrası greft immünolojisinde etkin rol oynayan bir sitokindir. TNF- α ve IL-6 ile birlikte çalışarak hücre döngüsünü uyarır ve rejenerasyonu başlatır (152). Santiago ve ark. (147) 20 karaciğer transplantasyonu hastasıyla yaptıkları araştırmada transplantasyon esnasında serum sitokin seviyelerini ölçtüler ve çalışmalarında serum TNF- α seviyelerinin reperfüzyondan sonraki ilk 20 dakikada en yüksek seviyeye ulaştığını belirtmişlerdir. Postoperatif dönemde yükselmiş serum TNF- α düzeyleri rejeksiyon riskini arttırdığı bilinmektedir (153). Boros ve ark. (154) transplantasyon sonrası 1. günde IL-6 ve TNF- α düzeylerinin greft fonksiyonu zayıf olan hastalarda daha yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir.

IFN- γ inflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde görev alan temel bir sitokindir. IFN- γ inflamatuvar sitokin düzeyinin izlenmesi ve grefte verilen immün tepkinin düzenlenmesinde görev almaktadır (155). NK hücreleri tarafından üretilen IFN- γ STAT1'i aktive ederek hepatositlerde hücre döngüsünün durmasını ve apoptozu indükleyerek karaciğer rejenerasyonunu baskılamaktadır (156).

2.7.4. FOXP3

FOXP3 Treg'leri kontrol eden ana transkripsiyon faktörüdür. FOXP3 deasetilazlar ve histon asetilazlar gibi spesifik transkripsiyonel faktörlerinin üzerinde etkilidir. Bu nedenle FOXP3 bir transkripsiyonel aktivatör veya baskılayıcı olarak hareket edebilir. *FOXP3* geninin aktivasyonu aynı zamanda naive T hücrelerini Treg'lere dönüştürdüğü de bilinmektedir (157).

Dolaşımda bulunan naive T hücrelerinin Treg'lere dönüşümünü sağlamak için bazı sitokinler tarafından uyarılması gerekmektedir. IL-10 aracılığıyla uyarılan Treg'ler

CD4⁺/CD25⁺/FOXP3⁻ ve TGF- β tarafından uyarılan Treg'ler ise CD4⁺/CD25⁺/FOXP3⁺ Regülatör T hücreleri olarak adlandırılmaktadır. Bu uyarılmış Regülatör Treg'ler otoimmün hastalıkların önlenmesi ve self toleransın korunmasında oldukça önemlidir. Treg hücreler IL-10 ve TGF- β gibi anti-inflamatuar sitokin üretimi, sitoliz, efektör T-hücresi apoptozunun indüklenmesi ve antijen sunucu hücrelerin inhibisyonu gibi bir dizi mekanizma vasıtasıyla CD4⁺ ve CD8⁺ T hücre immün yanıtını baskılayabilmektedir. Treg'lerin greft reddini önlemedeki ve toleransı indüklemedeki rolü kemirgen karaciğer transplantasyon modellerinde gösterilmiştir. İnsan karaciğer transplantasyonu üzerine yapılan çalışmalarda transplantasyon alıcılarının periferik kanında Treg ifadesinin arttığı belirtilmiştir (158).

2.7.5. TREM1

İmmüoglobulin süper ailesinin yakın zamanda keşfedilen bir reseptörü olan TREM1 yabancı antijenleri ve toksik maddeleri tanımlayarak inflamatuvar yanıtın düzenlenmesine katkıda bulunmaktadır. Karaciğerde TREM1 sinüzoidal endotel hücreleri, Kupffer hücreleri ve HSH'ler gibi parankimal olmayan hücreler, makrofajlar ve nötrofiller gibi hücreler tarafından inflamasyona yanıt olarak ifade edilir. TREM1 bakteriyel ve mantar enfeksiyonlarına yanıt olarak pro-inflamatuar sitokinlerin ifadesini artırır (159). Hayvan modellerinde TREM1'in blokajı sistemik inflamatuvar sendromlara neden olan bakteriyel enfeksiyonların hayvan modellerinde inflamasyonu azalttığı ve bakteriyel sağ kalımı arttırdığı gösterilmiştir (160).

TREM1'in inflamatuvar yanıtındaki işlevi, TLR-4 tarafından başlatılan yanıtları güçlendirmektir. TREM1 temel olarak akut inflamasyon sırasında inflamasyonu daha da arttırdığı belirtilmiştir. Kronik inflamasyonda ise sıklıkla metabolik anormallikleri, fibrozisi ve tümörjenezini indüklediği ifade edilmiştir. Bu fizyolojik değişiklikler; karaciğer hasarı, alkolsüz steatohepatit, hepatik fibroz ve hepatoselüler karsinom gibi karaciğer ile ilgili hastalıklara yol açtığı gösterilmiştir (161).

Belirli inflamatuvar hücrelerde TREM1'in sınırlı ekspresyonu; inflamasyon, enfeksiyona direnç, tümör, transplantasyon, alerji, otoimmün hastalık, immün yetmezlik gibi klinik durumlarda oldukça önemlidir. Klinik olarak uygun TREM1 inhibitörleri, özellikle kanser tedavisinde tek ajan olarak veya diğer kanser terapileri ile birlikte tedavi

süresini kısaltan hedefler olarak ön plana çıkarılabilir (162). Rui ve ark. (163) TREM1 ifadesinin hepatit B ile ilişkili HCC'li hastalarda sağkalım için prognostik bir faktör olduğunu belirtmişlerdir.

2.7.6. HLA-G5

HLA-G fetal dokuları maternal bağışıklık sisteminden koruyabilen bir immünomodülatör molekül olarak işlev gören MHC-I molekülüdür (164). HLA-G bağışıklık hücrelerinin işlevini engelleyen tolerojenik bir moleküldür. HLA-G NK hücreleri ve sitotoksik T lenfositlerin sitolitik aktivitesini (165), CD4⁺ T hücresi yanıtlarını (166), T hücrelerinin ve NK hücrelerinin proliferasyonunu (167) ve dendritik hücre olgunlaşmasını inhibe etmektedir (168).

HLA-G primer transkriptin *Alternatif Splicing*'i farklı hücre tiplerine özgü HLA-G'nin oluşumunda anahtar rol oynar. Böylece HLA-G'nin, zara bağlı (HLA-G1, G2, G3, G4) ve çözünür (HLA-G5, G6, G7) yedi farklı protein izoformu oluşturulur (169). Çözünür formdaki HLA-G5'in immün yanıtı yönlendirici etkisi bulunmaktadır. HLA-G5'in immün yanıtı baskılayıcı etkisi hem doğal immün yanıt hem de kazanılmış immün yanıt üzerinden olabilmektedir. Transplantasyon hastalarında artan HLA-G5 düzeyinin greft kabulü ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Bunun dışında kanser hastalarında artan HLA-G5'in tümör hücrelerinin immün sistemden kaçmasını kolaylaştırdığı ve metastaz etkeni olduğu belirtilmiştir. HLA-G'nin hem çözünür hem de membran formları sitotoksik T lenfosit yanıtını ve hatta NK hücre fonksiyonunu inhibe etmekte ve ayrıca CD4⁺ T lenfosit proliferasyonunu ve antijen sunucu hücrelerin olgunlaşmasını inhibe etmektedir. Bu etkilerinin yanı sıra baskılayıcı T lenfositleri uyardığı ve muhtemelen yukarıda belirtilen fonksiyonlarını da, bu şekilde gerçekleştirdiği düşünülmektedir (170-173).

2.7.7. CD14

CD14 esas olarak monositler, makrofajlar, nötrofiller ve B hücreleri gibi doğal immün hücrelerinden ifade edilen hücre yüzeyi glikoproteinidir. CD14 hem gram negatif hem de gram pozitif bakterilerin hücre yüzeyindeki ligandları tanır ve bunlara bağlanır. LPS ve Lipopolisakkarit Bağlayıcı Protein (LBS) kompleksleri için yüksek afiniteli bir reseptör görevi görür. CD14-LPS-LBS kompleksi enfeksiyon ajanlarına karşı TLR-4'e

özgü pro-inflamatuar sinyal kaskadını aktive eder. CD14 içeren kompleks hücre zarından dolaşıma serbest bırakılır ve çözünür CD14 oluşturulur. CD14'ün çeşitli enfeksiyon hastalıklarında biyobelirteç olabileceği düşünülmektedir (174).

2.8. Karaciğer Transplantasyonunda Kullanılan İmmüsupresif İlaçlar

Bağışıklık sistemi solid organ transplantasyonu alıcılarında uzun süreli greft sağkalımının önündeki en büyük engeldir. Donör organları, alıcının bağışıklık sistemi tarafından yabancı madde olarak algılanır, saldırıya uğrayabilir ve rejeksiyon süreci başlayabilir (175). Hastanın hayatta kalması ve allogreftin kabulü alıcının bağışıklık sistemi modülasyonuna bağlıdır. Solid organ transplantasyonu alıcılarında nakledilen organa karşı alıcının bağışıklık yanıtını bastırmak için bağışıklık baskılayıcı bir rejim gerekmektedir. Bu nedenle organ rejeksiyonunu önlemek için perioperatif dönemde immüsupresif ajanlar uygulanmaktadır (176).

Takrolimus 1985 yılında *Streptomyces tsukubaensis*'ten türetilen bir makrolid ajandır. Takrolimus karaciğer ve böbrek allogreft alıcılarında reddi önlemek için Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmasından bu yana birçok organ transplantasyonu türünde başarıyla kullanılmaktadır (177). Takrolimus IL-2 ve T hücre aktivasyonunu baskılayarak bağışıklık yanıtını kontrol eder ve organ reddini önler. Solid organ transplantasyonu alıcılarında idame immüsupresyon için takrolimus kullanan randomize kontrollü çalışmalar yapılmıştır. Bu ilacın siklosporin bazlı immüsupresif rejimlere kıyasla daha etkili olduğunu gösterilmiştir. Hücresel düzeyde takrolimus ve siklosporin benzer etkilere sahiptir, bununla birlikte takrolimusun IL-2 ve T-hücre aktivasyonunu inhibe etme yeteneği açısından 10-100 kat daha güçlü olduğu gösterilmiştir. Çoğu transplantasyon merkezi rejeksiyonu önlemek için birinci basamak tedavi olarak takrolimus bazlı immüsupresyonu kullanmaktadır (178).

Everolimus rapamisin ilaç sınıfına ait proliferasyon sinyal inhibitörüdür. Everolimus organ transplantasyonu, onkoloji ve kardiyoloji dahil olmak üzere birçok klinik alanda uygulanmaktadır. Everolimus transplantasyonda immüsupresif bir özellik göstermektedir, akut rejeksiyonu önlemek amacıyla kalp, karaciğer, akciğer ve böbrek transplantasyonu alıcılarında kullanılmaktadır (179). Everolimus hücre içine girdiğinde FK bağlayıcı protein-12'ye (FKBP12) bağlanır. Bu kompleks daha sonra Mammalian Target

of Rapamycin'e (mTOR) bağlanır. Sonuç olarak IL-2'yi bloke ederek IL-2 tarafından indüklenen T lenfositleri ve B lenfositlerinin proliferasyonunu engeller. Everolimus hem karaciğer hem de böbrek transplantasyonu alıcılarının kullanımı için FDA tarafından onaylanmıştır. Everolimus karaciğer transplantasyonu alıcılarında potansiyel hepatik arter trombozu riskini azaltmak için nakilden en az 30 gün sonra uygulanmaktadır (180).

Mikofenolat mofetil, mikofenolik asidin (MPA) inaktif formudur. Gastrointestinal absorpsiyondan sonra, mikofenolat mofetil karaciğer tarafından hızla aktif formu olan MPA'ya dönüştürülür (181). Normal hücrelerde bir pürin bazı olan guanin nükleotidi inosin monofosfat dehidrojenaz enzimi aracılığıyla sentezlenir. İnosin monofosfat dehidrojenaz MPA tarafından inhibe edilir, böylece guanozin nükleozidlerin tükenmesine neden olur. Böylece MPA'lar pürin sentezini bozarak T ve B lenfositlerinin proliferasyonunu dolaylı yollarla inhibe eder (182). Greft reddini önlemede MPA'nın etkinliği üç mekanizma ile ifade edilebilir. Birincisi; MPA antijenik stimülasyona yanıt veren hücre klonlarını ortadan kaldırabilen T lenfositlerin apoptozunu indükleyebilir. İkincisi; MPA, guanozin nükleozidlerini tüketerek glikozilasyonu ve bazı adhezyon moleküllerinin ekspresyonunu baskılar, böylece lenfositlerin ve monositlerin inflamasyon alanlarına alımını azaltır. Üçüncüsü; MPA guanozin nükleotidlerini tüketerek, indüklenabilir nitrik oksit sentaz için bir kofaktör olan tetrahidrobiopterinini inhibe eder. Bu nedenle MPA nitrik oksit sentaz üretimini ve bunun sonucunda peroksinitritinin aracılık ettiği doku hasarını baskılamaktadır (183).

Steroid tedavisi, son yıllarda nakil hastalarında immünosupresyonun temelini oluşturmaktadır. Transplantasyonda en yaygın olarak kullanılan steroidler; hidrokortizon, prednizolon, prednizon ve metilprednizolondur. Bu steroidlerin tamamı vücutta aktif prednizolona dönüştürülmektedir (184). Steroidler IL-10 ifadesini artırır ve T hücreleri aracılığıyla IL-2, IL-6 ve IFN- γ ifadesini inhibe etmektedir. Bu güçlü ve spesifik olmayan immünosupresan etkiler, transplantasyonun etkinliğine katkıda bulunmaktadır (185).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

Deneyleerde kullanılan cihazlar Tablo 3.1’de; kimyasallar, çözeltiler ve kitler ise Tablo 3.2’de özetlenmiştir.

Tablo 3.1. Deneyleerde Kullanılan Cihazlar

Cihaz	Marka/Model/Ülke
Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Cihazı	BİO-RAD/MyCycler/ABD
Gerçek Zamanlı PZR Cihazı	QİAGEN/Rotor-Gene Q/Almanya
Mikro Volüm Spektrofotometre	Maestro/MN-913/Tayvan
Jel Görüntüleme Sistemi	KODAK/Gel Logic 2200/ABD
Masaüstü Santrifüj Cihazı	Hettich-Zetrifugen/Micro 200/Almanya
Elektroforez Cihazı	BİO-RAD/Powerpack Basic/Singapur
-80°C Derin Dondurucu	Nüve /DF 490/Türkiye
Buzdolabı	Altus/AL370/Türkiye
Mikrodalga Fırın	Beko/MD1500/Türkiye
Su Saflaştırma Sistemi	Millipore/Direct-Q3/Almanya
Hassas Otomatik Pipetler	Eppendorf/Almanya
Hassas Terazı	ADAM/NBL 254İ/İngiltere
pH Metre	HANNA/HI2211/İtalya
Manyetik Karıştırıcı	CAT/M13/Almanya
Vorteks	BIOSAN/FV-2400/Letonya

Tablo 3.2. Deneylerde Kullanılan Kimyasal, Çözelti ve Kitler

Kimyasal/Çözelti/Kit	Marka/Tanımlayıcı Kod
Etanol (C ₂ H ₆ O)	Sigma, CAS No: 64-17-5
10X Tris Asetat Tamponu (TAE)	İnvitrogen, Cat No: 15558-026
Etidyum Bromür (C ₂₁ H ₂₀ N ₃ Br)	Sigma, CAS No: 1239-45-8
Agaroz	Sigma, CAS No: 9012-36-6
6X Jel Yükleme Boyası	Vivantis Cat No: NM0410
DNA Ladder (GelPilot 100bp)	Qiagen, Cat No: 239035 Lot No: 142358923
RNA Saflaştırma Kiti (QIAamp RNA	Qiagen, Cat No: 52304 Lot No: 133210822
Blood Mini Kit)	
PZR Kiti (RT ² SYBR Green qPCR	Qiagen, Cat No :330502 Lot No: 76601480
Mastermix)	
cDNA Sentez Kiti (RT ² HT First Strand	Qiagen, Cat No: 330411 Lot No: 76601072
Kit 96)	

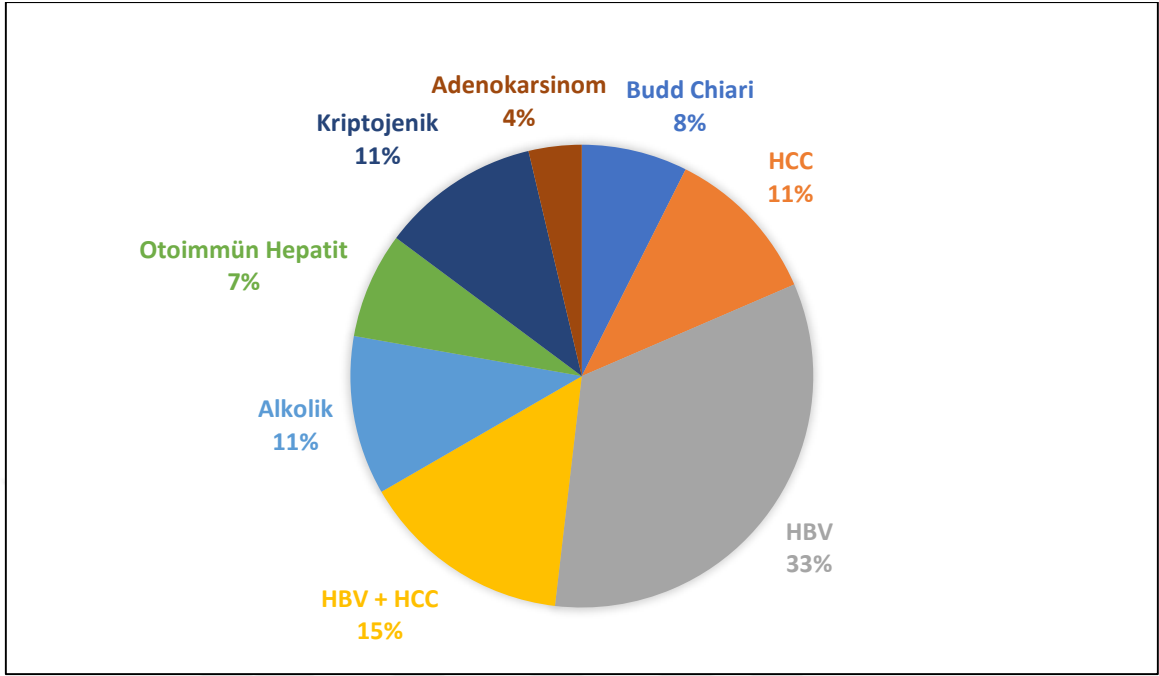
3.2. DeneY Gruplarının Oluşturulması

Bu araştırma için Malatya Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 05/02/2020 tarihli ve 2020/24 protokol no'lu kararı ile etik onay alınmıştır (Ek 1). Araştırmaya 2020 yılında İnönü Üniversitesi Karaciğer Nakli Hastanesine başvuran, çeşitli hastalıklar sebebiyle karaciğer nakli yapılmasına karar verilen 10'u kadın ve 17'si erkek olmak üzere 27 hasta dahil edilmiştir. Sağlıklı kontrol grubu ise herhangi bir hastalığı olmayan 13 kadın ve 14 erkek olmak üzere toplam 27 gönüllüden oluşturulmuştur. Araştırmaya katılan tüm hastalar ve sağlıklı gönüllülere projenin amacı ve uygulanacak testler anlatılarak rızası alınmıştır. Deneye katılacak tüm denekler 18-65 yaş aralığındadır ve nakillerin tamamı canlı vericilerden gerçekleştirilmiştir. Hastaların demografik ve klinik özellikleri Tablo 3.3'te, nakile sebep olan hastalıkların dağılımı ise Şekil 3.1'de özetlenmiştir. Sağlıklı gönüllülerden elde edilen ölçümler "Kontrol" olarak ifade edilmiştir. Hasta grubundan farklı zaman dilimlerinde elde edilen ölçümler ise sırasıyla şu Őekildedir; "Preop" operasyondan önce elde edilen ölçümleri, "Postop I" operasyondan 1 ay sonra elde edilen ölçümleri ve "Postop VI" ise operasyon 6 ay sonra elde edilen ölçümleri ifade etmektedir.

Tablo 3.3. Karaciğer Nakli Hastalarının Demografik ve Klinik Özellikleri

Hastaların Özellikleri	Hasta Sayısı (%)
Cinsiyet	
Erkek	17 (% 63)
Kadın	10 (% 37)
Yaş	
Ortalama \pm SD	50.7 \pm 12.17
Median (Min-Max)	55 (23-67)
Transplantasyon Tipi	
Canlı Donör	27 (%100)
Kadavra	0 (%0)
MELD Skoru	
Ortalama \pm SD	17.73 \pm 4.98
Median (Min-Max)	17 (8.10-28)
Karaciğer Nakline Sebep Olan Hastalık	
HBV	9 (%33)
HBV + HCC	4 (%15)
HCC	3 (%11)
Alkolik Siroz	3 (%11)
Kriptojenik Siroz	3 (%11)
Otoimmün Hepatit	2 (%7.5)
Budd-Chiari Sendromu	2 (%7.5)
Adenokarsinom	1 (%4)

SD: Standard Sapma; Min.: Minimum; Maks.: Maksimum; MELD: Model for end-stage liver disease.



Şekil 3.1. Nakil Hastalarının Hastalık Dağılımlarının Pasta Grafiği

3.3. Karaciğer Transplantasyonu Sonrası Uygulanan İmmün Süpresyon Protokolü

İnönü Üniversitesi Karaciğer Nakli Enstitüsü protokölüne göre karaciğer nakli immünsüpresif tedavisi genellikle greft anastomozu sonrasında intravenöz yolla uygulanan steroidlerle başlamaktadır. Daha sonra operasyon sonrası birinci günden itibaren oral steroid tedavisiyle devam edilmektedir. Bu tedavi operasyondan sonra hastanın durumuna bağlı olarak 3-6 ay arasında devam etmektedir. Operasyon sonrası genellikle üçüncü günden itibaren Mikofenolat mofetil ve takrolimus kullanımına başlanmaktadır. Daha sonra takrolimusun yan etkileri sebebiyle böbrek fonksiyonunda bozulma olması halinde bu hastalarda takrolimus tedavisi azaltılarak veya durdurularak tedaviye everolimus eklenmektedir (186). Hastaların operasyondan sonraki 6 aylık dönemde takrolimus ve everolimus kullanımı hastaların böbrek fonksiyon durumuna göre değişiklik göstermiştir. Hastaların 6 aylık süreçteki takrolimus ve everolimus kullanım durumları Tablo 3.4’te verilmiştir.

Tablo 3.4. Hastaların Operasyon Sonrası 6 Aylık Dönemde Takrolimus ve Everolimus Kullanım Süreleri

Hasta no	1. Ay	2. Ay	3. Ay	4. Ay	5.Ay	6.Ay
1	T	T	T	T	T	T
2	T	T	T	T	T+E	T+E
3	T	T	T	T	T	T
4	T	T	T	T+E	T+E	T+E
5	T	T	T	T	T	T
6	T	T	T	T	T	T
7	T	T	T	T	T	T
8	T	T	T	T	T	T
9	T	T	T	T	T	T
10	T	T+E	T+E	T+E	T+E	T+E
11	T	T+E	T+E	T+E	T+E	T+E
12	T	T+E	T+E	T+E	T+E	T+E
13	T	T	T	T	T	T
14	T	T	T	T	T	T
15	T	T	T	T+E	T+E	T+E
16	T	T	T+E	T+E	T+E	T+E
17	T	T	T	T	T	T
18	T	T	T	T	T	T
19	T	T	T	T	T	T
20	T	T+E	T+E	T+E	T+E	T+E
21	T	T	T+E	T+E	T+E	T+E
22	T	T+E	T+E	T+E	T+E	T+E
23	T	T+E	T+E	T+E	T+E	T+E
24	T	T+E	T+E	T+E	T+E	T+E
25	T	T	T	T	T	T
26	T	T	T	T	T	T
27	T	T	T	T	T	T

T:Takrolimus, E:Everolimus

3.4. Kan Örneklerinin Alınması ve Örneklerin Analizleri

mRNA seviyelerinin tespiti ve biyokimyasal parametrelerin analizleri için sağlıklı kontrol gurubundan ve hastalardan operasyonun hemen öncesinde, operasyondan 1 ay sonra ve operasyondan 6 ay sonra kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri buz üzerinde ve hızlı bir şekilde laboratuvara ulaştırılarak RNA saflaştırma işlemine geçildi. Ayrıca kan örneklerinden elde edilen serumlar ile İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Laboratuvarında biyokimyasal karaciğer parametrelerinin (AST, ALT, AFP, PLT, CRP, Bilirubin D, Bilirubin T) ölçümleri gerçekleştirildi.

3.5. Gen İfadesi Analizleri

3.5.1. RNA Saflaştırma Prosedürü

RNA saflaştırma işlemi hasta ve sağlıklı grup deneklerin kan dokularından QIAamp RNA Blood Mini Kit (Qiagen, Almanya) (Cat. No. 52304) kullanılarak gerçekleştirildi. Saflaştırma işlemleri kit içerisinde yer alan kılavuza sadık kalınarak gerçekleştirildi. Bu protokole göre ilk olarak bir falkon tüpü içerisinde 1 ml kan ve üzerine 5 ml EL tamponu eklendi ve homojen bir görüntü elde edilinceye kadar vorteks yardımı ile karıştırıldı. Elde edilen karışım 10-15 dakika boyunca buz üzerinde inkübe edildi. İnkübasyon tamamlandıktan sonra 12000 rpm +4°C'de 10 dakika santrifüj işlemi uygulandı ve süpernatant uzaklaştırıldı. Alt kısımda kalan lökosit peletinin üzerine tekrar 2ml EL tamponu eklenerek 12000 rpm +4°C'de 10 dakika santrifüj işlemi tekrarlandı ve süpernatant uzaklaştırıldı. Elde edilen lökosit peleti üzerine 600 µl RLT tamponu eklendi ve otomatik pipet yardımı ile karıştırıldı. Elde edilen lizat kit içerisinde yer alan "QIAshredder" spin kolonuna eklendi. Kolon daha sonra 15000 rpm +4°C'de yaklaşık 2 dakika santrifüj edildi, böylece homojenize olan lizat toplama tüpünde toplandı. Homojenizasyon işleminden sonra lizatın üzerine 600 µl %70'lik alkol eklendi ve otomatik pipet yardımı ile karıştırıldı. Elde edilen karışımdan 600 µl kit kolonuna eklendi ve 10000 rpm +4°C'de 15 sn santrifüj edildi. Toplama tüpündeki sıvı döküldü kalan 600 µl numune eklenerek tekrar 10000 rpm +4°C'de 15 sn santrifüj edildi. Toplama tüpü ve içerisindeki sıvı uzaklaştırıldıktan sonra kolon altına yeni bir toplama tüpü yerleştirilerek kolona 700 µl RW1 tamponu eklendi ve 12000 rpm +4°C'de 15 sn santrifüj edildi. Daha sonra kolon

altındaki toplama tüpü tekrar değiştirilerek üzerine 500 µl RPE tamponu eklendi ve 12000 rpm +4°C'de 15 sn santrifüj edildi. Toplama tüpündeki sıvı dökülerek tekrar RPE tamponu eklendi ve 12000 rpm'de 15 sn santrifüj edildi. Toplama tüpü içerisindeki sıvı döküldükten sonra herhangi bir çözelti ekmeden 15000 rpm +4°C'de 200 sn santrifüj edilerek kolon filtresi kurutuldu. Kolon altına temiz steril bir mikrotüp yerleştirildi. Kolona 50µl RNase içermeyen su eklendi ve 10000 rpm +4°C'de 60 sn santrifüj edilerek Total RNA'nın tüpe geçmesi sağlandı. Elde edilen RNA'ların konsantrasyonları belirlendikten sonra, cDNA'da kullanım için buz üstünde bekletildi. Uzun süreli depolama için ise -80°C'ye kaldırıldı.

RNA varlığı ve kalitesi spektrofotometre cihazı ile değerlendirildi. Absorbans değerleri uygun olmayan örneklerin RNA saflaştırma işlemi tekrarlandı. $A_{260/280}$ oranı yaklaşık 2.0-2.3 olan RNA örnekleri cDNA sentezinde kullanıldı.

3.5.2. Komplementer DNA (cDNA) Elde Edilmesi

cDNA elde etmek için RT² HT First Strand Kit (96) (Qiagen, Almanya) (Cat.No.330411) kullanıldı. cDNA elde edilme işlemleri kit içerisinde yer alan protokole uygun olarak kısaca şu şekilde gerçekleştirilmiştir. cDNA eldesi için içerisinde 250 ng total RNA bulunan 8 µl örnek 6 µl GE2 (gDNA eliminasyon tamponu) ile karıştırılarak 5 dakika 37°C ısı bloğunda bekletildikten sonra 6 µl BC4 (Reverse Transkriptaz Karışımı) ile karıştırıldı. Karışım 1000 rpm'de spin edildi ve daha sonra Thermal cycler'da 42°C'de 15 dakika, 95°C'de 5 dakika reaksiyona girmesi sağlandı. Elde edilen cDNA'lar gerçek zamanlı PZR için kullanılana kadar -80 °C'de derin dondurucuda muhafaza edildi.

3.5.3. Gerçek Zamanlı PZR ile Gen İfadesinin Tayini

Bu çalışma için RT² SYBR Green qPCR Mastermix (Qiagen, Almanya) (Cat.No.330502) kiti kullanma kılavuzunda belirtildiği şekilde kullanıldı. 0.2 ml'lik tüpler içerisine 12.5 µl RT² SYBR Green Mastermix, 6.5 µl RNase-free su, 1 µl primer (RT² qPCR Primer Assay), 5 µl cDNA örneği eklenerek karıştırılmıştır ve toplamda her bir örnek için 20 µl PZR karışımı elde edilmiştir. Hazırlanan tüpler PZR cihazına yerleştirilerek 95°C'de 10 dakika (1 döngü), 95°C'de 15 saniye ve 60°C'de 60 saniye (40 döngü) olacak şekilde PZR reaksiyonu tamamlandı. Çalışmada kullanılan *IL-2*, *IL-4*, *IL-6*, *IL-10*, TNF- α ,

IFN- γ , *FOXP3*, *TREM1*, *CD14*, *HLA-G5* ve *GAPDH* genlerine ait primerlerin özellikleri Tablo 3.5’te sunulmuştur.

Tablo 3.5. Kullanılan Primerlerin Özellikleri

Gen	Referans Segment	Referans Pozisyonu	Baz Büyüklüğü (bp)
<i>IL-2</i>	NM_000586.3	489	85
<i>IL-4</i>	NM_000589.3	320	93
<i>IL-6</i>	NM_000600.3	816	98
<i>IL-10</i>	NM_000572.2	168	63
<i>TNF-α</i>	NM_000594.3	749	110
<i>IFN-γ</i>	NM_000619.2	1133	68
<i>FOXP3</i>	NM_014009.3	2191	89
<i>TREM1</i>	NM_018643.3	425	156
<i>CD14</i>	NM_000591.3	463	152
<i>HLA-G5</i>	NM_002127.5	680	384
<i>GAPDH</i>	NM_002046.5	842	130

3.5.4. PZR Ürünlerinin Görüntülenmesi

Her bir gen için 10 μ l PZR ürünü ve DNA markırı (GelPilot 100bp DNA Ladder, Qiagen) 2 μ l 6X yükleme boyası ile karıştırılarak %2’lik agaroz jele yüklendi ve 100 voltta 30 dakika koşturuldu. Daha sonra elde edilen jel, görüntüleme sistemi (KODAK Gel Logic 2200 Imaging System) kullanılarak görüntülendi ve kaydedildi.

3.6. İstatistiksel Analizler

Araştırmanın verileri IBM SPSS istatistik analiz programı 25.0 (Statistical Package for the Social Sciences, Inc, Chicago, IL, USA) kullanılarak analiz edildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testiyle değerlendirildi. Hasta grubunun operasyon öncesi ve sonrasındaki tekrarlanan ölçümlerinden elde verilerin normal dağılım göstermediği belirlendikten sonra aralarındaki farkın değerlendirilmesinde Friedman Testi

kullanıldı. Friedman testi sonucunda anlamlı bulunan sonuçların hangi gruplar arasındaki farktan kaynaklandığını tespit etmek için Wilcoxon Testi kullanılmıştır ve olası alfa hatalarının önüne geçmek amacıyla Bonferroni düzeltmesi uygulanmıştır. Kontrol grubu ile hasta deney grubunun farklı zaman dilimlerindeki ölçümlerden elde edilen verilerin ikili karşılaştırılmalarında Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Genlerin farklı zaman dilimlerinde ki ifade edilme düzeylerinin birbirleri ile korelasyon gösterip göstermediğini belirlemek amacıyla hastaların farklı zaman dilimlerindeki gen ifade değişimlerine Spearman korelasyon analizi uygulanmıştır. p değerinin 0.05'ten küçük olduğu karşılaştırmalar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Parametreler

Hastaların operasyondan önce, operasyondan 1 ay sonra ve operasyondan 6 ay sonra serum ALT, AST, AFP, PLT, CRP, Bilirubin D ve Bilirubin T seviyeleri analiz edilmiştir. Karaciğer nakli öncesi ve karaciğer nakliden 1 ay sonra gerçekleştirilen ölçümlerde ALT, PLT ve CRP seviyelerinin 1. ayda istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde arttığı, AFP Bilirubin D, Bilirubin T ve seviyelerinin ise anlamlı bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir. AST değerinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı tespit edilmiştir. Karaciğer nakli öncesi ve karaciğer nakliden 6 ay sonra gerçekleştirilen ölçümlerde PLT seviyelerinin 6. ayda istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde arttığı; AFP, AST, Bilirubin D ve Bilirubin T seviyelerinin ise anlamlı bir şekilde azaldığı tespit edildi. CRP ve ALT değerlerinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı tespit edildi. Karaciğer naklinden 1 ay sonra ve 6 ay sonra gerçekleştirilen ölçümlerde ALT, CRP, PLT, ve Bilirubin D seviyelerinin 6. ayda istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde azaldığı tespit edildi. AST, AFP ve Bilirubin T değerlerinin 1. ay ve 6. ay ölçümleri arasında herhangi bir anlamlı istatistiksel fark olmadığı tespit edilmiştir.

Tablo 4.1. Nakil Hastalarına Ait Biyokimyasal Parametreler

	Preop	Postop I	Postop VI
ALT (U/L)	45.00 ± 31.73 *	70.19 ± 54.08 #	31.81 ± 23.64
AST (U/L)	63.11 ± 48.56 \$	39.41 ± 26.89	27.63 ± 17.60
AFP (ng/mL)	9.56 ± 12.27*\$	1.94 ± 2.12	5.44 ± 15.02
PLT (K/uL)	104.93 ± 73.11 *\$	232.74 ± 122.48 #	169.85 ± 76.97
CRP (mg/dL)	1.17 ± 1.43*	2.64 ± 2.93 #	0.89 ± 1.54
Bilirubin D (mg/dL)	2.55 ± 2.47*\$	1.26 ± 1.06 #	0.62 ± 0.72
Bilirubin T (mg/dL)	1.65 ± 1.60*\$	0.85 ± 0.83	0.81 ± 0.76

Elde edilen ALT, AST, AFP, PLT, CRP, Bilirubin D ve Bilirubin T verileri ortalama ± standart sapma olarak sunulmuştur. * simgesi Preop grubu ile Postop I grubu arasındaki; \$ simgesi Preop grubu ile Postop VI arasındaki; # simgesi Postop I grubu ile Postop VI grubu arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir (p<0,05).

4.2. Moleküler Genetik Bulgular

4.2.1. RNA Absorbans Ölçümleri

Kan örneklerinden RNA izolasyonu sonrası elde edilen RNA'ların miktarları ve 260/280 nm'deki absorbans değerleri verilmiştir (Tablo 4.2, Tablo 4.3).

Tablo 4.2. Kontrol Grubundan Elde Edilen RNA Miktarları ve Absorbans Değerleri

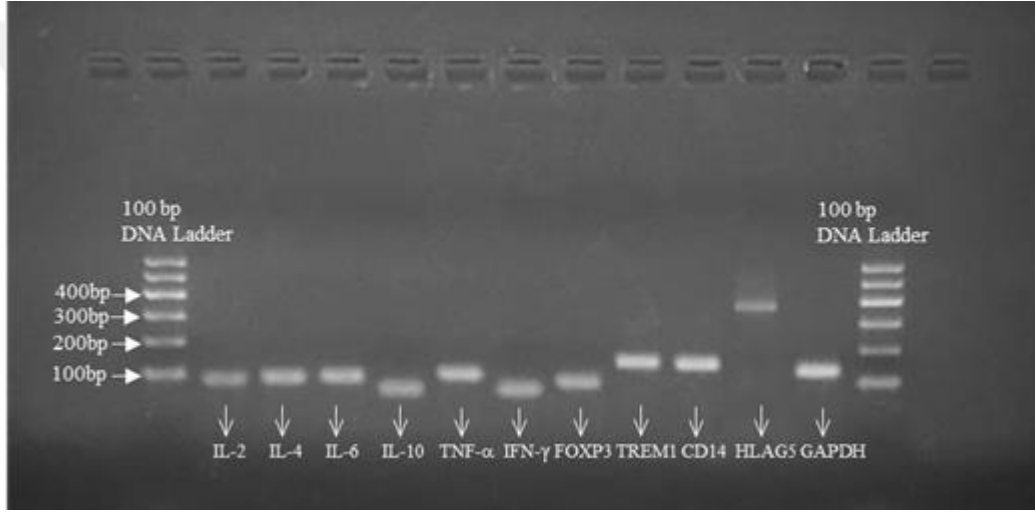
Denek No	RNA ng/ml	260/280(nm)	Denek No	RNA ng/ml	260/280(nm)
1	112.02	2.12	15	103.65	2.20
2	147.06	2.13	16	136.44	2.17
3	60.87	2.18	17	100.31	2.00
4	89.33	2.16	18	69.35	2.05
5	190.17	2.12	19	50.48	2.24
6	90.09	2.14	20	44.23	2.02
7	132.97	2.15	21	122.58	2.13
8	88.22	2.13	22	198.32	2.02
9	125.20	2.12	23	80.21	2.05
10	111.33	2.07	24	66.32	2.20
11	67.48	2.15	25	129.87	2.14
12	106.23	2.21	26	140.23	2.17
13	90.40	2.14	27	97.65	2.18
14	77.22	2.10			

Tablo 4.3. Deney Grubundan Elde Edilen RNA Miktarları ve Absorbans Değerleri.

Hasta No	Preop		Postop-I		Postop-VI	
	RNA ng/ml	260/280	RNA ng/ml	260/280	RNA ng/ml	260/280
1	28.95	2.02	46.53	2.13	97.57	1.94
2	66.73	2.20	58.00	2.16	181.89	2.09
3	66.59	2.11	116.85	2.22	65.43	2.24
4	46.00	2.13	65.14	2.20	90.66	2.19
5	28.48	2.11	63.04	2.11	72.74	2.05
6	80.41	2.22	156.66	2.12	154.88	2.05
7	84.62	2.19	285.59	2.23	255.90	2.14
8	139.00	2.24	127.45	2.05	58.33	2.22
9	31.29	2.03	136.72	2.22	56.00	2.13
10	111.61	2.17	107.52	2.18	104.52	2.14
11	134.59	2.03	271.63	2.09	206.60	2.23
12	112.31	2.05	98.91	2.05	100.17	2.06
13	74.47	2.22	182.79	2.05	114.87	2.10
14	160.35	2.17	123.13	2.10	133.85	2.21
15	85.30	2.06	82.68	2.12	147.24	2.19
16	195.23	2.01	128.66	2.15	167.00	2.02
17	136.47	2.03	149.39	2.00	107.01	2.22
18	131.69	2.17	79.42	2.24	105.63	2.06
19	186.97	2.25	88.71	2.21	77.50	2.18
20	265.50	2.18	177.21	2.01	200.87	2.00
21	136.55	2.01	85.80	2.22	125.99	2.09
22	138.07	2.00	142.50	2.17	140.32	2.15
23	170.20	2.19	96.46	2.01	90.35	2.06
24	135.20	2.15	70.00	2.04	147.30	2.15
25	76.32	2.08	125.00	2.08	152.22	2.20
26	135.20	2.09	190.24	2.02	100.31	2.04
27	101.40	2.01	154.40	2.03	115.70	2.00

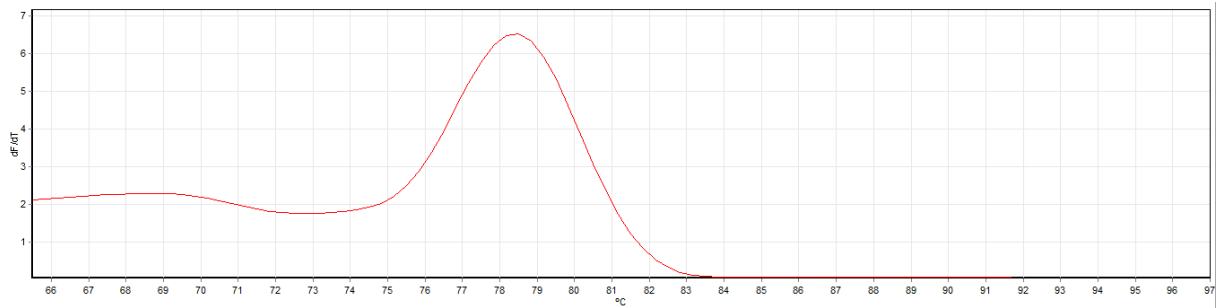
4.2.2. Gerçek Zamanlı PZR ile Gen İfadesi Analizi Bulguları

Elde edilen RNA'lerden cDNA elde edilmiş ve Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu cihazı ile hedef gen bölgeleri çoğaltılarak ifade düzeyleri araştırılmıştır. Hedeflenen gen bölgelerinin doğru biçimde çoğaltıldığını doğrulamak amacıyla her gene ait reaksiyon ürününün varlığı %2'lik agaroz jel elektroforezinde gösterilmiştir (Şekil 4.1) ve ayrıca erime noktası analizleri yapılmıştır (Şekil 4.2-4.12). Her bir primer için elde edilen erime noktası grafiği Şekil 4.2-4.10'da gösterilmiştir.

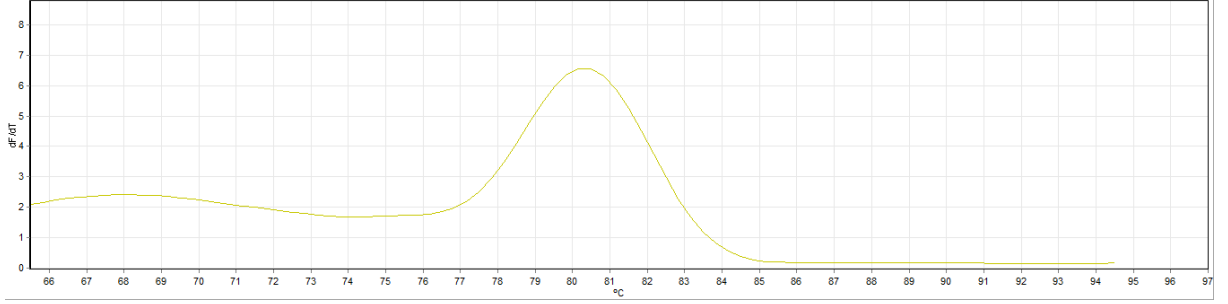


Şekil 4.1. Gerçek Zamanlı PZR Ürünlerinin Jel Elektroforezinde Görüntülenmesi.

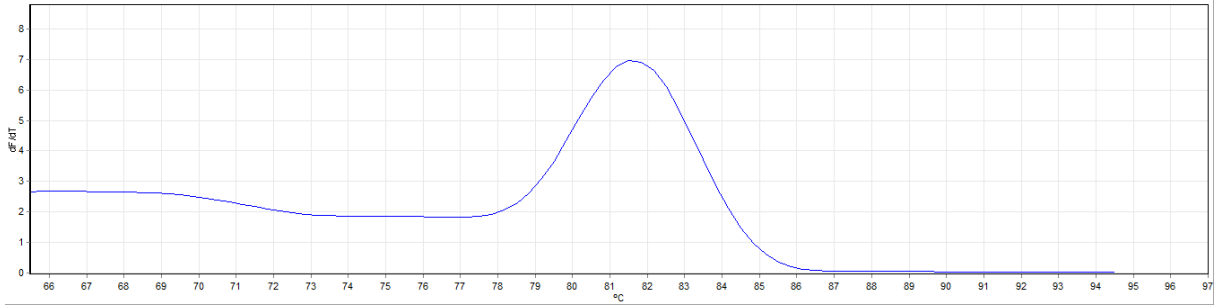
Gerçek Zamanlı PZR sonunda elde edilen ürünlerinin jel görüntüleri gösterilmektedir. PZR ürünlerinin baz büyüklükleri; IL-2 (85bp), IL-4 (93bp), IL-6 (98bp), IL-10 (63bp), TNF- α (110bp), IFN- γ (68bp), FOXP3 (89bp), TREM1 (156bp), CD14 (152bp), HLA-G5(384bp), GAPDH (130bp).



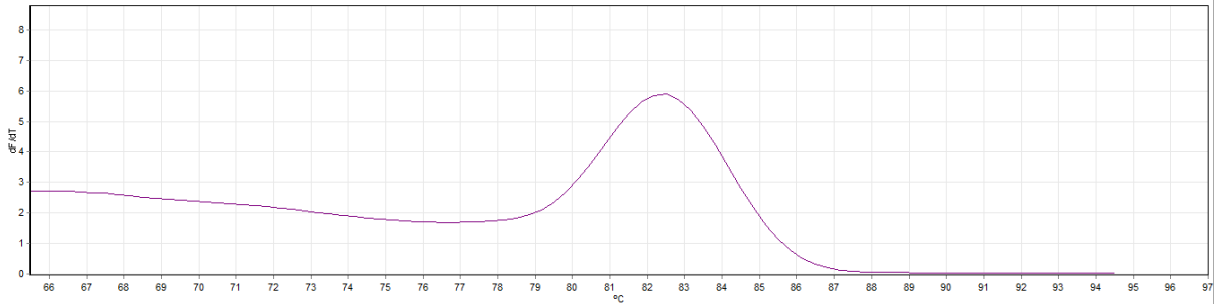
Şekil 4.2. *IL-2* Geninin Erime Noktası Grafiği.



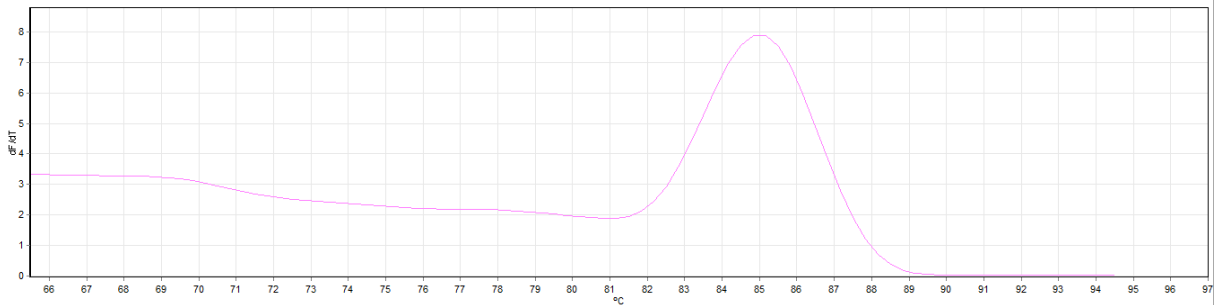
Şekil 4.3. *IL-4* Geninin Erime Noktası Grafiği.



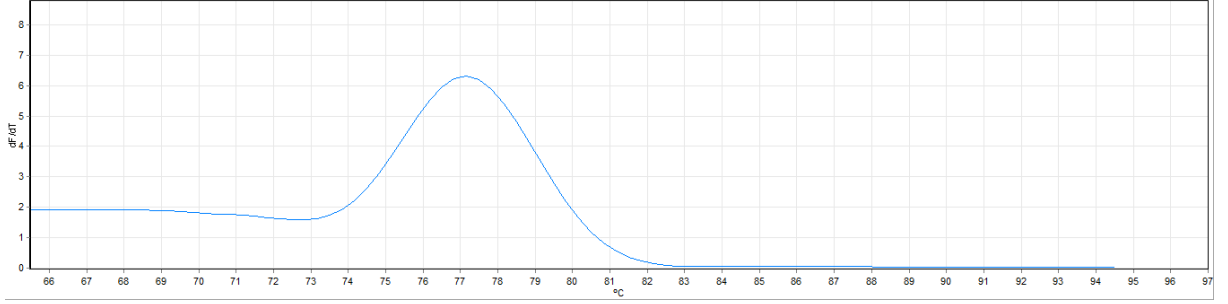
Şekil 4.4. *IL-6* Geninin Erime Noktası Grafiği.



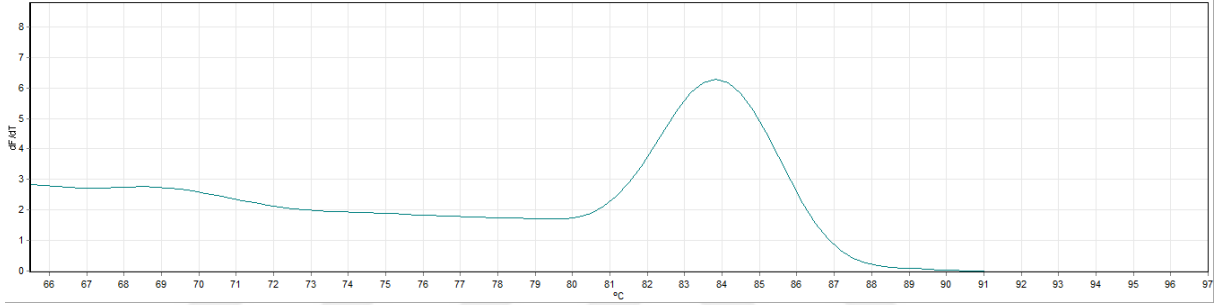
Şekil 4.5. *IL-10* Geninin Erime Noktası Grafiği.



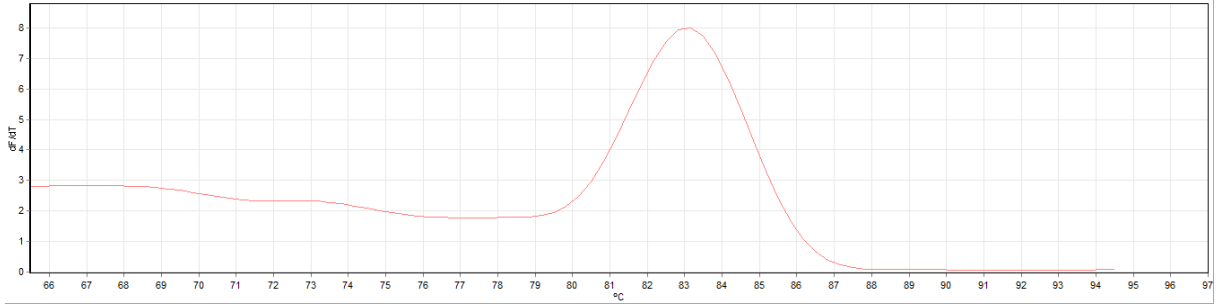
Şekil 4.6. *TNF-α* Geninin Erime Noktası Grafiği.



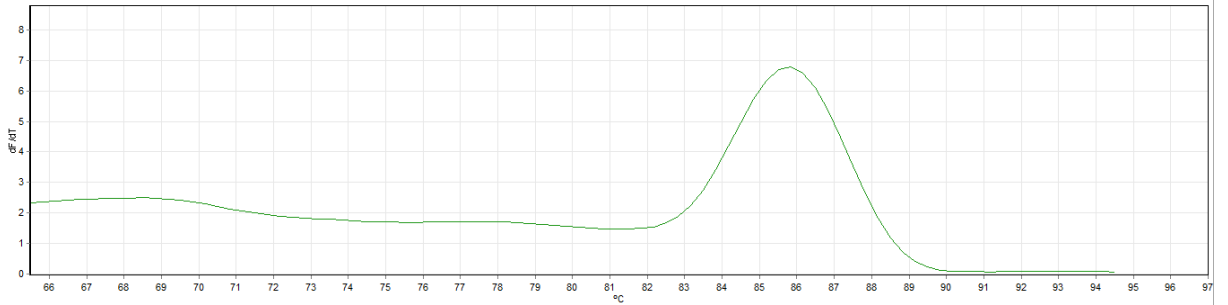
Şekil 4.7. *IFN- γ* Geninin Erime Noktası Grafiği.



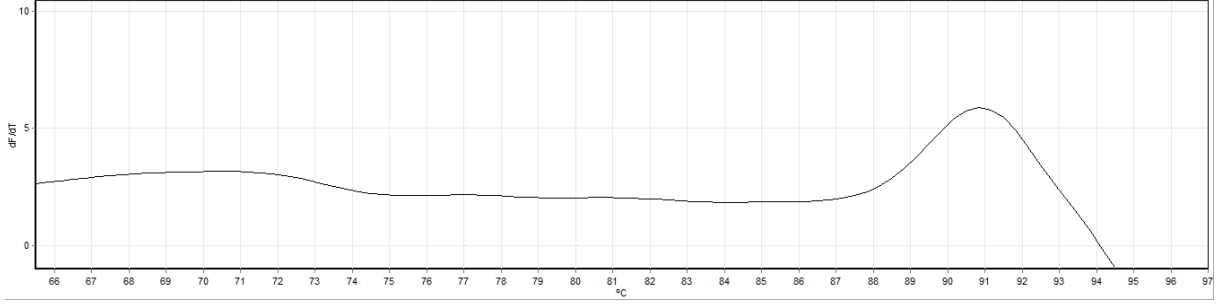
Şekil 4.8. *FOXP3* Geninin Erime Noktası Grafiği.



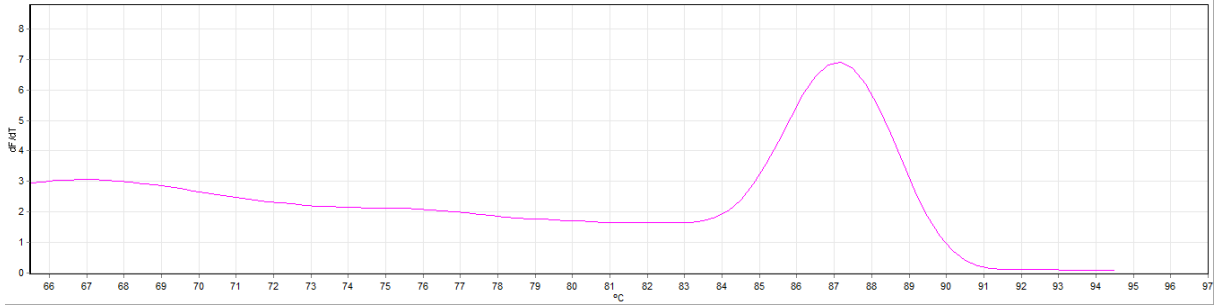
Şekil 4.9. *TREM1* Geninin Erime Noktası Grafiği.



Şekil 4.10. *CD14* Geninin Erime Noktası Grafiği.



Şekil 4.11. *HLA G5* Geninin Erime Noktası Grafiği.



Şekil 4.12. *GAPDH* Geninin Erime Noktası Grafiği.

Gen ifadelerinin hesaplanmasında Livak Metodu olarak da bilinen $2^{-\Delta\Delta CT}$ metodu kullanılmıştır (187). Hesaplamalar kısaca şu şekilde yapılmıştır; öncelikle 3 er tekrarlı olarak çalışılan hedef genler ve house-keeping gen olan *GAPDH* geninin her örnek için ortalama Threshold Cycle (Ct) değerleri hesaplandı. Daha sonra tüm deneklerin hedeflenen Gen Ct değerinden Housekeeping Gen Ct değeri çıkarılarak ΔCt değeri hesaplandı. Bunu takiben deney grubundaki örneklerin ΔCt değerinden kontrol grubunun ΔCt değeri çıkarılarak tüm örneklerin $\Delta\Delta Ct$ değeri hesaplandı. Son olarak ise $2^{-\Delta\Delta CT}$ formülü ile artış miktarı kat değişimi olarak ifade edildi.

4.3. *IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TREM1, TNF- α , IFN- γ , FOXP3, CD14 ve HLA-G5* Genlerinin İfade Edilme Düzeyleri

Sağlıklı gönüllüler ve hasta grubunun operasyondan önce, operasyondan 1 ay sonra ve operasyondan 6 ay sonraki gen ifade düzeyleri istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Sonuç olarak kontrol grubundaki deneklerin *IL-2, IL-4, IL-6, TNF- α , IFN- γ , FOXP3, TREM1, HLA-G5* gen ifade seviyeleri hasta grubun her 3 zaman dilimindeki gen ifade seviyelerine göre yüksek bulunmuştur. *IL-10* ve *CD14* için yapılan karşılaştırmalarda ise sağlıklı grup ve hasta grubun 3 zaman dilimindeki ölçümleri arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 4.13). Hasta grubunun operasyon öncesi, operasyondan 1 ay sonra ve operasyondan 6 ay sonra *IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TREM1, TNF- α , IFN- γ , FOXP3, CD14* ve *HLA-G5* genlerinin periferik kandaki ifade düzeyleri istatistiksel yöntemler kullanılarak değerlendirilmiştir.

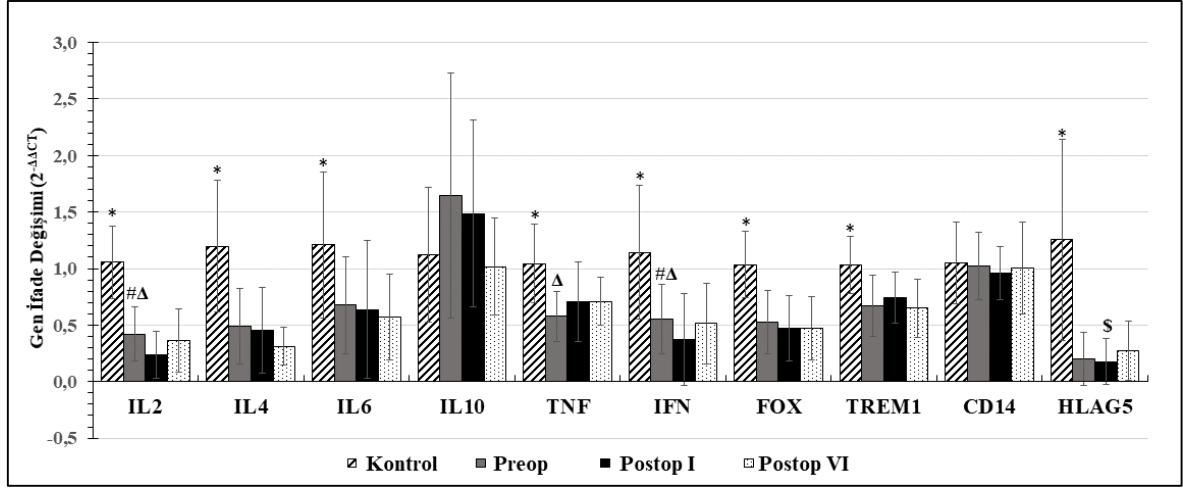
IL-2 geninin ifade edilme düzeyinin operasyondan 1 ay sonra operasyon öncesindeki durumuna göre düşük olduğu tespit edilmiştir ($p>0.05$). Operasyondan 1 ay ve 6 ay sonraki ölçümler karşılaştırıldığı zaman 6. ayda *IL-2* gen ifadesinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p>0.05$). Operasyon öncesi ve operasyondan 6 ay sonraki *IL-2* ölçümleri karşılaştırıldığı zaman istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir.

TNF- α geninin periferik kandaki ifade edilme düzeyinin operasyondan önce ve operasyondan 1 ay sonraki değerleri arasında istatistiksel bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Aynı şekilde operasyondan 1 ay sonra ve operasyondan 6 ay sonraki ölçümler karşılaştırıldığı zaman istatistiksel bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Operasyon öncesi ve operasyondan 6 ay sonraki ölçümler karşılaştırıldığı zaman 6. ayda *TNF- α* gen ifadesinin arttığı tespit edilmiştir ($p>0.05$).

IFN- γ genin periferik kandaki ifade edilme düzeyinin operasyondan 1 ay sonra operasyon öncesindeki durumuna göre düşük olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Operasyondan 1 ay sonra ve operasyondan 6 ay sonraki ölçümler karşılaştırıldığı zaman 6. ayda *IFN- γ* gen ifadesinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Operasyon öncesi ve operasyondan 6 ay sonraki ölçümler karşılaştırıldığı zaman istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir.

HLA-G5 geninin periferik kandaki ifade edilme düzeyinin operasyondan önce ve operasyondan 1 ay sonraki değerleri arasında istatistiksel bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Operasyondan 1 ay sonra ve operasyondan 6 ay sonraki ölçümler karşılaştırıldığı zaman *HLA-G5* gen ifadesinin 6. ayda daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p>0.05$). Operasyon öncesi ve operasyondan 6 ay sonraki ölçümler karşılaştırıldığı zaman istatistiksel bir fark olmadığı tespit edilmiştir.

İstatistiksel analizler sonucunda *IL-4*, *IL-6*, *IL-10*, *CD14*, *TREM1*, *FOXP3* genlerinin 3 zaman diliminde ölçülen gen ifade seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir değişiklik olmadığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.13. Gen İfade Edilme Düzeyleri

* simgesi kontrol grubunun diğer tüm gruplardan farklı olduğunu gösterir, # simgesi Preop grubunun Postop I grubundan farklı olduğunu gösterir; Δ simgesi Preop grubunun, Postop VI grubundan farklı olduğunu gösterir; \$ simgesi Postop I grubunun Postop VI grubundan farklı olduğunu gösterir.

Tablo 4.4. Gen İfadesi Ortalama Değerleri

	Kontrol	Preop	Postop I	Postop VI
IL-2	1.055±0.32	0.422±0.24	0.241±0.21	0.363±0.28
IL-4	1.199±0.58	0.489±0.34	0.455±0.38	0.314±0.17
IL-6	1.210±0.65	0.678±0.43	0.637±0.61	0.571±0.38
IL-10	1.124±0.60	1.645±1.08	1.486±0.82	1.014±0.43
TNF-α	1.043±0.35	0.580±0.22	0.706±0.35	0.711±0.21
IFN-γ	1.144±0.59	0.553±0.31	0.376±0.41	0.514±0.36
FOXP3	1.034±0.29	0.528±0.28	0.469±0.29	0.470±0.28
TREMI	1.031±0.25	0.669±0.27	0.744±0.22	0.649±0.26
CD14	1.049±0.36	1.025±0.30	0.962±0.23	1.005±0.41
HLA-G5	1.254±0.89	0.205±0.23	0.177±0.20	0.274±0.26

Tablo 4.5. Gen İfadesi Kat Değişimleri

Gen	Preop ile Postop I verilerinin kıyaslanması ile elde edilen kat değişimleri	Preop ile Postop VI verilerinin kıyaslanması ile elde edilen kat değişimleri	Postop I ile Postop VI verilerinin kıyaslanması ile elde edilen kat değişimleri
IL-2	x0.57↓ (p=0.001)	x0.86	1.51↑ p= 0.041
IL-4	x0.93	x0.64	x0.69
IL-6	x0.94	x0.84	x0,90
IL-10	x0.90	x0.62	x0.68
TNF-α	x1.21	x1.22↑ (p=0.015)	x1.0
IFN-γ	x0.67↓ (p=0.026)	x0.93	1.37↑ p=0.010
FOXP3	x0.89	x0.89	x1.0
TREMI	x1.11	x0.97	x0.84
CD14	x0.94	x0.98	x1.04
HLA-G5	x0.86	x1.33	x1.55↑ p=0.007

Tabloda gen ifadelerinin kat değişimleri gösterilmektedir. ↑ sembolü ve yeşil renk ile gösterilen kat değişimleri gen ifadesindeki istatistiksel olarak anlamlı bir artışı, ↓ sembolü ve kırmızı renk ile gösterilen kat değişimleri gen ifadesindeki istatistiksel olarak anlamlı düşüşleri göstermektedir. p<0.05 istatistiksel anlamlılığı ifade etmektedir.

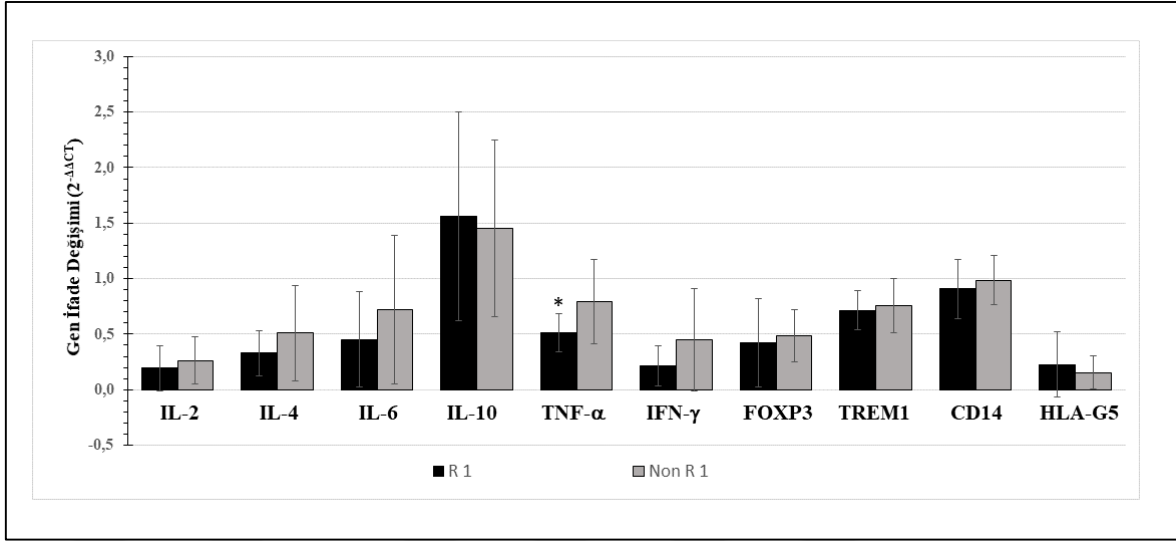
4.4. Rejeksiyon Gerçekleşen ve Gerçekleşmeyen Hastaların Gen İfadeleri Karşılaştırmaları

Operasyondan sonraki 2 yıllık süreçte rejeksiyon gözlenen 8 ve rejeksiyon gözlenmeyen 19 nakil hastasının operasyondan sonraki 1. ve 6. Aydaki gen ifadesi değerleri karşılaştırılmıştır. Operasyondan 1 ve 6 ay sonraki gen ifadesi ölçümleri karşılaştırıldığı zaman sadece operasyondan 1 ay sonraki ölçümlerde TNF- α geninin rejeksiyon gelişen hastalarda rejeksiyon gözlenmeyen hastalara göre anlamlı şekilde daha düşük olduğu tespit edilmiştir. (Şekil 4.14-4.15)

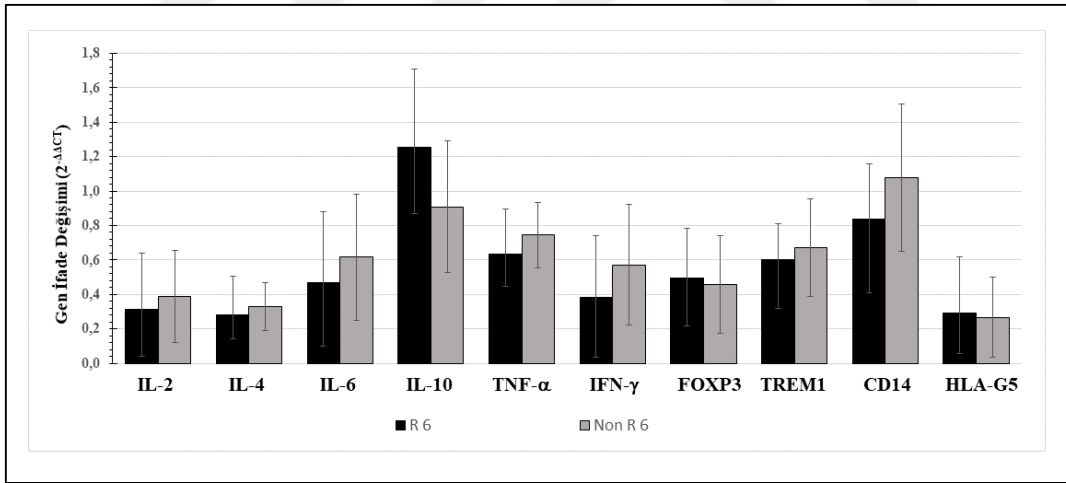
Tablo 4.6. Rejeksiyon Gözlenen ve Gözlenmeyen Hastaların Gen Ortalama Değerleri

	R1 (Ort.±SS)	NonR1(Ort.±SS)	R6 (Ort.±SS)	NonR6 (Ort.±SS)
IL-2	0.192±0.20	0.262±0.21	0.311±0.33	0.387±0.27
IL-4	0.329±0.20	0.511±0.43	0.282±0.22	0.328±0.14
IL-6	0.453±0.43	0.718±0.67	0.468±0.41	0.617±0.37
IL-10	1.559±0.94	1.453±0.79	1.252±0.46	0.908±0.38
TNF-α	0.514±0.17*	0.792±0.38	0.636±0.26	0.745±0.19
IFN-γ	0.214±0.18	0.448±0.46	0.384±0.35	0.571±0.35
FOXP3	0.426±0.40	0.488±0.24	0.497±0.29	0.458±0.28
TREM1	0.714±0.18	0.758±0.25	0.601±0.21	0.670±0.28
CD14	0.908±0.27	0.986±0.22	0.837±0.32	1.079±0.43
HLA-G5	0.228±0.29	0.154±0.15	0.291±0.33	0.266±0.23

Tablo rejeksiyon gözlenen ve rejeksiyon gözlenmeyen hastalara ait ortalama \pm standart sapma ($2^{-\Delta\Delta C_t}$) değerlerini göstermektedir. R1: Rejeksiyon gözlenen hastaların operasyondan 1 ay sonra ölçülen ortalama gen ifade seviyeleri; NonR1: Rejeksiyon gözlenmeyen hastaların operasyondan 1 ay sonra ölçülen ortalama gen ifade seviyeleri, R6: Rejeksiyon gözlenen hastaların operasyondan 6 ay sonra ölçülen ortalama gen ifade seviyeleri, NonR6: Rejeksiyon gözlenmeyen hastaların operasyondan 6 ay sonra ölçülen ortalama gen ifade seviyeleri.



Şekil 4.14. Rejeksiyon Gözlenen ve Gözlenmeyen Hastaların Operasyondan 1 Ay Sonrasında Ölçülen Gen İfade Seviyelerinin Karşılaştırmaları



Şekil 4.15. Rejeksiyon Gözlenen ve Gözlenmeyen Hastaların Operasyondan 6 Ay Sonrasında Ölçülen Gen İfade Seviyelerinin Karşılaştırmaları

4.5. Gen İfade Değişimlerinin Korelasyonları

Hasta grubunun farklı zaman dilimlerindeki gen ifadesi değişikliklerinin genler arasındaki korelasyon durumları tespit edilmiştir. Korelasyonları tespit etmek amacıyla hastaların operasyon öncesi ve sonrası gen ifadesi değerlerinin farkı elde edilerek Spearman korelasyon analizine tabi tutulmuştur. Korelasyon durumları Tablo 4.5-4.7’de özetlenmiştir.

Tablo 4.7. Operasyondan Önce ve Operasyondan 1 Ay Sonraki Gen İfade Değişimlerinin Korelasyonu.

		IL2	IL4	IL6	IL10	TNF-α	IFN-γ	FOX	TREM1	CD14	HLA-G5
IL2	K.K.	1.000									
	p değeri	----									
IL4	K.K.	0.554**	1.000								
	p değeri	0.003	----								
IL6	K.K.	0.546**	.510**	1.000							
	p değeri	0.004	0.008	----							
IL10	K.K.	-0.040	0.036	-0.189	1.000						
	p değeri	0.846	0.862	0.355	----						
TNF-α	K.K.	0.320	0.147	.567**	-0.169	1.000					
	p değeri	0.111	0.475	0.003	0.409	----					
IFN-γ	K.K.	0.806**	0.608**	.496**	-0.236	0.259	1.000				
	p değeri	0.000	0.001	0.010	0.247	0.202	----				
FOXP3	K.K.	0.726**	0.499**	0.655**	-0.034	0.545**	0.619**	1.000			
	p değeri	0.000	0.009	0.000	0.870	0.004	0.001	----			
TREM1	K.K.	0.067	0.359	-0.054	0.115	0.104	0.123	0.312	1.000		
	p değeri	0.746	0.071	0.792	0.575	0.612	0.548	0.121	----		
CD14	K.K.	0.160	0.193	0.325	0.501**	0.380	-0.060	0.356	-0.015	1.000	
	p değeri	0.434	0.344	0.105	0.009	0.056	0.772	0.074	0.943	----	
HLA-G5	K.K.	0.262	0.295	0.230	0.156	0.175	0.015	0.391*	0.264	0.377	1.000
	p değeri	0.196	0.143	0.258	0.446	0.393	0.941	0.048	0.193	0.058	----

K.K.; Korelasyon kat sayısı, * Korelasyon 0.05 düzeyinde anlamlıdır, ** Korelasyon 0.01 düzeyinde anlamlıdır. $p < 0.05$ istatistiki olarak anlamlılığı ifade etmektedir.

Tablo 4.8. Operasyondan Önce ve Operasyondan 6 Ay Sonraki Gen İfade Değişimlerinin Korelasyonu.

		IL2	IL4	IL6	IL10	TNF	IFN	FOX	TREM1	CD14	HLA5
IL2	K.K	1.000									
	p değeri										
IL4	K.K	0.034	1.000								
	p değeri	0.870									
IL6	K.K	0.645**	0.406*	1.000							
	p değeri	0.000	0.039								
IL10	K.K	-0.287	0.161	-0.166	1.000						
	p değeri	0.155	0.432	0.418							
TNF-α	K.K	0.353	0.312	0.525**	0.352	1.000					
	p değeri	0.077	0.121	0.006	0.077						
IFN-γ	K.K	0.670**	0.223	0.657**	-0.336	0.389*	1.000				
	p değeri	0.000	0.274	0.000	0.093	0.050					
FOXP3	K.K	0.550**	0.322	0.742**	-0.229	0.445*	0.530**	1.000			
	p değeri	0.004	0.108	0.000	0.261	0.023	0.005				
TREM1	K.K	-0.069	0.369	0.076	0.219	0.075	0.207	0.231	1.000		
	p değeri	0.736	0.064	0.711	0.282	0.716	0.311	0.257			
CD14	K.K	-0.150	0.469*	0.104	0.467*	0.296	-0.166	-0.045	0.000	1.000	
	p değeri	0.464	0.016	0.615	0.016	0.141	0.416	0.828	0.999		
HLA5	K.K	0.166	0.225	0.340	-0.015	0.411*	0.063	0.482*	0.003	0.110	1.000
	p değeri	0.418	0.268	0.089	0.941	0.037	0.761	0.013	0.988	0.594	

K.K.;Korelasyon kat sayısı, * Korelasyon 0.05 düzeyinde anlamlıdır, ** Korelasyon 0.01 düzeyinde anlamlıdır. p<0.05 istatistiki olarak anlamlılığı ifade etmektedir.

Tablo 4.9. Operasyondan 1 Ay Sonra ve Operasyondan 6 Ay Sonraki Gen İfade Değişimlerinin Korelasyonu.

		IL2	IL4	IL6	IL10	TNF	IFN	FOX	TREM1	CD14	HLA5
IL2	K.K	1.000									
	p değeri										
IL4	K.K	0.034	1.000								
	p değeri	0.870									
IL6	K.K	0.645**	0.406*	1.000							
	p değeri	0.000	0.039								
IL10	K.K	-0.287	0.161	-0.166	1.000						
	p değeri	0.155	0.432	0.418							
TNF-α	K.K	0.353	0.312	0.525**	0.352	1.000					
	p değeri	0.077	0.121	0.006	0.077						
IFN-γ	K.K	0.670**	0.223	0.657**	-0.336	0.389*	1.000				
	p değeri	0.000	0.274	0.000	0.093	0.050					
FOXP3	K.K	0.550**	0.322	0.742**	-0.229	0.445*	0.530**	1.000			
	p değeri	0.004	0.108	0.000	0.261	0.023	0.005				
TREM1	K.K	-0.069	0.369	0.076	0.219	0.075	0.207	0.231	1.000		
	p değeri	0.736	0.064	0.711	0.282	0.716	0.311	0.257			
CD14	K.K	-0.150	0.469*	0.104	0.467*	0.296	-0.166	-0.045	0.000	1.000	
	p değeri	0.464	0.016	0.615	0.016	0.141	0.416	0.828	0.999		
HLA5	K.K	0.166	0.225	0.340	-0.015	0.411*	0.063	0.482*	0.003	0.110	1.000
	p değeri	0.418	0.268	0.089	0.941	0.037	0.761	0.013	0.988	0.594	

K.K.;Korelasyon kat sayısı, * Korelasyon 0.05 düzeyinde anlamlıdır, ** Korelasyon 0.01 düzeyinde anlamlıdır. $p < 0.05$ istatistiki olarak anlamlılığı ifade etmektedir.

IL-2 ve IFN- γ genlerinin tüm zaman dilimlerindeki ifade değişiklikleri korele olarak gerçekleşmiştir. Transplantasyondan önce ve 6 ay sonraki gen ifadesi değişimleri incelendiği zaman IL-2, IFN- γ ve HLA-G5 ifade değişimleri korelasyon göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Günümüzde immünsüpresif protokollerin gelişimiyle birlikte başarılı karaciğer nakillerinin sayısı oldukça artmıştır, ancak transplantasyon sonrasında inflamasyon, rejeksiyon, rejenerasyon ve immünsüpresyon tedavisi gibi durumların takibinde yararlı olabilecek biyobelirteçler hala aranmaktadır. Araştırmamızda 27 gönüllü ve 27 karaciğer transplantasyonu hastasından periferik kan örnekleri toplanmıştır. Hastalardan operasyondan önce, operasyondan 1 ay sonra ve 6 ay sonra olmak üzere üç farklı zaman diliminde kan örnekleri toplanmıştır. Elde edilen kan örneklerinden gerçek zamanlı PZR yöntemi ile immünolojik süreçlerin düzenlenmesinde etkin ve biyobelirteç olma potansiyeline sahip inflamatuvar (*IL-2, IL-6, IFN- γ , TNF- α*) sitokinler, anti-inflamatuvar (*IL-4, IL-10*) sitokinler, *FOXP3, TREM1, HLA-G5* ve *CD14* genlerinin ifade edilme düzeyleri araştırılmıştır. Bunun yanı sıra ALT, AST, AFP, PLT CRP, Bilirubin D ve Bilirubin T gibi biyokimyasal karaciğer parametrelerinin düzeyleri de ölçülmüştür.

Karaciğer nakil hastalarının takibinde serum ALT ve AST düzeylerinin ölçümü rutin olarak kullanılmaktadır (188). Elde ettiğimiz verilere göre karaciğer nakil hastalarının ortalama ALT düzeyi operasyondan 1 ay sonra operasyondan önceki durumuna göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde daha yüksek bulunmuştur, ancak operasyondan 6 ay sonra yaklaşık olarak operasyon öncesi seviyelerine dönmüştür. Hastalardan elde ettiğimiz AST verileri incelendiği zaman ortalama AST değerlerinin operasyon öncesi dönemde laboratuvarımızın standart sağlıklı aralığı olan 5-34 U/L seviyesinden yüksek olduğu bulunmuştur. Ancak ortalama AST değerleri operasyondan bir ay sonra normal değere yaklaşmış ve operasyondan 6 ay sonra sağlıklı değer aralığına gerilemiştir. İstatistiksel olarak yaptığımız incelemeler sonucunda ortalama AST değerlerinin operasyondan 6 ay sonraki dönemde operasyon öncesine göre anlamlı bir biçimde daha düşük olduğu tespit edilmiştir. İzlenen bu düşüş operasyondan sonraki dönemde uygulanan tedaviler ve karaciğer durumunun giderek sağlıklı bir hale geldiğini gösterebilir.

Nakil sonrası ALT ve AST ölçümlerinin karaciğerin genel durumunun yanı sıra rejeksiyon veya komplikasyon belirteci olarak da kullanılabilceğini belirten araştırmalar mevcuttur. Young ve ark. (189) yaptıkları araştırmada nakil sonrası biliyer darlık ve greft rejeksiyonu gözlenen 74 hastada ALT ve AST seviyelerinin nakil sonrası komplikasyonların

teşhisine kadar sürekli artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Araştırmamızda nakilden 1 ay sonra ALT'nin yükseldiği tespit edilmiştir ve 6. ayda ALT seviyesi normal seviyelere kadar tekrar düşüş göstermiştir. Bizim araştırmamızda ortalama ALT seviyelerindeki artışın 1. aydan sonra devam etmemesi ve 6 aylık süreçte rejeksiyon geçiren 3 hastayı çalışmadan çıkardığımızda ALT seviyesinde yine bir değişim görülmemiştir. Bu durum 1. aydaki bu yükselmenin sebebinin karaciğer kaynaklı olmayabileceğini göstermektedir. Karaciğer transplantasyonundan sonra, serum aminotransferaz seviyelerindeki yükselme potansiyel karaciğer hasarının bir göstergesi olabilir ancak aynı zamanda karaciğer hasarına özgü olmayabileceği de belirtilmektedir. Karaciğer transplantasyonu hastalarının sürekli olarak immünsüpresif ve diğer tipteki ilaçlara maruz kalması, tiroid bozuklukları ve kemik kaybı gibi faktörler ALT ve AST'nin karaciğerden kaynaklanmayan hafif yükselmelerine yol açabilir. Bu yüzden hastanın karaciğer fonksiyonları yorumlanırken bu gibi durumların olabileceği göz önünde bulundurularak serum aminotransferaz seviyelerindeki hafif yükselmeler gözden kaçırılmamalı ve nedenleri araştırılmalıdır (190). Sonuç olarak tüm karaciğer nakli hastalarında operasyonel, postoperatif girişimler ve ilaç tedavileri nedeniyle ilk bir aylık süreçte ALT'nin yükselmesi normal bir durum olarak gözlenebilir, ancak bu yükselmenin sürekli olarak devam etmesi ve şiddetlenmesi bir komplikasyon ve rejeksiyon durumunu düşündürülebilir.

AFP fetal yaşamda önce yolk kesesi, yetişkin dönemde ise karaciğer tarafından sentezlenmektedir. İlk trimesterin sonunda fetal karaciğer AFP'nin neredeyse tamamını üretmektedir. Doğumdan kısa bir süre sonra sentez önemli ölçüde azalmasına rağmen, yetişkin dönemde küçük miktarlarda AFP üretilmeye devam eder. AFP özellikle karaciğer transplantasyonu sonrasında fulminan viral hepatit veya kronik viral hepatitte, karaciğer hasarı veya rejenerasyonu vakalarında, hepatoblastoma ve HCC vakalarında geçici olarak artabilmektedir (191). Bizim araştırmamızda hasta grubunun ortalama AFP seviyeleri laboratuvar standartlarımıza göre (0-9 ng/ml) operasyondan önce yüksekti (9.56 ng/ml), ancak operasyondan 1 ay sonra AFP seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı biçimde düşüş göstererek normal aralığında ölçüldü. 1. aydan 6. aya gelindiğinde hastaların ortalama AFP değerleri bir miktar yükseldi bu yükselme istatistiksel olarak anlamlı değildi ve AFP normal değerler aralığındaydı. Bu konuyla ilgili olarak Tae ve ark. (192) karaciğer nakil hastalarının operasyondan sonra AFP düzeyindeki düşüşü daha iyi nüksüz sağkalım ile

ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da Tae ve ark. çalışmasına paralel bir şekilde karaciğer transplantasyonu hastalarında operasyondan sonra AFP seviyelerindeki istatistiki olarak anlamlı azalışın operasyondan sonra hastaların karaciğer fonksiyonlarında iyileşmeye yönelik eğilimlerin gerçekleştiğini düşünebiliriz.

Karaciğer naklinden sonra hastanın karaciğer fonksiyonlarının izlenebilmesi açısından PLT düzeyindeki artış veya azalışların takip edilmesi oldukça önemlidir. Trombositopeni postoperatif dönemde postoperatif kanama, beyin kanaması ve enfeksiyon gibi katastrofik olaylara yol açarak greft yetmezliği ve mortaliteye sebep olabilir (193). Operasyon öncesinde hasta grubumuzun büyük bir bölümünde PLT değerleri laboratuvarımızın normal standart değerlerinin altındaydı. Bu durum mevcut karaciğer hastalıklarına bağlı olarak gelişmiş olabilir, ancak operasyondan sonraki 1. ve 6. aylarda PLT değerinin operasyon öncesi döneme göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artarak normal değerlerine geldiği gözlemlenmiştir. Trombositopeni genellikle nakilden hemen sonra görülebilmektedir. Nakilden sonra trombosit sayısı azalmaya başlar ve trombosit sayısında ortalama %60 azalma ile postoperatif 3-5 günlerde en düşük seviyeye ulaşılır. Trombosit sayısı nakilden yaklaşık iki hafta sonra operasyon öncesi seviyelere geri döner (194). PLT düzeyini azaltan mekanizmalar arasında trombosit üretiminin azalması, trombosit tüketiminin artması, karaciğer greftinde sekestrasyon, ilaç veya bu işlemlerin bir kombinasyonu yer alabilir. Bununla birlikte, kesin mekanizması hala bilinmemektedir. Nakil sonrası görülen trombositoz vakalarının çoğunda ise kronik inflamasyon, malignite, enfeksiyon veya doku hasarı gibi nedenlerin sonucunda oluşabildiği belirtilmiştir (195-197). Avnish ve ark. (198) karaciğer transplantasyonu hastaları ile yaptıkları bir çalışmada operasyondan sonraki 1-8 hafta arasında hastalarda trombositoz saptamışlardır. Nakil sonrası görülen trombositozun kronik inflamasyon, malignite, enfeksiyon ve kanama ile ilişkilendirmişlerdir. Bizim çalışmamızda operasyon sonrası birinci aydan 6. aya gelindiğinde ortalama PLT düzeyi bir miktar düşüş göstermiştir. Bu durum immünsüpresyon tedavisinden kaynaklanan enfeksiyonlar, malignite veya klinik inflamasyonla ilişkilendirilebilir ancak hastaların ortalama PLT değerleri yine de normal değerler aralığındadır.

CRP ölçümü çeşitli inflamatuvar durumları izlemek için yaygın olarak kullanılmaktadır (199). CRP esas olarak hepatositler tarafından üretilir, ancak Kupffer

hücreleri, monositler ve lenfositler tarafından da üretilebilmektedir (200). CRP'nin nakil sonrası ölçümünün bir takım klinik yararlar sağlayabileceği düşünülmektedir. Bu konu üzerine bir takım araştırmalar yapılmıştır örneğin Hani ve ark. (201) nakil sonrası 3, 5 ve 10. günlerde görülen CRP yüksekliğinin erken dönemdeki greft reddi ile ilişkili olabileceğini söylemişlerdir. Ho Jung ve ark. (202) HCC hastalarında nakil sonrası sistemik inflamasyona yanıt olarak hepatositlerden sentezlenen CRP'nin enfeksiyon ve inflamasyonu saptamak için yararlı ve uygun maliyetli bir biyobelirteç olabileceğini öngörmüşlerdir. Yüksek CRP seviyesinin tümör agresifliğini, artmış enfeksiyonu ve zayıf karaciğer fonksiyonunu temsil edebileceğini vurgulamışlardır. Bizim çalışmamızda hastaların ortalama CRP düzeylerinin operasyondan 1 ay sonra operasyon öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde arttığını ancak altı ay sonra ortalama CRP seviyelerinin nakil öncesi değerlere gerilediğini gözlemledik. CRP düzeyinin birinci ayda ölçülen yüksek değerlerinin enfeksiyon kaynaklı olduğu düşünülebilir, ancak bu süreçteki enfeksiyon geçiren hastaları değerlendirmeden çıkardığımız zaman yine de CRP'nin operasyondan 1 ay sonra ölçülen değerinin operasyon öncesi değere ve 6. aydaki değerine göre yüksek olduğunu tespit ettik. Bu durumun karaciğerde operasyon sebebiyle oluşan bir travmadan kaynaklanmış olabileceğini düşünmekteyiz. Bu veriler ışığında CRP'nin nakil sonrası immün sistemin verdiği tepkiyi ölçmek adına takibi gereken önemli bir biyobelirteç olduğunu söyleyebiliriz. (Hastaların geçirmiş olduğu enfeksiyonlar Ek-3'te gösterilmiştir.)

Bilirubin kolestaz ve karaciğer fonksiyon bozukluğunun bir belirteci olarak kullanılmaktadır. Bilirubin bir hastanın karaciğer nakli beklerken kısa süreli sağkalımını tahmin etmek için yaygın olarak kullanılan MELD skorunu hesaplamak için kullanılan 3 değişkenden biridir. Bilirubin operasyondan sonraki ilk bir hafta içinde yükselip pik noktasına ulaştığı ve nakilden sonraki bir aylık süreçte normal seviyelere döndüğü rapor edilmiştir (203). Nakil sonrasında bilirubin seviyelerinin ölçümünün nakil hastalarının klinik durumları hakkında önemli bilgiler verebileceği düşünülmektedir. Bizim araştırmamızda hastaların ortalama Bilirubin D ve Bilirubin T seviyeleri operasyon öncesi dönemde normal değerlerin üstünde yüksek olarak ölçülmüştür, ancak 1. aya gelindiğinde bilirubin seviyeleri normal değerlere gerilemiştir ve 6. ayda da normal değerler aralığındadır.

Son yıllarda immünsüpresif protokollerin gelişimi ile başta karaciğer olmak üzere birçok solid organ transplantasyonunda artış meydana gelmiştir. Bu durum transplantasyon sonrası dönemde uygulanacak immünsüpresiflerin maliyetli olması, rejeksiyon, enfeksiyonlar gibi bazı problemleri de beraberinde getirmiştir. Bu nedenle transplantasyon sonrası bireysel tedavi yaklaşımlarına ilgi artmıştır. Uygulanacak immünsüpresif miktarı ve çeşidinin tayini, tedavinin etkinliğinin belirlenebilmesi, inflamasyon, greft reddi, rejenerasyon gibi durumların takip edilebilmesi için karaciğer transplantasyonu sonrası immünolojik sistemin verdiği tepkiyi spesifik olarak ölçebilecek biyobelirteç adaylarına olan ilgi artmaktadır. Bu biyobelirteçler; biyopsi gereksiniminin azaltılması, immünolojik komplikasyon riski düşük olan hastalarda gereksiz yere yüksek immünosüpresyon seviyesinden kaçınılması, rejeksiyonun daha erken saptanabilmesi gibi faydaları ile transplantasyon hastalarının yaşam kalitesini artıracaktır. Araştırmamızda transplantasyon öncesi ve sonrası immünolojik süreçlerin düzenlenmesinde ve takip edilmesinde etkin ve biyobelirteç olma potansiyeline sahip *IL-2*, *IL-4*, *IL-6*, *IL-10*, *CD14*, *TREM1*, *TNF- α* , *IFN- γ* , *FOXP3* ve *HLA-G5* genlerinin periferik kandaki mRNA miktarları ölçülerek immün sistemin cevabı hakkında literatüre katkı sağlaması ve söz konusu aday biyobelirteçlerin değerini göstermek amaçlanmıştır. Günümüzde birçok nakil merkezi immünsüpresif tedavinin takibiyle ilgili olarak vücuttaki immünsüpresif konsantrasyonlarını ölçerek doz ayarlama yoluna gitmektedir. Ancak immün sistemin esas yönlendiricileri olan sitokinlerin miktarlarının ölçümü göz ardı edilmektedir.

Sitokinler organ nakli ile ortaya çıkan özgül bağışıklık yanıtını düzenler. Sitokinlerin kronik rejeksiyon, rejenerasyon ve enfeksiyon ile ilgili doku veya organdaki görevleri çok yönlüdür. Bunlar; proliferasyonun desteklenmesi, T ve B hücre klonlarının farklılaşması, sitotoksik T lenfositlerin ve NK hücrelerinin farklılaşması ve aktivasyonu, kemotaktik etki, adhezyon moleküllerinin ifadesinin arttırılması, MHC sınıf I ve II ifadesinin arttırılması ve hedef greft hücreleri üzerine doğrudan sitotoksik etkidir. Bu nedenle sitokin aktivitesinin özgül olarak (monoklonal antikolar, çözümlü reseptörler) ya da olmayarak (siklosporin, rapamisin, steroidler) modülasyonu greft reddini kontrol etmede esastır. Transplantasyonda sitokinlerin takip edilmesi, rejeksiyonda ve diğer komplikasyonların teşhisinde yardımcı bir rol oynayabilmektedir (204).

IL-2 T hücrelerinin çoğalmasını ve farklılaşmasını destekleyen immün sistem uyarıcı bir faktör olarak tanımlanan bir sitokindir. Karaciğer transplantasyonundan hemen önce ve/veya sonrasında uygulanan immünosupresif tedavinin amacı, ağırlıklı olarak majör ve minör doku uyumluluk antijenlerine karşı reaksiyona giren konakçı T hücrelerinin neden olduğu akut rejeksiyon gelişimini engellemektir. Literatürde görülen birçok çalışmada çoğu immünosupresif ilacın IL-2 üzerine etki ederek T hücresi aktivasyon yollarını ve T hücresi proliferasyonunu bozduğu belirtilmiştir. Örneğin kalsinörin inhibitörleri (takrolimus, siklosporin) IL-2 üretimini ve ardından T hücresi proliferasyonunu bloke etmektedir. Terapötik bir konsantrasyona ulaşıldıktan sonra T hücre proliferasyonunu durdurmaktadırlar. Rapamisin'in memeli hedefi mTOR inhibitörleri (sirolimus ve everolimus) IL-2 ve IL-2 reseptörünün sinyal yollarının kesilmesi yoluyla T hücrelerini aktive etme yeteneğini bloke eder (138). Zhang ve ark. (205) yaptıkları çalışmada IL-2 reseptörünün bloke edilmesiyle hasta grubunun kontrol grubuna kıyasla akut rejeksiyona maruz kalma oranının daha düşük olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda *IL-2*'nin ifade edilme düzeyinin operasyondan 1 ay sonra operasyon öncesindeki durumuna göre düşük olduğu tespit edilmiştir ($p>0.05$). Operasyondan 1 ay ve 6 ay sonraki ölçümler karşılaştırıldığı zaman 6. ayda *IL-2* gen ifadesinin yükselerek neredeyse operasyon öncesi seviyelerine geldiğini gözlemledik ($p>0.05$). Operasyon sonrası ilk ayda ölçülen IL-2 düzeyindeki düşüş hastaya uygulanan immünosupresif protokolün etkisi ile oluştuğu düşünülebilir. Böylece inflamatuvar bir sitokin olan IL-2'nin aktivitesi kısıtlanarak daha iyi sağ kalımın sağlandığı düşünülebilir. 6. ayda IL-2'nin tekrar bir miktar yükselmesi takrolimusun böbrek fonksiyonlarına zararlı etkileri sebebiyle terk edilerek tedaviye everolimusla devam edilmesi ve dozajın düşürülmesi neden olmuş olabilir, ayrıca ortamda IL-2'nin artması ilaçların IL-2 reseptörlerini de bloke ettiği düşünülünce önemsiz bir hale gelebilir.

TNF- α transplantasyon sonrası greft immünolojisinde etkin rol oynayan bir sitokindir. TNF- α IL-6 ile birlikte çalışarak hücre döngüsünü uyaran ve rejenerasyonu başlatan önemli bir sitokindir. Santiago ve ark. (147) 20 karaciğer transplantasyon hastasıyla yaptıkları araştırmada transplantasyon esnasında serum sitokin seviyelerini ölçtüler ve çalışmalarında serum TNF- α seviyelerinin reperfüzyondan sonraki ilk 20 dakikada en yüksek seviyeye ulaştığını söylemişlerdir. Min suk ve ark. (206) 226 karaciğer

transplantasyonu hastasıyla yaptıkları çalışmada operasyon öncesinde serum TNF- α seviyesinde artış olduğunu bildirmişlerdir. Operasyon öncesi daha yüksek serum TNF- α seviyeleri transplantasyondan sonra karaciğer greft rejenerasyonu ile ilişkilendirmişlerdir. Bizim çalışmamızda TNF- α geninin periferik kandaki ifade edilme düzeyinin operasyondan 6 ay sonra operasyon öncesine göre arttığı tespit edilmiştir ($p>0.05$). Araştırmalar dikkate alındığı zaman karaciğerde TNF- α ifadesindeki artış rejenerasyonla ilişkilendirilmiştir. Bizim araştırmamızda erken dönem olan ilk 1 aylık süreçte bir yükselme olamamakla beraber 6. ayda TNF- α yükselişi görülmüştür. Hastalarımızdaki TNF- α artışının rejenerasyona yönelik bir artış olabileceğini düşünebilir.

Postopertif ilk 2 haftalık dönemde yükselmiş serum TNF- α düzeyleri rejeksiyon riskini arttırdığı bilinmektedir (153). TNF- α karaciğer nakilinden sonra greft fonksiyon bozukluğu durumunda TNF- α reseptörleri tarafından inflamasyona aracılık etmektedir. Grenz ve ark. (153) 63 karaciğer nakli hastasının serum örneklerini inceledi. Operasyondan önce ve sonra iki hafta boyunca hergün hastalardan serum örneklerini topladılar. Grenz ve ark. yaptıkları ölçümlerde 1. ve 2. haftalarda TNF- α ve reseptörlerinin ifadesinin pik seviyeye ulaştığını belirtmişlerdir. Yüksek TNF- α seviyelerinin bozulmuş greft fonksiyonu ile korele olduğunu bildirmişlerdir. Ancak çalışmamızda 6 aydan sonra ki dönemde rejeksiyon gerçekleşen hastalarla rejeksiyon gerçekleşmeyen hastaları istatistiki olarak karşılaştırdığımızda rejeksiyon gerçekleşen hastaların TNF- α seviyelerinde operasyondan sonra 1. ayda anlamlı düzeyde bir düşüş olduğunu saptadık. TNF- α düzeyinde ölçülen bu düşüşün bu hastalarda rejenerasyon kapasitesini düşürdüğünü ve bu nedenle rejeksiyonun bir belirteci olarak takip edilmesini düşündürebilir.

IFN- γ inflamatuvar sitokinlerin fonksiyonel rollerinin izlenmesi transplant alıcılarında grefte verilen bağışıklık yanıtının belirlenmesinde oldukça faydalı olabilir (207). Elde ettiğimiz verilere göre IFN- γ IL-2 ile paralel olarak hareket etmekte ve birbirleri ile korelasyon göstermektedirler. IFN- γ da IL-2 gibi operasyondan 1 ay sonra düşmekte ve 6. ayda geri yükselmektedir. Bu durum immün baskılayıcıların etkisinden kaynaklanıyor olabilir, bu sebeple IL-2 ve IFN- γ 'nın immünsüpresif tedavi boyunca izlenmesi yerinde olacaktır. Nitekim Millan ve ark. (155) immünosüpresif tedaviye bireysel yanıtı belirlemek için transplantasyonda IFN- γ 'nın bir biyobelirteç olarak izlenmesi gerektiğini belirtmişlerdir. Min suk ve ark. (206) yaptıkları çalışmada operasyon sonrasında

IFN- γ seviyesinde istatistiki olarak bir azalma olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda literatürdeki benzer çalışmalara paralel olarak immünsüpresyon tedavisiyle *IFN- γ* gen ifadesinin baskılanarak ilk aylarda azaldığı ve daha iyi sağkalımı teşvik ettiği düşünülebilir. Bu özellikleri ile IFN- γ nakil sonrası hastanın takibi açısından önemli bir sitokindir. IFN- γ ve IL-2 T_{H1} tipi sitokinlerdir. Bu iki tip sitokinin birlikte hareket etmesi ve korelasyon göstermeleri T_{H1} tipi hücrelerinin operasyondan 1 ay sonra sayısal olarak azalıp operasyondan 6 ay sonra geri yükseldiğinin bir işareti olabilir. Bu durum daha ileri araştırmalarda T_{H1} tipi hücrelerinde deneysel olarak ölçümü ile aydınlatılabilir.

Organ transplantasyonunda HLA-G immün yanıtın başlatılmasında görev alan CD4 T hücreleri ve dendritik hücreler ile etkileşime girmektedir. HLA-G allojenik uyarıya yanıt olarak CD4 T hücre proliferasyonunu baskılayarak T_{H2} yanıtını desteklemektedir. Bu nedenle HLA-G'nin Treg'ler gibi immün düzenleyici özelliklere sahip olduğu belirtilmektedir (208, 209). Solene ve ark. (210) 19 kombine karaciğer-böbrek nakli hastasında yaptıkları bir çalışmada yüksek HLA-G5 serum seviyeleri olan ve greft reddi olmayan hastaların serumlarını incelemişlerdir. Bu analizler sonucunda HLA-G5'in T hücre yanıtını inhibe ettiğini ve bu inhibisyonun serum HLA-G5'in sorumlu olduğunu ve HLA-G5'in daha iyi sağ kalımı teşvik ettiğini göstermişlerdir. Blanco ve ark. (211) yaptıkları bir çalışmada transplantasyon hastalarında artan HLA-G5 düzeyinin greft kabulü ile ilişkili olduğu belirtmişlerdir. Blanco ve ark. kalp transplantasyonu yapılan hastalarda transplantasyonun seyrini takip etmek amacıyla majör belirteç olarak kullanılan kroner arter hastalığının hızlı gelişen bir formu olan kardiyak allogreft vaskülopati şiddetini gözlemek için *HLA-G5* gen ifadesinin takip edilmesinin yararlı olabileceğini öne sürmüşlerdir. Kalp transplantasyonunu izleyen ilk bir yılda yapılan ölçümlerde *HLA-G5* gen ifadesinin kardiyak allogreft vaskülopati görülmeyen hastalarda transplantasyondan sonra arttığını, kardiyak allogreft vaskülopatiden muzdarip hastalarda ise azaldığını belirtmişlerdir. Yaptığımız çalışmada *HLA-G5* geninin periferik kandaki ifade edilme düzeyinin operasyondan önce ve operasyondan 1 ay sonraki değerleri arasında istatistiksel bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Aynı şekilde operasyondan 1 ay sonra ve operasyondan 6 ay sonraki ölçümler karşılaştırıldığı zaman *HLA-G5* gen ifadesinin literatürdeki çalışmalara paralel olarak 6. ayda daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p>0.05$). Operasyon öncesi ve operasyondan 6 ay sonraki ölçümler karşılaştırıldığı zaman istatistiksel bir fark olmadığı

tespit edilmiştir. HLA-G5 NK hücreleri ve sitotoksik T lenfositlerin sitolitik aktivitesini güçlü bir şekilde engelleyen güçlü tolerojenik bir molekül olduğundan transplantasyon sonrası ifadesindeki artışın greftin kabulü yönünde olumlu bir etki yarattığını söyleyebiliriz. Bu nedenle transplantasyon hastalarında HLA-G5 düzeyinin takibi greft kabulünü izlemede bir belirteç olarak takip edilebileceğini düşünebiliriz.

IL-4'ün transplantasyon ile ilişkisi üzerine yapılan araştırma sayısı oldukça kısıtlıdır. Conti ve ark. (212) yaptıkları çalışmada IL-4 mRNA seviyelerinin kronik ve akut karaciğer rejeksiyonu durumlarında arttığını belirtmişlerdir. Andrew ve ark. (213) ratlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada tolerans induksiyonu sırasında IL-4'ün nötralize edilmesinin kalp transplantasyonu alıcılarında greft sonucu üzerinde hiçbir etkiye sahip olmadığını belirtmişlerdir. Bizim araştırmamızda ise analizler sonucunda *IL-4* geninin 3 zaman diliminde ölçülen gen ifade seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir değişiklik olmadığı tespit edilmiştir. Aynı şekilde nakil sonrası hastaların takibinde önemli olabileceğini düşündüğümüz karaciğer rejenerasyonunun önemli bir sitokini olan IL-6'nın gen ifadesi 3 zaman dilimindeki ölçümlerimizde bir değişiklik göstermedi. Bizim araştırmamıza benzer bir araştırma Yoshiaki ve ark. (214) tarafından gerçekleştirilmiştir. Yoshiaki ve ark. yaptıkları çalışmada 169 karaciğer transplantasyonu hastasının nakil sonrası artan IL-6'nın serum veya plazma seviyeleri ile greft reddi arasında bir korelasyon gözlemlenmemişlerdir.

IL-10 yabancı antijenlere karşı bağışıklık yanıtının negatif düzenleyicisi olarak rol oynayan temel anti-inflamatuar bir sitokindir. IL-10 inflamatuvar immün yanıtların ve T hücre aracılı bağışıklık yanıtının inhibisyonunda rol oynadığı belirtilmiştir. Bu özelliklerinden dolayı IL-10 hem manipüle edilmiş hem de edilmemiş deneysel sistemlerde greft kabulü veya reddindeki rolünün araştırılmasına yol açmıştır. Organ transplantasyonu üzerine yapılan araştırmalarda IL-10'un diğer sitokinler ve çok sayıda hücre tipi ile karmaşık bir etkileşimi olabileceği belirtilmiştir (215). Böbrek transplantasyonu üzerine yapılan bir çalışmada araştırmacılar rejeksiyon gerçekleşen böbrek allogreftlerinden izole edilen lenfosit grubunda yüksek oranda IL-10 salgılayan hücreler gözlemlenmişlerdir. Yapılan bu çalışmada araştırmacılar IL-10'un rejeksiyonu inhibe etmediğini belirtmişlerdir (216). Çalışmamızda istatistiksel analizler sonucunda *IL-10* gen ifadesinin 3 zaman

diliminde ölçülen gen ifade seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir değişiklik olmadığı tespit edilmiştir.

CD14 temel olarak monositler ve makrofajlarca ifade edilen bir membran glikoproteinidir. Membrana bağlı (mCD14) ve çözünür formda (sCD14) olabilen CD14 molekülünün bilinen en önemli görevi LPS'ye karşı verilen doğal immün yanıtta rol oynamasıdır (217). Özellikle çözünür formunun karaciğer hastalıklarının da içinde bulunduğu çok çeşitli hastalıkların teşhisinde biyobelirteç olabileceği düşünülmektedir. Örneğin; Veronica ve ark (218) çözünebilir ve membrana bağlı tipteki CD14 moleküllerinin çocuklarda pnömoni için önemli bir belirteç olabileceğini öne sürmüşlerdir. Sadeer ve ark. (219) serbest formdaki CD14'ün yaşı bireylerde kalp yetmezliği için önemli bir biyobelirteç olabileceğini belirtmişlerdir. Son dönemde COVID-19 ile ilgili olarak Emily ve ark (220) SARS COV-2 hastalığında çözünür formdaki CD14 moleküllerinin artış gösterdiğini belirtmiştir. Sonuç olarak CD14 molekülünün çok çeşitli hastalıklarda prognostik değere sahip bir belirteç olma potansiyeli vardır. Karaciğer vücutta CD14'ün en önemli kaynağı olan makrofajları en fazla barındıran organdır. Tüm makrofajların yaklaşık %80-90 kadarı Kupffer hücresi olarak karaciğerde yer almaktadır (221). Karaciğer ve dalaktaki CD14 gen ifadesi vücudun geri kalanına göre son derece yüksek seviyededir (222). Bunlara ek olarak Philip ve ark (223) insan hepatositlerinin HBV ve HCV hastalığında çözünür formda CD14 ürettiklerini belirtmektedirler. Bu durumlar göz önüne alındığında CD14'ün karaciğer hastalıklarının takibinde biyobelirteç olma potansiyelini daha da kuvvetlendirmektedir. Nitekim Yuji ve ark. (224) 113 NAFLD hastası ile 21 sağlıklı kontrolü karşılaştırdıkları araştırmalarında NAFLD hastalarının serum sCD14 değerlerinin daha yüksek olduğunu ve CD14'ün karaciğer inflamasyonunun derecesini gösterebilecek potansiyel bir belirteç olduğunu belirttiler. Azeem ve ark (225) HCV hastalarında yaptıkları araştırmalarında CD14'ün hastalarda görülen fibrozun şiddetine paralel şekilde artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Zuo ve ark (226) sıçanlarda alkol ile oluşturulan karaciğer hasarının karaciğer dokusundaki CD14 gen ifadesini artırdığını bildirmişlerdir. Sonuç olarak CD14 molekülü özellikle karaciğerle ilişkili hastalıklarda yüksek bir biyobelirteç olma potansiyeline sahiptir. Bu sebeple araştırmamızda karaciğer transplantasyonunun takibinde CD14 gen ifadesinin yüksek prediktif değere sahip, kandan direkt olarak ölçülebilecek düşük maliyetli ve kullanışlı bir biyobelirteç olabileceğini

düşünerek ölçümlerimizi gerçekleştirdik, ancak hastaların 3 farklı zaman dilimindeki ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik tespit edemedik. Bu durumun sebeplerinden biri nakil sonrası uygulanan steroid tedavinin CD14 molekülünün ifade edilmesini baskılaması olabilir. Bu duruma benzer olarak Jose ve ark. (227) SARS-Cov 2 hastalarında CD14 seviyelerinin artış gösterdiğini, ancak steroid tedavisinin CD14 artışını geriletmediğini belirtmişlerdir. Bunun yanı sıra örneklem büyüklüğünün küçük olması ve nakile sebep olan altta yatan hastalıkların çok çeşitli olması net bir sonuç ortaya koymamızı engellemiş olabilir.

TREM1 akut ve kronik inflamatuvar yanıtların kontrolünde rol oynamaktadır. TREM1 hücre yüzeyini aktive eden bir reseptördür ve inflamatuvar mediatörlerin salgılanmasını indükleyerek inflamatuvar yanıtı güçlü bir şekilde arttıran Ig süper ailesinin bir üyesidir. TREM1 ifadesi enfeksiyon, kanser gelişimi ve PAMP-TLR etkileşimini takiben upregüle edilmektedir (228). Başlangıçta TREM1'in ağırlıklı olarak bulaşıcı hastalıklarla ilişkili olduğu gösterilmiş olmasına rağmen, son kanıtlar steril inflamatuvar hastalıklardaki rolüne yeni bir ışık tutmuştur. TREM1 ve TREM1 reseptörünün sinyal yollarının ateroskleroz, iskemi reperfüzyonunun neden olduğu doku hasarı, kolit, fibroz ve kanser dahil olmak üzere bazı akut ve kronik inflamatuvar hastalıkların patolojisine katkıda bulunduğu belirtilmiştir (229). Chen ve ark. (230) TREM1 varyantlarının sepsis ile ilişkisini araştırdıkları bir çalışmada sepsisli 175 hastadan oluşan Asya kökenli popülasyonda TREM1 ve sepsis arasında hiçbir ilişki bulamadıklarını belirtmişlerdir. Tammaro ve ark. (231) fareler üzerinde yaptıkları bir çalışmada TREM1'in deneysel iskemi-reperfüzyon hasarı sırasında ve böbrek transplantasyonundan sonra önemli bir rol oynamadığını belirtmişlerdir. Karaciğer hastalıkları ile ilgili olarak Anh Thu ve ark. (232) oluşturdukları bir fare fibrozis modelinde Kupffer hücreleri tarafından ifade edilen TREM1'in hepatik inflamasyonu ve fibrojenez destekleyici bir rol oynadığını belirtmişlerdir. Juan ve ark. (162) farelerde TREM1 eksikliğini dietilnitrozamin tarafından tetiklenen HCC'yi zayıflattığını belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise istatistiksel analizler sonucunda *TREM1* geninin 3 zaman diliminde ölçülen gen ifade seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir değişiklik olmadığı tespit edilmiştir.

FOXP3 genindeki bozulma veya kayıp sonucunda lenfoproliferatif hastalıklar, otoimmünite ve greft reddi ile sonuçlanabildiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (157, 233).

Bunun yanısıra; Bunnag ve ark. (234) yaptıkları bir çalışmada böbrek transplantasyonundan 6 ay sonra yapılan ölçümlerde artan FOXP3 geni fedesi ile rejeksiyon arasında bir ilişki bulamadıklarını belirtmişlerdir. Çalışmamızda istatistiksel analizler sonucunda *FOXP3* geninin 3 zaman diliminde ölçülen gen ifade seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir değişiklik olmadığı tespit edilmiştir.

Son olarak sağlıklı kontrol grubu ile nakil hastaları karşılaştırıldığı zaman; kontrol grubunun *IL-2*, *IL-4*, *IL-6*, *IFN- γ* , *TNF- α* , *FOXP3*, *TREM1*, ve *HLA-G5* gen ifadelerinin seviyelerinin hasta grubunun 3 zaman dilimindeki gen ifadesi seviyelerine göre anlamlı bir şekilde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun sebebi önemli bir immünolojik organ olan karaciğerin hasarına bağlı olarak immün sistemin zayıflaması ya da hastalara uygulanan immün süpresif tedaviden kaynaklanmış olabilir. Siroz ve son dönem karaciğer hastalıklarının immün sistemin fonksiyonunu bozarak immün sistemi zayıflattığı bilinmektedir. Bu durum doğal immün sisteme ait proteinlerin ve retikuloendotelial sistemin hasara uğramasına sebep olmaktadır (235, 236). Sonuç olarak sitokin seviyeleri azalmış olabilir. İmmün süpresif tedavininde bu duruma etkisi göz ardı edilmemelidir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu araştırmada transplantasyon öncesi ve sonrası immünolojik süreçlerin düzenlenmesinde etkin ve biyobelirteç olma potansiyeline sahip moleküller olan TNF- α , IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10 sitokinleri, FOXP3 transkripsiyon faktörü, TREM1, HLA-G5, CD14 moleküllerinin periferik kandaki mRNA miktarları ölçülerek ve serumlarından biyokimyasal analizler yapılarak immün sistemin cevabı hakkında literatüre katkı sağlaması ve söz konusu aday biyobelirteçlerin değerini göstermek amaçlanmıştır.

Karaciğer transplantasyonundan önce ve operasyondan 1 ay sonra gerçekleştirilen ölçümlerde ALT, PLT ve CRP seviyelerinin 1. ayda istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde arttığı; AFP, Bilirubin D ve Bilirubin T seviyelerinin anlamlı bir şekilde azaldığı tespit edildi. Operasyondan önce ve operasyondan 6 ay sonra gerçekleştirilen ölçümlerde PLT seviyelerinin 6. ayda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı; AST, Bilirubin D, Bilirubin T ve AFP seviyelerinin ise anlamlı bir şekilde azaldığı tespit edildi. Operasyondan 1 ay sonra ve 6 ay sonra gerçekleştirilen ölçümlerde ALT, PLT, CRP ve Bilirubin D seviyelerinin 6. ayda istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde azaldığı tespit edilmiştir.

Operasyondan önce ve operasyondan 1 ay sonra gerçekleştirilen ölçümlerde AST değerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı tespit edilmiştir. Operasyondan önce ve operasyondan 6 ay sonra gerçekleştirilen ölçümlerde CRP ve ALT değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı tespit edildi. Operasyondan 1 ay ve 6 ay sonra gerçekleştirilen ölçümlerde AST, AFP ve Bilirubin T değerlerinde herhangi bir anlamlı istatistiksel fark olmadığı tespit edildi.

Operasyondan önce, 1 ay sonra ve 6 ay sonra yapılan ölçümlerde enfeksiyon geçiren hastaları değerlendirmeden çıkardığımız zaman CRP'nin operasyondan 1 ay sonra ölçülen değerinin operasyon önceki ve 6. aydaki değerine göre yüksek olduğunu tespit ettik.

Operasyondan önce ve operasyondan 1 ay sonra gerçekleştirilen ölçümlerde IL-2 ve IFN- γ 'nın ifade edilme düzeyinin anlamlı bir şekilde azaldığı tespit edildi. Karaciğer transplantasyonu öncesi ve operasyondan 6 ay sonra gerçekleştirilen ölçümlerde TNF- α gen ifadesinin 6. ayda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı; operasyondan 1 ay sonra ve

6 ay sonra gerçekleştirilen ölçümlerde *IL-2*, *HLA-G5* ve *IFN- γ* gen ifadesinin daha yüksek olduğu tespit edildi.

İstatistiksel analizler sonucunda *IL-4*, *IL-6*, *IL-10*, *CD14*, *TREMI*, *FOXP3* genlerinin 3 zaman diliminde ölçülen gen ifade seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir değişiklik olmadığı tespit edilmiştir.

Operasyondan sonraki 2 yıllık süreçte rejeksiyon gerçekleşen hastalarla rejeksiyon gerçekleşmeyen hastaları karşılaştırdığımızda rejeksiyon gerçekleşen hastaların operasyondan 1 ay sonraki *TNF- α* seviyelerinin rejeksiyon görülmeyen hastalara göre anlamlı düzeyde düşük olduğu tespit edilmiştir.

Ayrıca istatistiksel olarak anlamlı gen ifade değişiklikler gözlenen *IL-2* ve *IFN- γ* genlerinin tüm zaman dilimlerindeki ifade değişiklikleri pozitif korelasyon göstermektedir.

Karaciğer transplantasyonu öncesi ve sonrasında ALT, AFP, PLT, CRP, Bilirubin D ve Bilirubin T gibi biyokimyasal parametrelerin ve *IL-2*, *IFN- γ* , *TNF- α* ve *HLA-G5* genlerindeki değişim karaciğer trasplantasyonunu sonrasında immün sistemin verdiği yanıtın daha iyi anlaşılması ve daha iyi sağkalımı sağlamak amacıyla kullanılacak birer biyobelirteç olabilirler.

Bu verilerin ışığında ilerleyen dönemde araştırmanın örneklem büyüklüğünün artırılması, nakile sebep olan hastalıkların ayrı ayrı araştırılması ve gen ifade düzeyini ölçtüğümüz genlerin protein seviyesinde ölçülmesi faydalı olacaktır. Ayrıca donörlerin nakilden sonraki rejenerasyon sürecinde takibi gerçekleştirilerek aynı gen belirteçlerinin ne gibi değişikliklere uğradığı donördeki organ rejenerasyonu hakkında bilgi verici olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Mızrak D, İdilman, R. Karaciğer Nakli: Hasta Seçimi, Gelişen Endikasyonlar. *Turkiye Klinikleri J Gen Surg.* 2009, 2: 10-3.
2. Oral HB. Transplantasyon İmmünolojisi. *Turkiye Klinikleri J Surg Med Sci.* 2006, 2(21): 7-10.
3. Raftery A. Anatomy of General Surgical Operations. *Ann R Coll Surg Engl.* 2007, 89(5): 561-.
4. Ellis H. Anatomy of the liver. *Surgery (Oxford).* 2011, 29: 589–92.
5. Pant A, Kopec AK, Luyendyk JP. Role of the blood coagulation cascade in hepatic fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2018, 315(2): G171-G6.
6. Moore KL, Dalley AF, Agur AMR. *Clinically Oriented Anatomy.* Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2013.
7. Chiang JYL, Ferrell JM. Bile Acid Metabolism in Liver Pathobiology. *Gene Expr.* 2018, 18(2): 71-87.
8. Raddatz D, Ramadori G. Carbohydrate metabolism and the liver: actual aspects from physiology and disease. *Z Gastroenterol.* 2007, 45(1): 51-62.
9. Blaner WS, Li Y, Brun PJ, Yuen JJ, Lee SA, Clugston RD. Vitamin A Absorption, Storage and Mobilization. *Subcell Biochem.* 2016, 81: 95-125.
10. Cullis JO, Fitzsimons EJ, Griffiths WJ, Tsochatzis E, Thomas DW. Investigation and management of a raised serum ferritin. *Br J Haematol.* 2018, 181(3): 331-40.
11. Legallais C, Kim D, Mihaila SM, Mihajlovic M, Figliuzzi M, Bonandrini B, Salerno S, Yousef Yengej FA, Rookmaaker MB, Sanchez Romero N, Sainz-Arnal P, Pereira U, Pasqua M, Gerritsen KGF, Verhaar MC, Remuzzi A, Baptista PM, De Bartolo L, Masereeuw R, Stamatialis D. Bioengineering Organs for Blood Detoxification. *Adv Healthc Mater.* 2018, 7(21): e1800430.
12. Carvalho JR, Verdelho Machado M. New Insights About Albumin and Liver Disease. *Ann Hepatol.* 2018, 17(4): 547-60.
13. Barrett KE. *Gastrointestinal Physiology*, 2nd ed. McGraw-Hill Education, 2013.

14. Bilzer M, Roggel F, Gerbes AL. Role of Kupffer cells in host defense and liver disease. *Liver Int.* 2006, 26(10): 1175-86.
15. Ozougwu J. *Physiology of the liver*. Treasure Island FL, StatPearls Publishing LLC. 2017, 4: 13-24.
16. Ishibashi H, Nakamura M, Komori A, Migita K, Shimoda S. Liver architecture, cell function, and disease. *Semin Immunopathol.* 2009, 31(3): 399-409.
17. Khonsary SA. Guyton and Hall: Textbook of Medical Physiology. *Surg Neurol Int.* 2017, 8: 275.
18. Seki E, De Minicis S, Osterreicher CH, Kluwe J, Osawa Y, Brenner DA, Schwabe RF. TLR4 enhances TGF-beta signaling and hepatic fibrosis. *Nat Med.* 2007, 13(11): 1324-32.
19. DeLeve LD, Maretti-Mira AC. Liver Sinusoidal Endothelial Cell: An Update. *Semin Liver Dis.* 2017, 37(4): 377-87.
20. Peng H, Jiang X, Chen Y, Sojka DK, Wei H, Gao X, Sun R, Yokoyama WM, Tian Z. Liver-resident NK cells confer adaptive immunity in skin-contact inflammation. *J Clin Invest.* 2013, 123(4): 1444-56.
21. Krishnan S. Liver Diseases-An Overview. *World J Pharm Pharm Sci.* 2019, 8: 1385-95.
22. Larson AM, Polson J, Fontana RJ, Davern TJ, Lalani E, Hynan LS, Reisch JS, Schiødt FV, Ostapowicz G, Shakil AO, Lee WM. Acetaminophen-induced acute liver failure: results of a United States multicenter, prospective study. *Hepatology.* 2005, 42(6): 1364-72.
23. Dienstag JL. Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med.* 2008, 359(14): 1486-500.
24. Cozzani E, Herzum A, Burlando M, Parodi A. Cutaneous manifestations of HAV, HBV, HCV. *Ital J Dermatol Venerol.* 2021, 156(1): 5-12.
25. Franco E, Meleleo C, Serino L, Sorbara D, Zaratti L. Hepatitis A: Epidemiology and prevention in developing countries. *World J Hepatol.* 2012, 4(3): 68-73.
26. Lee WM. Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med.* 1997, 337(24): 1733-45.
27. Easterbrook PJ, Roberts T, Sands A, Peeling R. Diagnosis of viral hepatitis. *Curr Opin HIV AIDS.* 2017, 12(3): 302-14.

28. Stockdale AJ, Kreuels B, Henrion MYR, Giorgi E, Kyomuhangi I, de Martel C, Hutin Y, Geretti AM. The global prevalence of hepatitis D virus infection: Systematic review and meta-analysis. *J Hepatol.* 2020, 73(3): 523-32.
29. Khuroo MS, Khuroo MS, Khuroo NS. Hepatitis E: Discovery, global impact, control and cure. *World J Gastroenterol.* 2016, 22(31): 7030-45.
30. Lewis HC, Wichmann O, Duizer E. Transmission routes and risk factors for autochthonous hepatitis E virus infection in Europe: a systematic review. *Epidemiol Infect.* 2010, 138(2): 145-66.
31. Porter RS, Kaplan JL, Homeier BP. *The Merck Manual Home Health Handbook.* Wiley, 2011.
32. O'Shea RS, Dasarathy S, McCullough AJ. Alcoholic liver disease. *Am J Gastroenterol.* 2010, 105(1): 14-32; quiz 3.
33. Singh S, Osna NA, Kharbanda KK. Treatment options for alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease: A review. *World J Gastroenterol.* 2017, 23(36): 6549-70.
34. Hosseini N, Shor J, Szabo G. Alcoholic Hepatitis: A Review. *Alcohol Alcohol.* 2019, 54(4): 408-16.
35. Choi G, Runyon BA. Alcoholic hepatitis: a clinician's guide. *Clin Liver Dis.* 2012, 16(2): 371-85.
36. Esler WP, Bence KK. Metabolic Targets in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2019, 8(2): 247-67.
37. Byrne CD, Targher G. NAFLD: a multisystem disease. *J Hepatol.* 2015, 62(1 Suppl): S47-64.
38. Blachier M, Leleu H, Peck-Radosavljevic M, Valla DC, Roudot-Thoraval F. The burden of liver disease in Europe: a review of available epidemiological data. *J Hepatol.* 2013, 58(3): 593-608.
39. Schuppan D, Surabattula R, Wang XY. Determinants of fibrosis progression and regression in NASH. *J Hepatol.* 2018, 68(2): 238-50.
40. Al-Chalabi T, Boccato S, Portmann BC, McFarlane IG, Heneghan MA. Autoimmune hepatitis (AIH) in the elderly: a systematic retrospective analysis of a

- large group of consecutive patients with definite AIH followed at a tertiary referral centre. *J Hepatol.* 2006, 45(4): 575-83.
41. Czaja AJ. Special clinical challenges in autoimmune hepatitis: the elderly, males, pregnancy, mild disease, fulminant onset, and nonwhite patients. *Semin Liver Dis.* 2009, 29(3): 315-30.
 42. Fricker ZP, Lichtenstein DR. Primary Sclerosing Cholangitis: A Concise Review of Diagnosis and Management. *Dig Dis Sci.* 2019, 64(3): 632-42.
 43. Lleo A, Wang GQ, Gershwin ME, Hirschfield GM. Primary biliary cholangitis. *Lancet.* 2020, 396(10266): 1915-26.
 44. Morrison ED, Kowdley KV. Genetic liver disease in adults. Early recognition of the three most common causes. *Postgrad Med.* 2000, 107(2): 147-52, 55, 58-9.
 45. Stoller JK, Aboussouan LS. A review of α 1-antitrypsin deficiency. *Am J Respir Crit Care Med.* 2012, 185(3): 246-59.
 46. Carpagnano GE, Santacroce R, Palmiotti GA, Leccese A, Giuffreda E, Margaglione M, Foschino Barbaro MP, Aliberti S, Lacedonia D. A New SERPINA-1 Missense Mutation Associated with Alpha-1 Antitrypsin Deficiency and Bronchiectasis. *Lung.* 2017, 195(5): 679-82.
 47. Członkowska A, Litwin T, Dusek P, Ferenci P, Lutsenko S, Medici V, Rybakowski JK, Weiss KH, Schilsky ML. Wilson disease. *Nat Rev Dis Primers.* 2018, 4(1): 21.
 48. Schuppan D, Afdhal NH. Liver cirrhosis. *Lancet (London, England).* 2008, 371(9615): 838-51.
 49. Patel N, Sharma B, Samant H. Cryptogenic Cirrhosis. *StatPearls.* Treasure Island FL: © 2021, StatPearls Publishing LLC.; 2021.
 50. Clark JM, Diehl AM. Nonalcoholic fatty liver disease: an underrecognized cause of cryptogenic cirrhosis. *JAMA.* 2003, 289(22): 3000-4.
 51. Ratziu V, Bonyhay L, Di Martino V, Charlotte F, Cavallaro L, Sayegh-Tainturier MH, Giral P, Grimaldi A, Opolon P, Poynard T. Survival, liver failure, and hepatocellular carcinoma in obesity-related cryptogenic cirrhosis. *Hepatology.* 2002, 35(6): 1485-93.

52. Cotrim HP, Paraná R, Braga E, Lyra L. Nonalcoholic steatohepatitis and hepatocellular carcinoma: natural history? *Am J Gastroenterol*. 2000, 95(10): 3018-9.
53. Balogh J, Victor D, 3rd, Asham EH, Burroughs SG, Boktour M, Saharia A, Li X, Ghobrial RM, Monsour HP, Jr. Hepatocellular carcinoma: a review. *Journal of hepatocellular carcinoma*. 2016, 3: 41-53.
54. Lok AS, Seeff LB, Morgan TR, di Bisceglie AM, Sterling RK, Curto TM, Everson GT, Lindsay KL, Lee WM, Bonkovsky HL, Dienstag JL, Ghany MG, Morishima C, Goodman ZD. Incidence of hepatocellular carcinoma and associated risk factors in hepatitis C-related advanced liver disease. *Gastroenterology*. 2009, 136(1): 138-48.
55. Chaplin DD. Overview of the immune response. *J Allergy Clin Immunol*. 2010, 125(2 Suppl 2): S3-S23.
56. Zheng M, Tian Z. Liver-Mediated Adaptive Immune Tolerance. *Front Immunol*. 2019, 10: 2525.
57. Kubes P, Jenne C. Immune Responses in the Liver. *Annu Rev Immunol*. 2018, 36: 247-77.
58. Zhou J, Tian Z, Peng H. Tissue-resident NK cells and other innate lymphoid cells. *Adv Immunol*. 2020, 145: 37-53.
59. Borzychowski AM, Croy BA, Chan WL, Redman CW, Sargent IL. Changes in systemic type 1 and type 2 immunity in normal pregnancy and pre-eclampsia may be mediated by natural killer cells. *Eur J Immunol*. 2005, 35(10): 3054-63.
60. Conrad KP, Miles TM, Benyo DF. Circulating levels of immunoreactive cytokines in women with preeclampsia. *Am J Reprod Immunol*. 1998, 40(2): 102-11.
61. Dong MY, Shi XL, He J, Wang ZP, Xie X, Wang HZ. [Imbalance of serum T helper 1- and 2-type cytokines in preeclampsia and gestational hypertension]. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2005, 34(6): 488-91.
62. Ellis J, Wennerholm UB, Bengtsson A, Lilja H, Pettersson A, Sultan B, Wennergren M, Hagberg H. Levels of dimethylarginines and cytokines in mild and severe preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2001, 80(7): 602-8.
63. Colonna M. Innate Lymphoid Cells: Diversity, Plasticity, and Unique Functions in Immunity. *Immunity*. 2018, 48(6): 1104-17.

64. Kaur BP, Secord E. Innate Immunity. *Pediatr Clin North Am.* 2019, 66(5): 905-11.
65. Li P-z, Li J-z, Li M, Gong J-p, He K. An efficient method to isolate and culture mouse Kupffer cells. *Immunol Lett.* 2014, 158(1): 52-6.
66. Kawai T, Akira S. The roles of TLRs, RLRs and NLRs in pathogen recognition. *Int Immunol.* 2009, 21(4): 317-37.
67. Parker GA, Picut CA. Liver immunobiology. *Toxicol Pathol.* 2005, 33(1): 52-62.
68. Laskin DL, Sunil VR, Gardner CR, Laskin JD. Macrophages and Tissue Injury: Agents of Defense or Destruction? *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2011, 51(1): 267-88.
69. Johnson C, Han Y, Hughart N, McCarra J, Alpini G, Meng F. Interleukin-6 and its receptor, key players in hepatobiliary inflammation and cancer. *Transl Gastrointest Cancer.* 2012, 1(1): 58-70.
70. Merksamer PI, Papa FR. The UPR and cell fate at a glance. *J Cell Sci.* 2010, 123(Pt 7): 1003-6.
71. Sato K, Hall C, Glaser S, Francis H, Meng F, Alpini G. Pathogenesis of Kupffer Cells in Cholestatic Liver Injury. *Am J Pathol.* 2016, 186(9): 2238-47.
72. Manz MG, Boettcher S. Emergency granulopoiesis. *Nat Rev Immunol.* 2014, 14(5): 302-14.
73. Teng TS, Ji AL, Ji XY, Li YZ. Neutrophils and Immunity: From Bactericidal Action to Being Conquered. *J Immunol Res.* 2017, 2017: 9671604.
74. Silvestre-Roig C, Fridlender ZG, Glogauer M, Scapini P. Neutrophil Diversity in Health and Disease. *Trends Immunol.* 2019, 40(7): 565-83.
75. Nguyen GT, Green ER, Meccas J. Neutrophils to the ROScue: Mechanisms of NADPH Oxidase Activation and Bacterial Resistance. *Front Cell Infect Microbiol.* 2017, 7: 373.
76. Almeda-Valdes P, Aguilar Olivos NE, Barranco-Fragoso B, Uribe M, Méndez-Sánchez N. The Role of Dendritic Cells in Fibrosis Progression in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Biomed Res Int.* 2015, 2015: 768071.
77. Castellaneta A, Di Leo A, Francavilla R, Margiotta M, Barone M, Amoruso A, Troiani L, Thomson AW, Francavilla A. Functional modification of CD11c+ liver

- dendritic cells during liver regeneration after partial hepatectomy in mice. *Hepatology*. 2006, 43(4): 807-16.
78. Wolf JH, Bhatti TR, Fouraschen S, Chakravorty S, Wang L, Kurian S, Salomon D, Olthoff KM, Hancock WW, Levine MH. Heat shock protein 70 is required for optimal liver regeneration after partial hepatectomy in mice. *Liver Transpl*. 2014, 20(3): 376-85.
 79. Bernardini G, Benigni G, Antonangeli F, Ponzetta A, Santoni A. Multiple levels of chemokine receptor regulation in the control of mouse natural killer cell development. *Front Immunol*. 2014, 5: 44-.
 80. Horowitz A, Stegmann KA, Riley EM. Activation of natural killer cells during microbial infections. *Front Immunol*. 2012, 2: 88-.
 81. Sun R, Gao B. Negative regulation of liver regeneration by innate immunity (natural killer cells/interferon-gamma). *Gastroenterology*. 2004, 127(5): 1525-39.
 82. Godfrey DI, Stankovic S, Baxter AG. Raising the NKT cell family. *Nat Immunol*. 2010, 11(3): 197-206.
 83. Salio M, Silk JD, Jones EY, Cerundolo V. Biology of CD1- and MR1-restricted T cells. *Annu Rev Immunol*. 2014, 32: 323-66.
 84. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *Molecular Biology of the Cell*, 4th ed. Garland Publishing, Incorporated, 2002.
 85. Son G, Kremer M, Hines IN. Contribution of gut bacteria to liver pathobiology. *Gastroenterol Res Pract*. 2010, 2010.
 86. Abbas AK, Lichtman AH. *Cellular and Molecular Immunology*, 4th ed. California Saunders, 2005.
 87. Zhu J, Paul WE. Peripheral CD4⁺ T-cell differentiation regulated by networks of cytokines and transcription factors. *Immunol Rev*. 2010, 238(1): 247-62.
 88. Germain RN. T-cell development and the CD4-CD8 lineage decision. *Nat Rev Immunol*. 2002, 2(5): 309-22.
 89. Trinchieri G. Interleukin-10 production by effector T cells: Th1 cells show self control. *J Exp Med*. 2007, 204(2): 239-43.
 90. Cardone J, Le Friec G, Vantourout P, Roberts A, Fuchs A, Jackson I, Suddason T, Lord G, Atkinson JP, Cope A, Hayday A, Kemper C. Complement regulator CD46

- temporally regulates cytokine production by conventional and unconventional T cells. *Nat Immunol*. 2010, 11(9): 862-71.
91. Murphy K, Weaver C. *Janeway's Immunobiology*. W.W. Norton, 2016.
 92. Maier E, Duschl A, Horejs-Hoeck J. STAT6-dependent and -independent mechanisms in Th2 polarization. *Eur J Immunol*. 2012, 42(11): 2827-33.
 93. Wick G, Grundtman C, Mayerl C, Wimpfissinger TF, Feichtinger J, Zelger B, Sgonc R, Wolfram D. The immunology of fibrosis. *Annu Rev Immunol*. 2013, 31: 107-35.
 94. Korn T, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK. IL-17 and Th17 Cells. *Annu Rev Immunol*. 2009, 27: 485-517.
 95. Kondělková K, Vokurková D, Krejsek J, Borská L, Fiala Z, Ctirad A. Regulatory T cells (TREG) and their roles in immune system with respect to immunopathological disorders. *Acta Medica (Hradec Kralove)*. 2010, 53(2): 73-7.
 96. Crotty S. Follicular helper CD4 T cells (TFH). *Annu Rev Immunol*. 2011, 29: 621-63.
 97. Brunner LS, Smeltzer SCOC, Bare BG, Hinkle JL, Cheever KH. *Brunner & Suddarth's Textbook of Medical-surgical Nursing*. Philadelphia, Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2010.
 98. Angelico M, Gridelli B, Strazzabosco M. Practice of adult liver transplantation in Italy. Recommendations of the Italian Association for the Study of the Liver (A.I.S.F.). *Dig Liver Dis*. 2005, 37(7): 461-7.
 99. Meirelles Júnior RF, Salvalaggio P, Rezende MBd, Evangelista AS, Guardia BD, Matiolo CEL, Neves DB, Pandullo FL, Felga GEG, Alves JAdS, Curvelo LA, Diaz LGG, Rusi MB, Viveiros MdM, Almeida MDd, Pedroso PT, Rocco RA, Meira Filho SP. Liver transplantation: history, outcomes and perspectives. *Einstein (Sao Paulo, Brazil)*. 2015, 13(1): 149-52.
 100. Moore FD, Smith LL, Burnap TK, Dallenbach FD, Dammin GJ, Gruber UF, Shoemaker WC, Steenburg RW, Ball MR, Belko JS. One-stage homotransplantation of the liver following total hepatectomy in dogs. *Transplant Bull*. 1959, 6(1): 103-7.
 101. Starzl TE, Groth CG, Brettschneider L, Penn I, Fulginiti VA, Moon JB, Blanchard H, Martin AJ, Jr., Porter KA. Orthotopic homotransplantation of the human liver. *Ann Surg*. 1968, 168(3): 392-415.

102. Kokudo N, Takemura N, Ito K, Mihara F. The history of liver surgery: Achievements over the past 50 years. *Ann Gastroenterol Surg.* 2020, 4(2): 109-17.
103. Brown K, Ann Huang M, Kazimi M, Moonka D. Liver transplantation. *Primer on Transplantation*, 3th ed. American Society of Transplantation, 2011: 238-73.
104. Davies DB, Harper A. The OPTN waiting list, 1988-2003. *Clin transpln.* 2004: 27-40.
105. Haberal M, Buyukpamukcu N, Telatar H, Bilgin N, Arslan G, Simsek H, Ekici E, Karamehmetoglu M. Segmental living liver transplantation in children and adults. *Transplant Proc.* 1992, 24(6): 2687-9.
106. Karakayali H, Haberal M. The history and activities of transplantation in Turkey. *Transplant Proc.* 2005, 37(7): 2905-8.
107. Yilmaz S, Carr BI. Introduction to Special Issue on Liver Transplant and HCC at Inonu University, Turkey. *J Gastrointest Cancer.* 2020, 51(4): 1103.
108. Yilmaz S, Kayaalp C, Isik B, Ersan V, Otan E, Akbulut S, Dirican A, Kutlu R, Kahraman AS, Ara C, Yilmaz M, Unal B, Aydin C, Piskin T, Ozgor D, Ates M, Ozdemir F, Ince V, Koc C, Baskiran A, Dogan SM, Barut B, Sumer F, Karakas S, Kutluturk K, Yologlu S, Gozukara H. Reconstruction of Anomalous Portal Venous Branching in Right Lobe Living Donor Liver Transplantation: Malatya Approach. *Liver Transpl.* 2017, 23(6): 751-61.
109. Keeffe EB. Liver transplantation: current status and novel approaches to liver replacement. *Gastroenterology.* 2001, 120(3): 749-62.
110. Reuben A. Long-term management of the liver transplant patient: diabetes, hyperlipidemia, and obesity. *Liver Transpl.* 2001, 7(11 Suppl 1): S13-21.
111. Munoz SJ, Rothstein KD, Reich D, Manzarbeitia C. Long-term care of the liver transplant recipient. *Clin Liver Dis.* 2000, 4(3): 691-710.
112. Wiesner RH, Rakela J, Ishitani MB, Mulligan DC, Spivey JR, Steers JL, Krom RA. Recent advances in liver transplantation. *Mayo Clin Proc.* 2003, 78(2): 197-210.
113. Charlton M, Levitsky J, Aqel B, O'Grady J, Hemibach J, Rinella M, Fung J, Ghabril M, Thomason R, Burra P, Little EC, Berenguer M, Shaked A, Trotter J, Roberts J, Rodriguez-Davalos M, Rela M, Pomfret E, Heyrend C, Gallegos-Orozco J, Saliba F. International Liver Transplantation Society Consensus Statement on

- Immunosuppression in Liver Transplant Recipients. *Transplantation*. 2018, 102(5): 727-43.
114. Hoffman FM, Nelson BJ, Drangstveit MB, Flynn BM, Watercott EA, Zirbes JM. Caring for transplant recipients in a nontransplant setting. *Crit Care Nurse*. 2006, 26(2): 53-66, 8-73; quiz 4.
 115. Whitehouse GP, Hope A, Sanchez-Fueyo A. Regulatory T-cell therapy in liver transplantation. *Transpl Int*. 2017, 30(8): 776-84.
 116. Argani H. New Markers for Transplant Rejection. *Exp Clin Transplant*. 2020, 18(Suppl 1): 1-9.
 117. StatPearls. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559278/> 9May18 2021.
 118. StatPearls. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535438/> 9May18 2021.
 119. Akuyam SA, Abubakar A, Lawal N, Yusuf R, Aminu SM, Hassan A, Musa A, Bello AK, Yahaya IA, Okafor PA. Assessment of biochemical liver function tests in relation to age among steady state sickle cell anemia patients. *Niger J Clin Pract*. 2017, 20(11): 1428-33.
 120. Giannini EG, Testa R, Savarino V. Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. *CMAJ*. 2005, 172(3): 367-79.
 121. Oh RC, Hustead TR, Ali SM, Pantsari MW. Mildly Elevated Liver Transaminase Levels: Causes and Evaluation. *Am Fam Physician*. 2017, 96(11): 709-15.
 122. Abdelmalek MF. Nonalcoholic fatty liver disease: another leap forward. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2021, 18(2): 85-6.
 123. Yang JG, He XF, Huang B, Zhang HA, He YK. Rule of changes in serum GGT levels and GGT/ALT and AST/ALT ratios in primary hepatic carcinoma patients with different AFP levels. *Cancer Biomark*. 2018, 21(4): 743-6.
 124. Twomey L, Wallace R, Cummins P, Degryse B, Sheridan S, Harrison M, Moyna N, Meade-Murphy G, Navasiolava N, Custaud M-A, Murphy R. Platelets- From Formation to Function. *Homeostasis*, 2th ed. IntechOpen, 2018.
 125. Violi F, Basili S, Raparelli V, Chowdary P, Gatt A, Burroughs AK. Patients with liver cirrhosis suffer from primary haemostatic defects? Fact or fiction? *J Hepatol*. 2011, 55(6): 1415-27.

126. García-Suárez J, Burgaleta C, Hernanz N, Albarran F, Tobaruela P, Alvarez-Mon M. HCV-associated thrombocytopenia: clinical characteristics and platelet response after recombinant alpha2b-interferon therapy. *Br J Haematol*. 2000, 110(1): 98-103.
127. Kajihara M, Kato S, Okazaki Y, Kawakami Y, Ishii H, Ikeda Y, Kuwana M. A role of autoantibody-mediated platelet destruction in thrombocytopenia in patients with cirrhosis. *Hepatology*. 2003, 37(6): 1267-76.
128. Kushner I, Samols D. Oswald Avery and the pneumococcus. *Pharos Alpha Omega Alpha Honor Med Soc*. 2011, 74: 14-8.
129. Black S, Kushner I, Samols D. C-reactive Protein. *J Biol Chem*. 2004, 279: 48487-90.
130. Black S, Kushner I, Samols D. C-reactive Protein. *J Biol Chem*. 2004, 279(47): 48487-90.
131. Méndez-Sánchez N, Qi X, Vitek L, Arrese M. Evaluating an Outpatient With an Elevated Bilirubin. *Am J Gastroenterol*. 2019, 114: 1.
132. Yousefi R. Bilirubin Assay. *Clin Transpl*. 2016.
133. Fevery J. Bilirubin in clinical practice: a review. *Liver Int*. 2008, 28(5): 592-605.
134. King D, Armstrong MJ. Overview of Gilbert's syndrome. *Drug Ther Bull*. 2019, 57(2): 27-31.
135. Lai Q, Melandro F, Pinheiro RS, Donfrancesco A, Fadel BA, Levi Sandri GB, Rossi M, Berloco PB, Frattaroli FM. Alpha-fetoprotein and novel tumor biomarkers as predictors of hepatocellular carcinoma recurrence after surgery: a brilliant star raises again. *Int J Hepatol*. 2012, 2012: 893103.
136. Bruce MG, Bruden D, McMahon BJ, Christensen C, Homan C, Sullivan D, Deubner H, Williams J, Livingston SE, Gretch D. Clinical significance of elevated alpha-fetoprotein in Alaskan Native patients with chronic hepatitis C. *J Viral Hepat*. 2008, 15(3): 179-87.
137. Haddad E, McAlister V, Renouf E, Malthaner R, Kjaer MS, Gluud LL. Cyclosporin versus tacrolimus for liver transplanted patients. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2006, (4).

138. Zhang Y, Jin W, Cai X. Anti-interleukin-2 receptor antibodies for the prevention of rejection in liver transplant recipients: a systematic review and meta-analysis. *Ann Med.* 2017, 49(5): 365-76.
139. Conti F, Calmus Y, Rouer E, Gaulard P, Louvel A, Houssin D, Zafrani ES. Increased expression of interleukin-4 during liver allograft rejection. *J Hepatol.* 1999, 30(5): 935-43.
140. Wang C, Li J, Cordoba SP, McLeod DJ, Tran GT, Hodgkinson SJ, Hall BM, McCaughan GW, Bishop GA. Posttransplant interleukin-4 treatment converts rat liver allograft tolerance to rejection. *Transplantation.* 2005, 79(9): 1116-20.
141. Tay SS, Plain KM, Bishop GA. Role of IL-4 and Th2 responses in allograft rejection and tolerance. *Curr Opin Organ Transplant.* 2009, 14(1): 16-22.
142. Scheller J, Chalaris A, Schmidt-Arras D, Rose-John S. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochim Biophys Acta.* 2011, 1813(5): 878-88.
143. Taki-Eldin A, Zhou L, Xie HY, Zheng SS. Liver Regeneration after Liver Transplantation. *Eur Surg Res.* 2012, 48(3): 139-53.
144. Scheller J, Chalaris A, Schmidt-Arras D, Rose-John S. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochim Biophys Acta.* 2011, 1813(5): 878-88.
145. Hassan L, Bueno P, Ferron-Celma I, Ramia JM, Garrote D, Muffak K, Barrera L, Villar JM, Garcia-Navarro A, Mansilla A, Gomez-Bravo MA, Bernardos A, Ferron JA. Early postoperative response of cytokines in liver transplant recipients. *Transplant Proc.* 2006, 38(8): 2488-91.
146. Hwang W, Lee J. Pathophysiologic Implications of Cytokines Secretion during Liver Transplantation Surgery. *Int J Med Sci.* 2018, 15(14): 1737-45.
147. Santiago F, Bueno P, Olmedo C, Comino A, Hassan L, Ferrón-Celma I, Muffak K, Serradilla M, Mansilla A, Ramia JM, Villar JM, Garrote D, Ramirez A, Ferrón JA. Time Course of Intraoperative Cytokine Levels in Liver Transplant Recipients. *Transplant Proc.* 2006, 38(8): 2492-4.

148. Cressman DE, Greenbaum LE, DeAngelis RA, Ciliberto G, Furth EE, Poli V, Taub R. Liver failure and defective hepatocyte regeneration in interleukin-6-deficient mice. *Science*. 1996, 274(5291): 1379-83.
149. Remmler J, Schneider C, Treuner-Kaueroff T, Bartels M, Seehofer D, Scholz M, Berg T, Kaiser T. Increased Level of Interleukin 6 Associates With Increased 90-Day and 1-Year Mortality in Patients With End-Stage Liver Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2018, 16(5): 730-7.
150. Fiorentino DF, Zlotnik A, Vieira P, Mosmann TR, Howard M, Moore KW, O'Garra A. IL-10 acts on the antigen-presenting cell to inhibit cytokine production by Th1 cells. *J Immunol*. 1991, 146(10): 3444-51.
151. Rousset F, Garcia E, Defrance T, Péronne C, Vezzio N, Hsu DH, Kastelein R, Moore KW, Banchereau J. Interleukin 10 is a potent growth and differentiation factor for activated human B lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992, 89(5): 1890-3.
152. Yamada Y, Kirillova I, Peschon JJ, Fausto N. Initiation of liver growth by tumor necrosis factor: deficient liver regeneration in mice lacking type I tumor necrosis factor receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997, 94(4): 1441-6.
153. Grenz A, Schenk M, Zipfel A, Viebahn R. TNF-alpha and its receptors mediate graft rejection and loss after liver transplantation. *Clin Chem Lab Med*. 2000, 38(11): 1183-5.
154. Boros P, Suehiro T, Curtiss S, Sheiner P, Emre S, Guy S, Schwartz ME, Miller CM. Differential contribution of graft and recipient to perioperative TNF-alpha, IL-1 beta, IL-6 and IL-8 levels and correlation with early graft function in clinical liver transplantation. *Clin Transplant*. 1997, 11(6): 588-92.
155. Millán O, Rafael-Valdivia L, Torrademé E, López A, Fortuna V, Sánchez-Cabus S, López-Púa Y, Rimola A, Brunet M. Intracellular IFN- γ and IL-2 expression monitoring as surrogate markers of the risk of acute rejection and personal drug response in de novo liver transplant recipients. *Cytokine*. 2013, 61(2): 556-64.
156. Shen K, Zheng SS, Park O, Wang H, Sun Z, Gao B. Activation of innate immunity (NK/IFN-gamma) in rat allogeneic liver transplantation: contribution to liver injury

- and suppression of hepatocyte proliferation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2008, 294(4): G1070-7.
157. Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science.* 2003, 299(5609): 1057-61.
 158. Whitehouse GP, Hope A, Sanchez-Fueyo A. Regulatory T-cell therapy in liver transplantation. *Transpl Int.* 2017, 30(8): 776-84.
 159. Nguyen-Lefebvre AT, Ajith A, Portik-Dobos V, Horuzsko DD, Arbab AS, Dzutsev A, Sadek R, Trinchieri G, Horuzsko A. The innate immune receptor TREM-1 promotes liver injury and fibrosis. *J Clin Invest.* 2018, 128(11): 4870-83.
 160. Colonna M, Facchetti F. TREM-1 (triggering receptor expressed on myeloid cells): a new player in acute inflammatory responses. *J Infect Dis.* 2003, 187 Suppl 2: S397-401.
 161. Sun H, Feng J, Tang L. Function of TREM1 and TREM2 in Liver-Related Diseases. *Cells.* 2020, 9(12).
 162. Wu J, Li J, Salcedo R, Mivechi NF, Trinchieri G, Horuzsko A. The proinflammatory myeloid cell receptor TREM-1 controls Kupffer cell activation and development of hepatocellular carcinoma. *Cancer Res.* 2012, 72(16): 3977-86.
 163. Liao R, Sun TW, Yi Y, Wu H, Li YW, Wang JX, Zhou J, Shi YH, Cheng YF, Qiu SJ, Fan J. Expression of TREM-1 in hepatic stellate cells and prognostic value in hepatitis B-related hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci.* 2012, 103(6): 984-92.
 164. Carosella ED, Favier B, Rouas-Freiss N, Moreau P, Lemaoult J. Beyond the increasing complexity of the immunomodulatory HLA-G molecule. *Blood.* 2008, 111(10): 4862-70.
 165. Riteau B, Rouas-Freiss N, Menier C, Paul P, Dausset J, Carosella ED. HLA-G2, -G3, and -G4 isoforms expressed as nonmature cell surface glycoproteins inhibit NK and antigen-specific CTL cytotoxicity. *J Immunol.* 2001, 166(8): 5018-26.
 166. LeMaoult J, Krawice-Radanne I, Dausset J, Carosella ED. HLA-G1-expressing antigen-presenting cells induce immunosuppressive CD4⁺ T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004, 101(18): 7064-9.

167. Caumartin J, Favier B, Daouya M, Guillard C, Moreau P, Carosella ED, LeMaoult J. Trogocytosis-based generation of suppressive NK cells. *EMBO J.* 2007, 26(5): 1423-33.
168. Liang S, Ristich V, Arase H, Dausset J, Carosella ED, Horuzsko A. Modulation of dendritic cell differentiation by HLA-G and ILT4 requires the IL-6--STAT3 signaling pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008, 105(24): 8357-62.
169. Carosella ED, Moreau P, Le Maoult J, Le Discorde M, Dausset J, Rouas-Freiss N. HLA-G molecules: from maternal-fetal tolerance to tissue acceptance. *Adv Immunol.* 2003, 81: 199-252.
170. Deschaseaux F, Delgado D, Pistoia V, Giuliani M, Morandi F, Durrbach A. HLA-G in organ transplantation: towards clinical applications. *Cell Mol Life Sci.* 2011, 68(3): 397-404.
171. Rebmann V, da Silva Nardi F, Wagner B, Horn PA. HLA-G as a tolerogenic molecule in transplantation and pregnancy. *J Immunol Res.* 2014, 2014: 297073.
172. Carosella ED, Gregori S, Rouas-Freiss N, LeMaoult J, Menier C, Favier B. The role of HLA-G in immunity and hematopoiesis. *Cell Mol Life Sci.* 2011, 68(3): 353-68.
173. Monneret G, Voirin N, Krawice-Radanne I, Bohé J, Lepape A, Rouas-Freiss N, Carosella ED. Soluble human leukocyte antigen-G5 in septic shock: marked and persisting elevation as a predictor of survival. *Crit Care Med.* 2007, 35(8): 1942-7.
174. Korpelainen S, Intke C, Hämäläinen S, Jantunen E, Juutilainen A, Pulkki K. Soluble CD14 as a Diagnostic and Prognostic Biomarker in Hematological Patients with Febrile Neutropenia. *Disease Markers.* 2017, 2017: 9805609.
175. Holt CD. Overview of Immunosuppressive Therapy in Solid Organ Transplantation. *Anesthesiol Clin.* 2017, 35(3): 365-80.
176. Hill P, Cross NB, Barnett AN, Palmer SC, Webster AC. Polyclonal and monoclonal antibodies for induction therapy in kidney transplant recipients. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017, 1(1): CD004759.
177. Plosker GL, Foster RH. Tacrolimus: a further update of its pharmacology and therapeutic use in the management of organ transplantation. *Drugs.* 2000, 59(2): 323-89.

178. Wu Q, Marescaux C, Wolff V, Jeung MY, Kessler R, Lauer V, Chen Y. Tacrolimus-associated posterior reversible encephalopathy syndrome after solid organ transplantation. *Eur Neurol.* 2010, 64(3): 169-77.
179. Sarbassov DD, Ali SM, Sabatini DM. Growing roles for the mTOR pathway. *Curr Opin Cell Biol.* 2005, 17(6): 596-603.
180. Gabardi S, Baroletti SA. Everolimus: a proliferation signal inhibitor with clinical applications in organ transplantation, oncology, and cardiology. *Pharmacotherapy.* 2010, 30(10): 1044-56.
181. Sievers TM, Rossi SJ, Ghobrial RM, Arriola E, Nishimura P, Kawano M, Holt CD. Mycophenolate mofetil. *Pharmacotherapy.* 1997, 17(6): 1178-97.
182. Broen JCA, van Laar JM. Mycophenolate mofetil, azathioprine and tacrolimus: mechanisms in rheumatology. *Nat Rev Rheumatol.* 2020, 16(3): 167-78.
183. Allison AC, Eugui EM. Mycophenolate mofetil and its mechanisms of action. *Immunopharmacology.* 2000, 47(2-3): 85-118.
184. Fairfield C, Penninga L, Powell J, Harrison EM, Wigmore SJ. Glucocorticosteroid-free versus glucocorticosteroid-containing immunosuppression for liver transplanted patients. *Cochrane Database Syst Rev.* 2018, 4(4): CD007606.
185. Di Maira T, Little EC, Berenguer M. Immunosuppression in liver transplant. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2020, 46-47: 101681.
186. Sarıcı KB, Akbulut S, Koç C, Tuncer A, Yılmaz S. Liver transplant versus non-liver transplant patients underwent appendectomy with presumed diagnosis of acute appendicitis: Case-control study. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg.* 2020, 26(5): 705-12.
187. 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(4): 402-8.
188. Siddiqui MB, Patel S, Bhati C, Reichman T, Williams K, Driscoll C, Liptrap E, Rinella ME, Sterling RK, Siddiqui MS. Range of Normal Serum Aminotransferase Levels in Liver Transplant Recipients. *Transplant Proc.* 2019, 51(6): 1895-901.
189. Woo YS, Lee KH, Lee KT, Lee JK, Kim JM, Kwon CHD, Joh J-W, Kang D, Cho J. Postoperative changes of liver enzymes can distinguish between biliary stricture and

- graft rejection after living donor liver transplantation: A longitudinal study. *Medicine*. 2017, 96(40): e6892-e.
190. Siddiqui MB, Patel S, Bhati C, Reichman T, Williams K, Driscoll C, Liptrap E, Rinella ME, Sterling RK, Siddiqui MS. Range of Normal Serum Aminotransferase Levels in Liver Transplant Recipients. *Transplant Proc*. 2019, 51(6): 1895-901.
 191. Behne T, Copur MS. Biomarkers for hepatocellular carcinoma. *Int J Hepatol*. 2012, 2012: 859076.
 192. Yoo T, Lee K-W, Yi N-J, Choi YR, Kim H, Suh S-W, Jeong JH, Lee J-M, Suh K-S. Peri-Transplant Change in AFP Level: a Useful Predictor of Hepatocellular Carcinoma Recurrence Following Liver Transplantation. *J Korean Med Sci*. 2016, 31(7): 1049-54.
 193. Takahashi K, Nagai S, Safwan M, Liang C, Ohkohchi N. Thrombocytopenia after liver transplantation: Should we care? *World J Gastroenterol*. 2018, 24(13): 1386-97.
 194. McCaughan GW, Herkes R, Powers B, Rickard K, Gallagher ND, Thompson JF, Sheil AG. Thrombocytopenia post liver transplantation. Correlations with pre-operative platelet count, blood transfusion requirements, allograft function and outcome. *J Hepatol*. 1992, 16(1-2): 16-22.
 195. Nascimbene A, Iannacone M, Brando B, De Gasperi A. Acute thrombocytopenia after liver transplant: role of platelet activation, thrombopoietin deficiency and response to high dose intravenous IgG treatment. *J Hepatol*. 2007, 47(5): 651-7.
 196. Taylor RM, Bockenstedt P, Su GL, Marrero JA, Pellitier SM, Fontana RJ. Immune thrombocytopenic purpura following liver transplantation: a case series and review of the literature. *Liver Transpl*. 2006, 12(5): 781-91.
 197. Denton A, Davis P. Extreme thrombocytosis in admissions to paediatric intensive care: no requirement for treatment. *Arch Dis Child*. 2007, 92(6): 515-6.
 198. Seth AK, Gunson BK, Mirza DF, Haydon G. Thrombocytosis in liver transplant recipients: prevalence, natural history, and impact. *Liver Transpl*. 2007, 13(11): 1598-602.

199. Park WB, Lee KD, Lee CS, Jang HC, Kim HB, Lee HS, Oh MD, Choe KW. Production of C-reactive protein in Escherichia coli-infected patients with liver dysfunction due to liver cirrhosis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2005, 51(4): 227-30.
200. Du Clos TW. Function of C-reactive protein. *Ann Med*. 2000, 32(4): 274-8.
201. Oweira H, Lahdou I, Daniel V, Opelz G, Schmidt J, Zidan A, Mehrabi A, Sadeghi M. Early post-operative acute phase response in patients with early graft dysfunction is predictive of 6-month and 12-month mortality in liver transplant recipients. *Hum Immunol*. 2016, 77(10): 952-60.
202. An HJ, Jang JW, Bae SH, Choi JY, Yoon SK, Lee MA, You YK, Kim DG, Jung ES. Serum C-reactive protein is a useful biomarker for predicting outcomes after liver transplantation in patients with hepatocellular carcinoma. *Liver Transpl*. 2012, 18(12): 1406-14.
203. Trotter JF, Gillespie BW, Terrault NA, Abecassis MM, Merion RM, Brown RS, Jr., Olthoff KM, Hayashi PH, Berg CL, Fisher RA, Everhart JE. Laboratory test results after living liver donation in the adult-to-adult living donor liver transplantation cohort study. *Liver Transpl*. 2011, 17(4): 409-17.
204. Pirenne J, Pirenne-Noizat F, de Groote D, Vrindts Y, Lopez M, Gathy R, Jacquet N, Meurisse M, Honore P, Franchimont P. Cytokines and organ transplantation. A review. *Nucl Med Biol*. 1994, 21(3): 545-55.
205. Zhang Y, Jin W, Cai X. Anti-interleukin-2 receptor antibodies for the prevention of rejection in liver transplant recipients: a systematic review and meta-analysis. *Ann Med*. 2017, 49(5): 365-76.
206. Chae MS, Moon KU, Chung HS, Park CS, Lee J, Choi JH, Hong SH. Serum interleukin-6 and tumor necrosis factor- α are associated with early graft regeneration after living donor liver transplantation. *PloS one*. 2018, 13(4): e0195262-e.
207. Rosenzweig SD, Holland SM. Defects in the interferon-gamma and interleukin-12 pathways. *Immunol Rev*. 2005, 203: 38-47.
208. Lila N, Amrein C, Guillemain R, Chevalier P, Latremouille C, Fabiani JN, Dausset J, Carosella ED, Carpentier A. Human leukocyte antigen-G expression after heart transplantation is associated with a reduced incidence of rejection. *Circulation*. 2002, 105(16): 1949-54.

209. Baştürk B, Karakayali F, Emiroğlu R, Sözer O, Haberal A, Bal D, Haberal M. Human leukocyte antigen-G, a new parameter in the follow-up of liver transplantation. *Transplant Proc.* 2006, 38(2): 571-4.
210. Le Rond S, Azéma C, Krawice-Radanne I, Durrbach A, Guettier C, Carosella ED, Rouas-Freiss N. Evidence to support the role of HLA-G5 in allograft acceptance through induction of immunosuppressive/ regulatory T cells. *J Immunol.* 2006, 176(5): 3266-76.
211. Blanco-García RM, López-Álvarez MR, Garrido IP, Salgado-Cecilia G, Campillo JA, Bolarín JM, Gimeno L, Muro M, García-Alonso AM, Martínez-Sánchez MV, Bernardo Pisa MV, Soriano-Díaz S, Pascual-Figal DA, Alvarez-López MR, Minguela A. Post-transplant increase in soluble human leukocyte antigen-G associated with non-severe cardiac allograft vasculopathy. *Hum Immunol.* 2013, 74(3): 318-24.
212. Conti F, Calmus Y, Rouer E, Gaulard P, Louvel A, Houssin D, Zafrani ES. Increased expression of interleukin-4 during liver allograft rejection. *J Hepatol.* 1999, 30(5): 935-43.
213. 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(3): 1359.
214. Kita Y, Iwaki Y, Demetris AJ, Starzl TE. Evaluation of sequential serum interleukin-6 levels in liver allograft recipients. *Transplantation.* 1994, 57(7): 1037-41.
215. Bromberg JS. IL-10 immunosuppression in transplantation. *Curr Opin Immunol.* 1995, 7(5): 639-43.
216. Merville P, Lambert C, Durand I, Pouteil-Noble C, Touraine JL, Berthoux F, Banchereau J. High frequency of IL-10-secreting CD4+ graft-infiltrating T lymphocytes in promptly rejected kidney allografts. *Transplantation.* 1995, 59(8): 1113-9.
217. Tesfaigzi Y, Daheshia M. CD14. In: Laurent GJ, Shapiro SD, editors. *Encyclopedia of Respiratory Medicine*, 2th ed. Oxford, Academic Press; 2006: 343-7.

218. Marcos V, Latzin P, Hector A, Sonanini S, Hoffmann F, Lacher M, Koller B, Bufler P, Nicolai T, Hartl D, Griese M. Expression, regulation and clinical significance of soluble and membrane CD14 receptors in pediatric inflammatory lung diseases. *Respir Res.* 2010, 11(1): 32.
219. Al-Kindi SG, Buzkova P, Shitole SG, Reiner AP, Garg PK, Gottdiener JS, Psaty BM, Kizer JR. Soluble CD14 and Risk of Heart Failure and Its Subtypes in Older Adults. *J Card Fail.* 2020, 26(5): 410-9.
220. Bowman ER, Cameron CMA, Avery A, Gabriel J, Kettelhut A, Hecker M, Sontich CU, Tamilselvan B, Nichols CN, Richardson B, Cartwright M, Funderburg NT, Cameron MJ. Levels of Soluble CD14 and Tumor Necrosis Factor Receptors 1 and 2 May Be Predictive of Death in Severe Coronavirus Disease 2019. *J Infect Dis.* 2020, 223(5): 805-10.
221. Qiu DK, Hua J, Li JQ, Li EL. CD14 expression on Kupffer cells during the course of carbon tetrachloride-mediated liver injury. *Chin J Dig Dis.* 2005, 6(3): 137-41.
222. Liu HZ, Li XY, Liu B, Yu M, Ma Y, Chu M, Li K. Tissue Distribution, SNP Detection and Association Study with Immune Traits of Porcine LBP and CD14 Genes. *Asian-Australas J Anim Sci.* 2008, 21.
223. Meuleman P, Steyaert S, Libbrecht L, Couvent S, Van Houtte F, Clinckspoor F, de Hemptinne B, Roskams T, Vanlandschoot P, Leroux-Roels G. Human hepatocytes secrete soluble CD14, a process not directly influenced by HBV and HCV infection. *Clin Chim Acta.* 2006, 366(1-2): 156-62.
224. Ogawa Y, Imajo K, Yoneda M, Kessoku T, Tomeno W, Shinohara Y, Kato S, Mawatari H, Nozaki Y, Fujita K, Kirikoshi H, Maeda S, Saito S, Wada K, Nakajima A. Soluble CD14 levels reflect liver inflammation in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *PloS one.* 2013, 8(6): e65211.
225. Baki A, Abd el Azeem E, Ezz M. CD14 and TIMP-1 as predictive biomarkers of extensive liver fibrosis in Egyptian HCV-patients. *Int J Biol Sci.* 2017, 10.
226. Zuo GQ, Gong JP, Liu CA, Li SW, Wu XC, Yang K, Li Y. Expression of lipopolysaccharide binding protein and its receptor CD14 in experimental alcoholic liver disease. *World J Gastroenterol.* 2001, 7(6): 836-40.

227. Gómez-Rial J, Currás-Tuala MJ, Rivero-Calle I, Gómez-Carballa A, Cebey-López M, Rodríguez-Tenreiro C, Dacosta-Urbieto A, Rivero-Velasco C, Rodríguez-Núñez N, Trastoy-Pena R, Rodríguez-García J, Salas A, Martín-Torres F. Increased Serum Levels of sCD14 and sCD163 Indicate a Preponderant Role for Monocytes in COVID-19 Immunopathology. *Front Immunol*. 2020, 11.
228. Ford JW, McVicar DW. TREM and TREM-like receptors in inflammation and disease. *Curr Opin Immunol*. 2009, 21(1): 38-46.
229. Tammaro A, Derive M, Gibot S, Leemans JC, Florquin S, Dessing MC. TREM-1 and its potential ligands in non-infectious diseases: from biology to clinical perspectives. *Pharmacol Ther*. 2017, 177: 81-95.
230. Chen Q, Zhou H, Wu S, Wang H, Lv C, Cheng B, Xie G, Fang X. Lack of association between TREM-1 gene polymorphisms and severe sepsis in a Chinese Han population. *Hum Immunol*. 2008, 69(3): 220-6.
231. Tammaro A, Kers J, Emal D, Stroo I, Teske G, Butter L, Claessen N, Damman J, Derive M, Navis G, Florquin S, Leemans J, Dessing M. Effect of TREM-1 blockade and single nucleotide variants in experimental renal injury and kidney transplantation. *Sci Rep*. 2016, 6: 38275.
232. Nguyen-Lefebvre AT, Ajith A, Portik-Dobos V, Horuzsko DD, Arbab AS, Dzutsev A, Sadek R, Trinchieri G, Horuzsko A. The innate immune receptor TREM-1 promotes liver injury and fibrosis. *J Clin Invest*. 2018, 128(11): 4870-83.
233. Wan YY, Flavell RA. Regulatory T-cell functions are subverted and converted owing to attenuated Foxp3 expression. *Nature*. 2007, 445(7129): 766-70.
234. Bunnag S, Allanach K, Jhangri GS, Sis B, Einecke G, Mengel M, Mueller TF, Halloran PF. FOXP3 expression in human kidney transplant biopsies is associated with rejection and time post transplant but not with favorable outcomes. *AM J Transplant*. 2008, 8(7): 1423-33.
235. Noor MT, Manoria P. Immune Dysfunction in Cirrhosis. *J Clin Transl Hepatol*. 2017, 5(1): 50-8.
236. Albillos A, Lario M, Álvarez-Mon M. Cirrhosis-associated immune dysfunction: distinctive features and clinical relevance. *J Hepatol*. 2014, 61(6): 1385-96.

EKLER

EK-1. ETİK KURUL KARARI





EK-2. HASTA BİLGİLENDİRME FORMU

MALATYA KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ ONAM FORMU

ARAŞTIRMAYA KATILMA ONAYI

Bilgilendirilmiş gönüllü olur formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi biliyorum.

Bu koşullarda söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.

GÖNÜLLÜ		İMZASI:
ADI-SOYADI		
ADRES		
TELEFON		
TARİH		

ARAŞTIRMAYA KATILMA ONAYI

Bilgilendirilmiş gönüllü olur formundaki tüm açıklamaları okudum ve çocuğuma anlayacağı şekilde açıkladım. Çocuğumun araştırmadan istediği zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilceğini biliyorum. Çocuğumun Anne/ Baba veya yasal vasi (kanuni temsilci) olarak araştırmaya gönüllü olarak katılmasına hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla kabul ediyorum.

VELİ/ VASİ (Varsa)		İMZASI:
ADI-SOYADI		
ADRES		
TELEFON		
TARİH		

ARAŞTIRMAYA KATILMA ONAYI

Bilgilendirilmiş gönüllü olur formundaki tüm açıklamaları okudum ve çocuğuma anlayacağı şekilde açıkladım. Çocuğumun araştırmadan istediği zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilceğini biliyorum. Çocuğumun Anne/ Baba veya yasal vasi (kanuni temsilci) olarak araştırmaya gönüllü olarak katılmasına hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla kabul ediyorum.

EK-3. HASTALARIN GEÇİRMİŞ OLDUĞU ENFEKSİYON TABLOSU

Hasta No	Ameliyat anı	İlk 1 aylık dönem	2.-6. aylar arası dönem
1	- <i>Klebsiella pnemonia</i> (Balgam)		
2			- <i>Pseudomonas</i> (İdrar) - <i>Candida</i> (İdrar) - <i>Candida +Staphylococcus epidimis</i> (İdrar)
3			
4	- <i>Streptococcus mitis</i>		
5	-Kok görüldü (Balgam)		
6			- <i>Acinobacter baumani</i> - <i>Candida keyfr</i> (İdrar)
7	- <i>Escherichia coli</i>		
8			
9			
10	- <i>Staphylococcus</i>	- <i>Escherichia coli</i> (İdrar) - <i>Escherichia coli</i> (İdrar)	
11	- <i>Candida</i> (İdrar)		
12			
13		- <i>Klebsiella pnemonia</i> (İdrar)	
14		- <i>Proteus mirabilis</i> (Yara) - <i>Staphiylococcus aureus</i> (Abse kültürü) - Basil (İdrar) - <i>Staphylococcus homini</i> (Kan)	

EK-4. ÖZGEÇMİŞ

