



9. ULUSAL TİGED KONGRESİ

18-21 NİSAN 2024, ANTALYA



Transplant alıcılarında CPRA uygulamasına yönelik bir çalışma: tek merkez deneyimi



Prof.Dr. Uğur MUŞABAK

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

Doku Tipleme Laboratuvarı

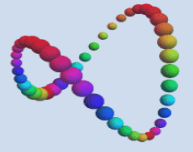
06490, Bahçelievler, Ankara

Tel: +90 312 203 68 68

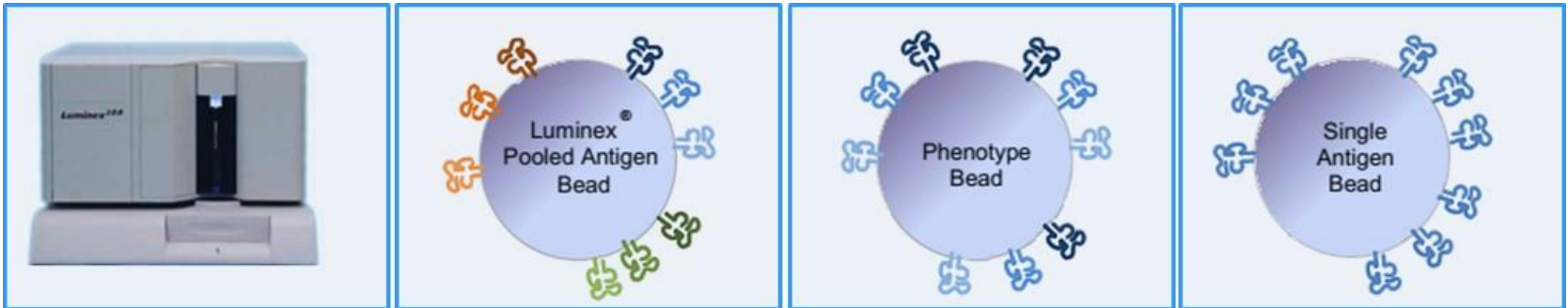
E-posta: umusabak@hotmail.com

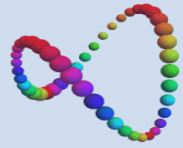
$$cPRA=1-(1-\Sigma pi)^2$$

Panel reaktif antikorlar (PRA)



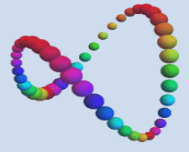
- **PRA** (Panel Reaktif Antikor) **böbrek** nakli bekleyen **adayların** HLA antijenlerine karşı **duyarlılık derecesidir** ve **%0** ila **%100** arasında bir değerdir.
- Hastalar **hiçbir zaman %100 PRA'**ya sahip değildir. Çünkü self HLA antijenlerine karşı antikor üretilmez!...
- **PRA** değerini **saptamak** için kullanılan **ticari kitler** belli bir toplumun **HLA profilini** taşıdığından, bu kitlerle **başka** bir toplumda ölçülen **PRA** değerleri **düzeltilmelidir**. **cPRA**





- PRA ile bir **hastanın** doku veya organ **nakli olamayacağı HLA antijenler** belirlenir. Bu nedenle hasta seçiminde HLA doku tipi uyumundan sonra ikinci sırada PRA gelir.
- **PRA** oranı **yüksek** olan hasta **cross-match** negatif bir organ bulunduğunda, PRA oranı düşük ve HLA uyumlu bir hastadan daha **öncelikli** olması gerekir!...
- Bunun **nedeni** PRA pozitifliği olan hastanın tekrar **cross-match negatif** bir organ bulma **şansının düşük** olmasıdır.
- PRA (+) hastalara bekleme listelerinde **ilave puan** verilmeli!...
- PRA'nın bir diğer önemi de hastayı muhtemel bir organ naklinde sanal cross-match (sanal PRA) imkânı tanıyarak nakil için hazır tutmasıdır.

Organ tahsis sistemleri (USA)



- Uyumlu donör bulma güçlüğü nedeniyle 2009 öncesinde ABD Ulusal Böbrek Tahsis Sisteminde (KAS), duyarlı adaylara HLA-A, -B ve -DR uyumlu (0 antijen uyumsuz) kadavra böbreklerin tahsisi için öncelik verilmesi zorunlu kılınmış, organ dağıtımında PRA>% 80 olan adaylara 4 ilave puan verilmiştir.
- Böylelikle nakil merkezleri tarafından hastalar için kabul edilemez HLA antijenleri PRA neticelerine göre belirlenerek ulusal kayıt sistemine girilmeye başlanmıştır.
- **Mikroboncuk panellerinin** yüzeylerine kaplanan **HLA** antijenleri bu testleri kullanan toplumun genelini yansıtmadığından, bu engeli aşmak üzere **UNOS** tarafından “etnik farklılıklar gözetilerek” **cPRA** yazılımı geliştirilmiştir.

Organ tahsis sistemleri (USA)

$$= \frac{2\pi}{8} \int_0^{\sqrt{2}} x \sqrt{1 + (2x)^2} dx$$
$$= \frac{2\pi}{8} \int_0^{\sqrt{2}} (1 + 4x^2)^{1/2} dx$$

- **CPRA**, bekleme listesinde kayıtlı organ nakli bekleyen (**böbrek, böbrek-pankreas, pankreas**) hastalar için hesaplanır ve ...
- Bir aday için “o toplumda” **kabul edilemez HLA antijenlerine** sahip olması beklenen **donörlerin yüzdesini** ifade eder. (Bekleme listesine kabul edilemez antijen girilmezse, CPRA değeri varsayılan olarak 0 olur). **cPRA=1- (1-Σpi)²**
- **2009** yılında Organ Tedarik ve Transplantasyon Ağı (**OPTN**) böbrek tahsis politikasını değiştirmiş ve **4 ek tahsis puanını** sadece **cPRA>%80** olduğunda verilmeye başlanmıştır.
- Böylelikle, bekleme listesinde bulunan **aday duyarlılığının raporlanmasında** belli bir **standardizasyon** sağlanmış ve böbrek tahsisinde **verimlilik** artmıştır.

Organ Procurement and Transplantation Network

OPTN

CPRA Calculator - Legacy

[Home](#) » [Resources](#) » [Allocation Calculators](#) » [CPRA Calculator](#) » CPRA Calculator - Legacy

Patient Safety

Allocation Calculators

[CPRA Calculator](#)[EPTS Calculator](#)[KDPI Calculator](#)[LAS Calculator](#)[MELD Calculator](#)[PELD Calculator](#)

By Organ

[Kidney & Pancreas](#)[Liver & Intestine](#)[Heart & Lung](#)[Vascular Composite](#)

This calculator uses the same formula as the UNetSM computer system. UNet is the computer system used by the transplant center to calculate kidney, pancreas, and kidney/pancreas allocation scores for candidates in need of a transplant.

This calculator produces a value based on the unacceptable antigens entered below. If you are a transplant candidate, and have questions regarding the value generated by this calculator, please contact your transplant coordinator.

About CPRA

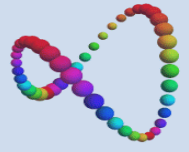
The CPRA is used in kidney and pancreas allocation as a measure of sensitization level.

[Learn more](#)

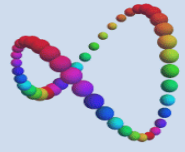
i The actual CPRA provided to a candidate is calculated by UNet based solely on the unacceptable antigens that are entered by the transplant center for that candidate. The value produced by the CPRA Calculator on this Web site is for your informational use only.

Check all A unacceptable antigens:

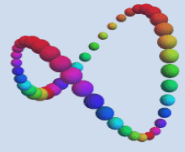
☐ 1	☐ 01:01	☐ 01:02	☐ 2	☐ 02:01	☐ 02:02
☐ 02:03	☐ 02:05	☐ 02:06	☐ 02:07	☐ 02:10	☐ 02:18
☐ 3	☐ 03:01	☐ 03:02	☐ 9	☐ 10	☐ 11
☐ 11:01	☐ 11:02	☐ 19	☐ 23	☐ 24	☐ 24:02



- **Eurotransplant** → %85 ve üzeri **PRA** değerine sahip olan hastalar **yüksek** oranda **duyarlı** hastalar olarak **tanımlanmış**, ancak aynı serumun %PRA değerinin farklı laboratuvarlar arasında %5-80 değişiklik gösterdiği açıklanmıştır.
- PRA (+) hastalarda XM (–) organ teklifi açısından dezavantajın önüne geçmek için 1996'da ET böbrek tahsis sistemine "uyumsuzluk olasılığı" kavramı eklenmiş. Buna göre
- Alıcı-donör HLA tiplemesi, kan grupları ve alıcının PRA'sı belirlenerek, alıcının sunulan böbreği en iyi uyumla (0-1 HLA-ABDR mm) teklifi alma olasılığı hesaplanır.
- 0 HLA-ABDR "uyumsuzluk olasılığı" yüksek olan böbrek, 400 puan alarak böbrek tahsisi sırasına girer. Bekleme süresi için yılda 32,85 puan verilir. Ancak...



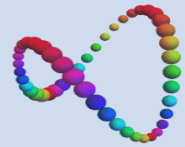
- PRA değerleri %**85**'i aşan **yüksek** oranda **duyarlı** nakil adaylar için tamamen/uyumlu bir donör bulma olasılığı çok düşüktür; uzun bekleme süresi ve hastaların listede birikmesi
- Bu engeli aşmak için **acceptable mismatch (AM)** programı geliştirilmiştir. Buna göre hastanın **kendi HLA** antijenleri yanında **CDC-PRA** yöntemiyle (**1995-2005** arası) **reaksiyon vermediği diğer antijenler** de kabul edilebilir sayılmıştır.
- **AM programına** dahil edilmek için geçerli uygunluk **kriterleri**:
 - ⊕ **ETKAS** (Eurotransplant Böbrek Tahsis Sistemi) bekleme listesinde az **≥ 2 yıllık** bekleme süresi olmalı
 - ⊕ En az iki tarihte **CDC-PRA** veya **cPRA** (2016---) **>% 85** olmalı.
 - ⊕ Hastaların **HLA-A, B, C** ve **DR, DQ** tiplendirmesi yapılmalıdır.



- **2016** yılından sonra **ET böbrek tahsis** sisteminde hastalarda duyarlılığın daha güvenilir ve daha standart göstergesi olan **cPRA/sanal PRA** kullanılmaya başlanmış ve puan verilmiştir.
- **Sensitizasyon derecesini** tanımlamanın **en iyi** şekli CPRA uygulamasıdır: belli bir popülasyonda **alıcılar** için **kabul edilemez antijenleri** ifade eden (**taşıyan**) gerçek organ bağışçılarının **yüzdesini** verir.
- Yapılan çalışmalarda da v/cPRA uzun süreli **greft sağ kalımı** bakımından pPRA' ve aPRA'dan daha değerli bulunmuştur.

Allocation to highly sensitized patients based on acceptable mismatches results in low rejection rates comparable to nonsensitized patients

Eurotransplant Reference Laboratory, Leiden University Medical Center, Leiden, the Netherlands



Allocation to highly sensitized patients based on acceptable mismatches results in low rejection rates comparable to nonsensitized patients

Eurotransplant Reference Laboratory, Leiden University Medical Center, Leiden, the Netherlands

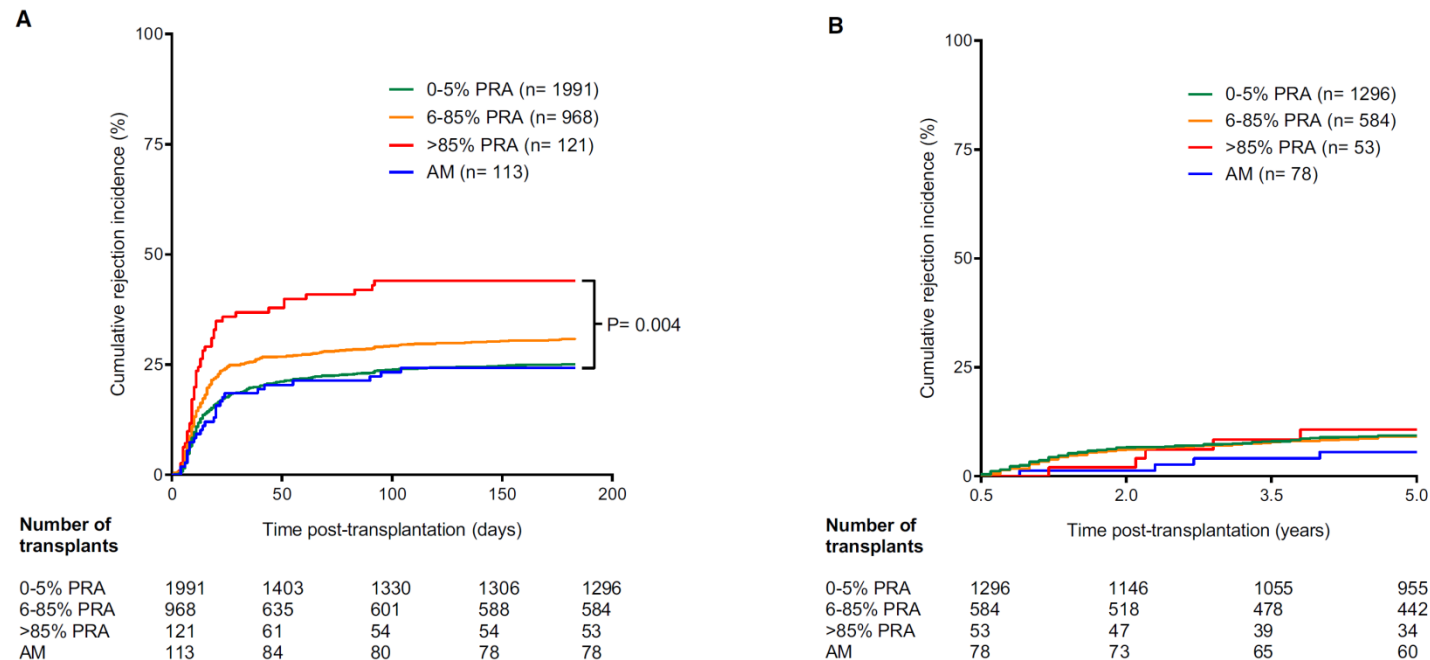
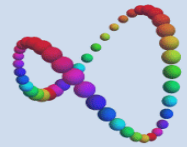


FIGURE 1 A, Comparison of 6-month cumulative rejection incidence between patients transplanted through the acceptable mismatch (AM) program or through the Eurotransplant Kidney Allocation System (ETKAS). B, Comparison of 5-year cumulative rejection incidence between patients transplanted through the AM program or through ETKAS, for which rejection incidence was set at zero on 6 months. The ETKAS patients are subdivided based on their sensitization grade: 0% to 5% peak PRA: nonsensitized; 6% to 85% peak PRA: intermediately sensitized; and >85% peak PRA: highly sensitized. *P* value calculated with log-rank test and corrected for multiple comparisons



[Home](#)

[News](#)

[Newsletter](#)

[Services](#)

[Acceptable Mismatch Program](#)

[External Proficiency Testing](#)

[Extra Mural Meetings](#)

[Recommendations](#)

[References](#)

[Contact](#)

[Links](#)

[Documents](#)

Eurotransplant Reference Laboratory

[Home](#) » [Acceptable Mismatch Program](#)

Acceptable Mismatch Program (AM)

The AM program is conducted by the ETRL. The AM program is open for every highly sensitized patient awaiting a kidney transplant of any of the countries participating in Eurotransplant.

Eligibility of a recipient for the AM program

For eligibility see Eurotransplant manual chapter 10.5.1 and 10.5.2. If help is needed to determine whether a recipient is a potential candidate, please contact us, preferably by e mail

etrl.am@eurotransplant.org

Submission of requests for the AM program

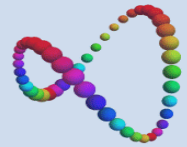
Before submitting a patient into the AM program, please check the following:

- Recipients must be on dialysis for a minimum of two years.
- Recipients must be on a transplantable status
- Recipients must be fully typed for HLA A,B,C, DR and DQ both on broad and split level.

If these criteria are not met, requests are not taken into account.

Submitting a patient: !... <http://eurotransplant.nl/cms/index.php>

Organ tahsis sistemleri (EU)



Eurotransplant Reference Laboratory
Virtual PRA Calculator



[Information](#)

Unacceptable antigens:

A24, B35, DR4

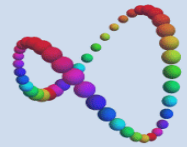
Unacceptable antigens can only be entered divided by a space or a comma.

Calculate VPRA

Clear

Frequency of donors within the Eurotransplant area harbouring unacceptable antigens:

50,180% (5018 out of 10000, ETRL HLA database version 3.0)



- **AM** programına **2001** yılı sonrasında **HLA Matchmaker** adı verilen ve **epitop** seviyesinde **eşleşme** yapan yeni bir **bilgisayar algoritması** geliştirilmiştir. Bu program, immünolojik riski uyumsuz **triplet-eplet**'lerin sayısına göre belirler; Ag'ne göre değil, **epitoplara** özgü Ab'lar dokümente edilir.
- HLA molekülü **epitop** adı verilen daha küçük parçacıklardan oluşur ve epitoplar polimorfik amino asit dizileri olan **triplet-eplet**'lerden meydana gelir.
- **Bir antikor, aynı eplete sahip** moleküller için **farklı MFI** değerleri verebilir. Bu, o molekülün **aminoasit dizisinin**, **3D** yapısının, **pozisyonunun** ve **elektrik yükünün** farklılığından kaynaklanır. Böylelikle peptide bağımlı anti-HLA Ab kavramı!...

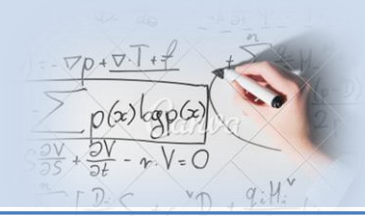
Ulusal böbrek tahsisi puanlama tablosu (T)

■ Ulusal organ ve doku nakli koordinasyon sistemi yönergesi

EK: 7 Kadavradan böbrek dağıtımı puanlama tablosu

DEĞERLENDİRME KRİTERİ		PUAN
Doku Uyumu		Tam uyum (2A 2B 2DR uyumu) durumunda şarta bağlı olmaksızın alıcının olduğu yere gider Tam uyum dışındaki durumlarda uyumlu her DR antijeni için 150, B antijeni için antijeni için 5 puan verilir.
Vericinin çıktığı bölge		1000
Vericinin çıktığı merkez		250
Alıcı yaş grubu	11 yaş altı	Doku uyumu puanı X 2.5
	12-17 yaş	Doku uyumu puanı X 1.5
	18 yaş ve üzeri	Doku uyumu puanı X 1
Diyalize girme süresi		Her ay için 3 puan

Calculated PRA (cPRA) uygulaması



- Bu çalışmanın amacı **cPRA uygulaması geliştirmek** ve **hesaplanan değerlerin** kitlerden elde edilen **gerçek hasta verileriyle** uyumluluğunu ortaya koymaktır. Bu amaçla ...
- Başkent Ün. DTL veri tabanına kayıtlı **1050 donör** adayının HLA verileri kullanıldı. Alıcıların **akraba olmayan** donör adaylarının **HLA tipleri Arlequin** yazılımına girilerek popülasyonu temsil eden **HLA alel ve haplotip (1-2-3 lokus) frekansları** çıkarıldı.
- Böbrek nakli bekleyen **alıcıların duyarlılık** düzeyleri, Luminex ile uyumlu **PRA tarama** ve **SA** testleri kullanılarak tespit edildi.
- Bu testlerden alıcılar için reddedilme riski taşıyan **kabul edilemez HLA** antijenleri belirlendi.
- **Kabul edilemez HLA** antijenlerine sahip olması beklenen donörlerin yüzdesini hesaplamak için **CPRA** formülü kullanıldı.

Calculated PRA (cPRA) uygulaması

$$\begin{aligned} &= 2\pi \int_0^{\sqrt{2}} x \sqrt{1 + (2x)^2} dx \\ &= \frac{2\pi}{8} \int_0^{\sqrt{2}} (1 + 4x^2)^{1/2} (8x) dx \end{aligned}$$

- Bu yaklaşımda **CPRA** değerinin hesaplanması için
 - ⊕ Popülasyon genetiğinin temel prensiplerine dayalı yöntemler (Hardy-Weinberg kuralı) kullanılarak **donör** havuzunda **kayıtlı** adaylarının **HLA** gen (1-2-3-4-5 lokus) **frekansları** tespit edilir. [bu amaçla **yöntem** olarak **maksimum olasılık tahmini** (MLE) kullanılır: **analizler** genetik algoritmalar veya **EM** algoritması ile yapılır. **Arlequin** yazılımı!...] ...
 - ⊕ Hastaların (**alıcı**) **anti-HLA antikor** profili çıkarılır (PRA, LSA) ve kabul edilemez antijenler belirlenir. Bundan sonra
 - ⊕ **CPRA hesaplanır**. Popülasyonda bir karakteri belirleyen **farklı allellerin** frekansları toplamı 1'e eşittir. **p+q=1** (gen frekansı). Popülasyondaki bir karakteri belirleyen **farklı genotipteki** bireylerin frekansları toplamı da 1'e eşittir. **(p+q)²=1**.

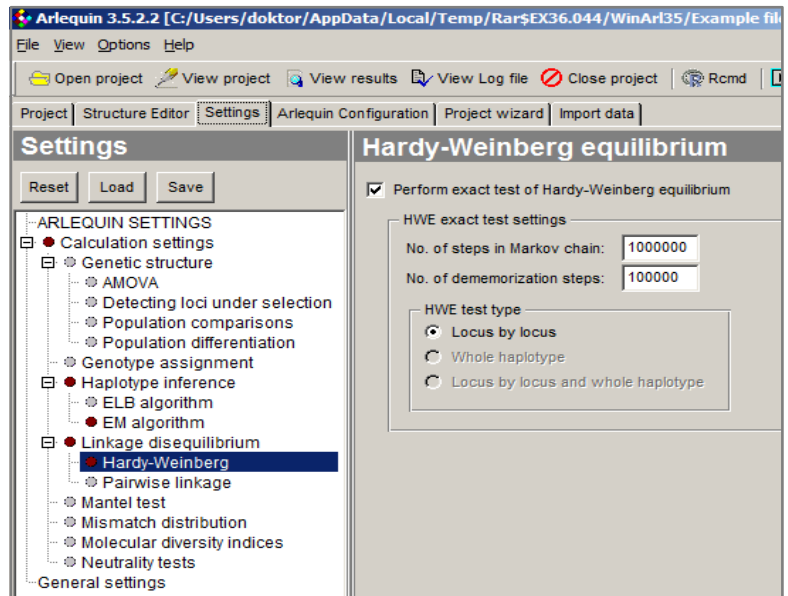
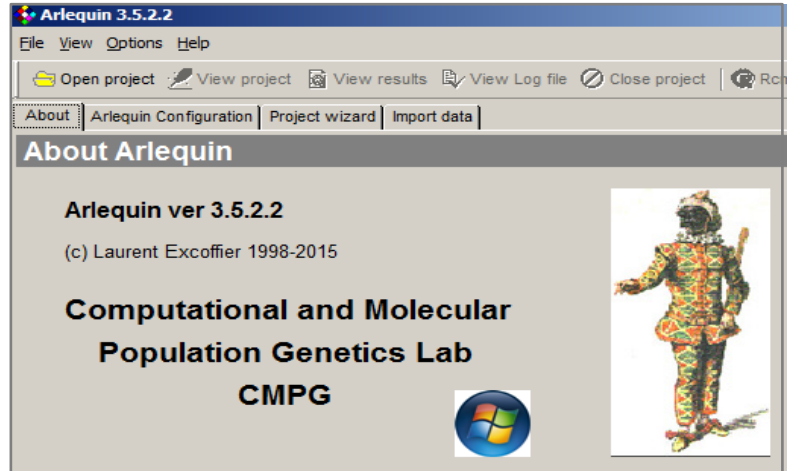
Arlequin ile HLA alel ve haplotip analizi



```

2 #Project file created by Arlequin
3 #####
4
5 # (symbol # is used to comment what follows on a line)
6
7 [Profile]
8   NbSamples=1
9   DataType=STANDARD # - {DNA, RFLP, MICROSAT, STANDARD, FREQUENCY}
10  GenotypicData=1 # - {0, 1}
11  GameticPhase=0 # - {0, 1}
12  LocusSeparator=WHITESPACE # - {TAB, WHITESPACE, NONE}
13  RecessiveData=0 # - {0, 1}
14  MissingData='?' # A single character specifying missing data
15  # Some advanced settings the experienced user can uncomment
16  Frequency=ABS # - {ABS, REL}
17  FrequencyThreshold= 1.0e-5 # -
18  EpsilonValue= 1.0e-7 # -
19
20 [Data] (Any real number, usually between 1.0e-7 and 1.e-3)
21 (Any real number, usually between 1.0e-12 and 1.0e-5)
22
23 SampleName="(HLA-A_HLA-B_HLA-C_HLA-DQ_HLA-DR)"
24 SampleSize=180
25 SampleData={
26
27   2012-32 1 HLA-A*02 HLA-B*40 HLA-C*02 HLA-DQ*05 HLA-DR*14
28           HLA-A*32 HLA-B*52 HLA-C*12 HLA-DQ*06 HLA-DR*15
29
30   2014-708 1 HLA-A*01 HLA-B*44 HLA-C*12 HLA-DQ*03 HLA-DR*11
31            HLA-A*02 HLA-B*52 HLA-C*16 HLA-DQ*06 HLA-DR*15
32
33   2012-15 1 HLA-A*02 HLA-B*13 HLA-C*04 HLA-DQ*03 HLA-DR*11
34            HLA-A*32 HLA-B*35 HLA-C*06 HLA-DQ*03 HLA-DR*12
35
36   2012-487 1 HLA-A*02 HLA-B*14 HLA-C*06 HLA-DQ*02 HLA-DR*03
37            HLA-A*68 HLA-B*50 HLA-C*08 HLA-DQ*02 HLA-DR*07
38
39   2013-159 1 HLA-A*11 HLA-B*35 HLA-C*04 HLA-DQ*03 HLA-DR*11
40            HLA-A*26 HLA-B*51 HLA-C*07 HLA-DQ*03 HLA-DR*13
41
42   2012-421 1 HLA-A*01 HLA-B*35 HLA-C*04 HLA-DQ*05 HLA-DR*01
43            HLA-A*03 HLA-B*52 HLA-C*12 HLA-DQ*06 HLA-DR*13
44
45 =====
46 == Sample : A sample of 99 tested for HLA (DRB1-DQB1)
47 =====
48 == Haplotypes frequency estimation : (A sample of 99 Algerian tested for HLA
49                                     (DRB1-DQB1))
50 =====
51 == Hardy-Weinberg equilibrium : (A sample of 99 tested for HLA (DRB1-DQB1))
52 =====
53
54 Exact test using a Markov chain (for all Loci):
55 Forecasted chain length :1000000
56 Dememorization steps :100000
57
58 =====
59 Locus #Genot Obs.Het. Exp.Het. P-value s.d. Steps done
60 -----
61 1 99 0.91919 0.93216 0.04470 0.00009 1001000
62 2 99 0.80808 0.84346 0.01278 0.00007 1001000
63 =====

```



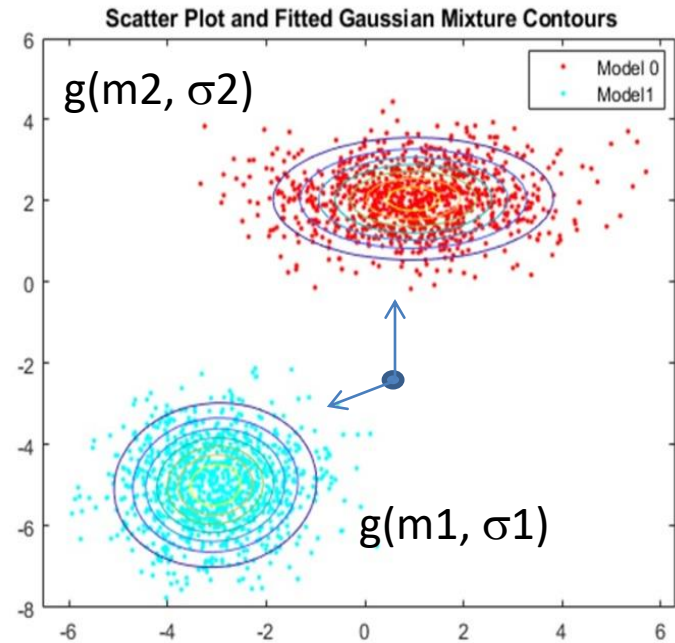
- **EM algoritması beklenti maksimizasyonu (expectation maximization):** verilerin tamamlanmamış olması durumunda maksimum olasılık tahmini (**maximum likelihood estimation**) yapabilen genel bir istatistiksel yöntemdir.
- Bu nedenle son yıllarda birçok araştırmada kullanılan popüler bir yaklaşım olmuştur.
- Bir objenin hangi kümeye ait olduğunu belirlemede **kesin ölçütler** yerine **tahminsel ölçütler** kullanmayı tercih eder.
- Bu yöntemde tam olmayan veya **kayıp** olan **veri** problemlerini çözmek için **tekrarlı** bir **algoritma** kullanır.
- Her tekrar 2 adım içerir: bekleneni bulma (**E-Adımı**) ve maksimizasyon (**M Adımı**).

Arlequin ile HLA alel ve haplotip analizi



- **E-adımı:** gözlenen verilerin parametrelerine ait kestirimler kullanılarak, kayıp veri ile ilgili en iyi olasılıklar tahmin edilir.
- **M-Adımı:** tahmin edilen kayıp veri yerine konulup bütün veri üzerinden maksimum olabilirlik hesaplanarak parametrelerin yeni kestirimleri elde edilir.
- Bu adımlar belirli bir **epsilon** kriteri sağlanana ya da maksimum **iterasyon sayısına** ulaşılan kadar tekrarlanır.

EM algoritması her bir nesnenin her bir kümeye olan üyeliğini bir olasılık değerine göre belirler. Diğer bir deyişle kümeler arası kesin bir sınır yoktur.



Arlequin ile HLA alel ve haplotip analizi



■ Donör grubunda en sık görülen aleller (1 lokus)

- ⊕ HLA-A*02 (0,21449),
- ⊕ HLA-B*35 (0,19399),
- ⊕ HLA-DRB1*11 (0,21163).

■ Donör grubunda en sık görülen haplotipler (2 lokus)

- ⊕ HLA-A*24-HLA-B*15 (0,003623),
- ⊕ HLA-A*25-HLA-DRB1*03 (0,000953),
- ⊕ HLA-B*35-HLA-DRB1*11 (0,056636).

■ Donör grubunda en sık görülen haplotipler (3 lokus)

- ⊕ HLA-A*24-HLA-B*35-HLA-DRB1*11 (0,02052).

Arlequin ile HLA alel ve haplotip analizi



■ Donör haplotip frekansları (A-B-DR: **1 lokus**): Arlequin yazılımı kullanılarak hesaplandı.

Maximum-likelihood haplotype frequencies :

Total number of possible haplotypes :
Minimum frequency to reach for output :

#	Haplotype	Freq.	s.d.	
1	UNKNOWN	0.109628	0.000000	HLA-A01
2	UNKNOWN	0.214490	0.000000	HLA-A02
3	UNKNOWN	0.128694	0.000000	HLA-A03
4	UNKNOWN	0.000477	0.000000	HLA-A07
5	UNKNOWN	0.068637	0.000000	HLA-A11
6	UNKNOWN	0.000477	0.000000	HLA-A14
7	UNKNOWN	0.028599	0.000000	HLA-A23
8	UNKNOWN	0.167779	0.000000	HLA-A24
9	UNKNOWN	0.006196	0.000000	HLA-A25
10	UNKNOWN	0.051478	0.000000	HLA-A26
11	UNKNOWN	0.023832	0.000000	HLA-A29
12	UNKNOWN	0.044328	0.000000	HLA-A30
13	UNKNOWN	0.016683	0.000000	HLA-A31
14	UNKNOWN	0.038608	0.000000	HLA-A32
15	UNKNOWN	0.033365	0.000000	HLA-A33
16	UNKNOWN	0.000477	0.000000	HLA-A34
17	UNKNOWN	0.001907	0.000000	HLA-A35
18	UNKNOWN	0.000477	0.000000	HLA-A49
19	UNKNOWN	0.008103	0.000000	HLA-A66
20	UNKNOWN	0.046235	0.000000	HLA-A68
21	UNKNOWN	0.009056	0.000000	HLA-A69
22	UNKNOWN	0.000477	0.000000	HLA-A74

Maximum-likelihood haplotype frequencies :

Total number of possible haplotypes :
Minimum frequency to reach for output :

#	Haplotype	Freq.	s.d.	
1	UNKNOWN	0.040038	0.000000	HLA-B07
2	UNKNOWN	0.039561	0.000000	HLA-B08
3	UNKNOWN	0.036225	0.000000	HLA-B13
4	UNKNOWN	0.024786	0.000000	HLA-B14
5	UNKNOWN	0.038608	0.000000	HLA-B15
6	UNKNOWN	0.054337	0.000000	HLA-B18
7	UNKNOWN	0.000477	0.000000	HLA-B25
8	UNKNOWN	0.024309	0.000000	HLA-B27
9	UNKNOWN	0.193994	0.000000	HLA-B35
10	UNKNOWN	0.009533	0.000000	HLA-B37
11	UNKNOWN	0.045758	0.000000	HLA-B38
12	UNKNOWN	0.012869	0.000000	HLA-B39
13	UNKNOWN	0.037655	0.000000	HLA-B40
14	UNKNOWN	0.026692	0.000000	HLA-B41
15	UNKNOWN	0.000477	0.000000	HLA-B42
16	UNKNOWN	0.069113	0.000000	HLA-B44
17	UNKNOWN	0.004290	0.000000	HLA-B45
18	UNKNOWN	0.000953	0.000000	HLA-B46
19	UNKNOWN	0.002860	0.000000	HLA-B47
20	UNKNOWN	0.004290	0.000000	HLA-B48
21	UNKNOWN	0.041945	0.000000	HLA-B49
22	UNKNOWN	0.034795	0.000000	HLA-B50
23	UNKNOWN	0.153003	0.000000	HLA-B51
24	UNKNOWN	0.031459	0.000000	HLA-B52
25	UNKNOWN	0.005720	0.000000	HLA-B53
26	UNKNOWN	0.000477	0.000000	HLA-B54
27	UNKNOWN	0.023832	0.000000	HLA-B55
28	UNKNOWN	0.002383	0.000000	HLA-B56
29	UNKNOWN	0.019066	0.000000	HLA-B57
30	UNKNOWN	0.019066	0.000000	HLA-B58
31	UNKNOWN	0.001430	0.000000	HLA-B73

Maximum-likelihood haplotype frequencies :

Total number of possible haplotypes :
Minimum frequency to reach for output :

#	Haplotype	Freq.	s.d.	
1	UNKNOWN	0.064824	0.000000	HLA-DR01
2	UNKNOWN	0.000477	0.000000	HLA-DR02
3	UNKNOWN	0.092946	0.000000	HLA-DR03
4	UNKNOWN	0.187798	0.000000	HLA-DR04
5	UNKNOWN	0.086749	0.000000	HLA-DR07
6	UNKNOWN	0.023356	0.000000	HLA-DR08
7	UNKNOWN	0.011439	0.000000	HLA-DR09
8	UNKNOWN	0.018112	0.000000	HLA-DR10
9	UNKNOWN	0.211630	0.000000	HLA-DR11
10	UNKNOWN	0.014776	0.000000	HLA-DR12
11	UNKNOWN	0.101049	0.000000	HLA-DR13
12	UNKNOWN	0.059104	0.000000	HLA-DR14
13	UNKNOWN	0.091992	0.000000	HLA-DR15
14	UNKNOWN	0.035748	0.000000	HLA-DR16

Arlequin ile HLA alel ve haplotip analizi



Donör haplotip frekansları (A-B-DR: 2 lokus): Arlequin yazılımı kullanılarak hesaplandı.

Maximum-likelihood haplotype frequencies :

Total number of possible haplotypes :
Minimum frequency to reach for output :

#	Haplotype	Freq.	s.d.
84	UNKNOWN	0.008287	0.000000
85	UNKNOWN	0.005216	0.000000
86	UNKNOWN	0.000964	0.000000
87	UNKNOWN	0.000477	0.000000
88	UNKNOWN	0.000477	0.000000
89	UNKNOWN	0.000537	0.000000
90	UNKNOWN	0.001777	0.000000
91	UNKNOWN	0.000574	0.000000
92	UNKNOWN	0.005346	0.000000
93	UNKNOWN	0.014394	0.000000
94	UNKNOWN	0.001560	0.000000
95	UNKNOWN	0.003934	0.000000
96	UNKNOWN	0.005931	0.000000
97	UNKNOWN	0.009432	0.000000
98	UNKNOWN	0.007118	0.000000
99	UNKNOWN	0.000717	0.000000
100	UNKNOWN	0.003623	0.000000
101	UNKNOWN	0.014747	0.000000
102	UNKNOWN	0.007636	0.000000
103	UNKNOWN	0.046602	0.000000
104	UNKNOWN	0.005203	0.000000
105	UNKNOWN	0.001702	0.000000
106	UNKNOWN	0.009165	0.000000
107	UNKNOWN	0.001441	0.000000
108	UNKNOWN	0.010561	0.000000
109	UNKNOWN	0.001037	0.000000
110	UNKNOWN	0.002022	0.000000
111	UNKNOWN	0.003399	0.000000
112	UNKNOWN	0.003720	0.000000
113	UNKNOWN	0.019339	0.000000
114	UNKNOWN	0.004907	0.000000
115	UNKNOWN	0.000477	0.000000
116	UNKNOWN	0.005237	0.000000
117	UNKNOWN	0.001161	0.000000

Maximum-likelihood haplotype frequencies :

Total number of possible haplotypes :
Minimum frequency to reach for output :

#	Haplotype	Freq.	s.d.
58	UNKNOWN	0.001305	0.000000
59	UNKNOWN	0.002378	0.000000
60	UNKNOWN	0.003732	0.000000
61	UNKNOWN	0.000811	0.000000
62	UNKNOWN	0.005284	0.000000
63	UNKNOWN	0.015694	0.000000
64	UNKNOWN	0.032162	0.000000
65	UNKNOWN	0.008954	0.000000
66	UNKNOWN	0.003894	0.000000
67	UNKNOWN	0.046476	0.000000
68	UNKNOWN	0.002082	0.000000
69	UNKNOWN	0.018707	0.000000
70	UNKNOWN	0.011241	0.000000
71	UNKNOWN	0.011583	0.000000
72	UNKNOWN	0.011701	0.000000
73	UNKNOWN	0.000953	0.000000
74	UNKNOWN	0.000984	0.000000
75	UNKNOWN	0.000477	0.000000
76	UNKNOWN	0.000528	0.000000
77	UNKNOWN	0.003254	0.000000
78	UNKNOWN	0.004144	0.000000
79	UNKNOWN	0.004836	0.000000
80	UNKNOWN	0.013526	0.000000
81	UNKNOWN	0.003485	0.000000
82	UNKNOWN	0.002517	0.000000
83	UNKNOWN	0.000713	0.000000
84	UNKNOWN	0.014110	0.000000
85	UNKNOWN	0.001050	0.000000
86	UNKNOWN	0.004414	0.000000
87	UNKNOWN	0.001128	0.000000
88	UNKNOWN	0.001557	0.000000
89	UNKNOWN	0.005182	0.000000
90	UNKNOWN	0.003839	0.000000
91	UNKNOWN	0.002715	0.000000

Maximum-likelihood haplotype frequencies :

Total number of possible haplotypes :
Minimum frequency to reach for output :

#	Haplotype	Freq.	s.d.
63	UNKNOWN	0.002091	0.000000
64	UNKNOWN	0.003107	0.000000
65	UNKNOWN	0.002495	0.000000
66	UNKNOWN	0.003802	0.000000
67	UNKNOWN	0.002227	0.000000
68	UNKNOWN	0.002379	0.000000
69	UNKNOWN	0.003462	0.000000
70	UNKNOWN	0.002156	0.000000
71	UNKNOWN	0.002591	0.000000
72	UNKNOWN	0.023707	0.000000
73	UNKNOWN	0.008371	0.000000
74	UNKNOWN	0.037540	0.000000
75	UNKNOWN	0.002642	0.000000
76	UNKNOWN	0.002086	0.000000
77	UNKNOWN	0.002495	0.000000
78	UNKNOWN	0.056636	0.000000
79	UNKNOWN	0.002960	0.000000
80	UNKNOWN	0.020302	0.000000
81	UNKNOWN	0.022109	0.000000
82	UNKNOWN	0.007630	0.000000
83	UNKNOWN	0.007515	0.000000
84	UNKNOWN	0.001105	0.000000
85	UNKNOWN	0.000781	0.000000
86	UNKNOWN	0.001522	0.000000
87	UNKNOWN	0.000471	0.000000
88	UNKNOWN	0.001820	0.000000
89	UNKNOWN	0.002084	0.000000
90	UNKNOWN	0.000910	0.000000
91	UNKNOWN	0.000839	0.000000
92	UNKNOWN	0.013801	0.000000
93	UNKNOWN	0.003486	0.000000
94	UNKNOWN	0.000608	0.000000
95	UNKNOWN	0.010932	0.000000
96	UNKNOWN	0.000953	0.000000

Arlequin ile HLA alel ve haplotip analizi



■ Donör haplotip frekansları (A-B-DR: 3 lokus): Arlequin yazılımı kullanılarak hesaplandı.

Maximum-likelihood haplotype frequencies :

Total number of possible haplotypes :
Minimum frequency to reach for output :

#	Haplotype	Freq.	s.d.			
334	UNKNOWN	0.000477	0.000000	HLA-A24	HLA-B14	HLA-DR07
335	UNKNOWN	0.000568	0.000000	HLA-A24	HLA-B15	HLA-DR11
336	UNKNOWN	0.001532	0.000000	HLA-A24	HLA-B15	HLA-DR14
337	UNKNOWN	0.000600	0.000000	HLA-A24	HLA-B18	HLA-DR01
338	UNKNOWN	0.001244	0.000000	HLA-A24	HLA-B18	HLA-DR03
339	UNKNOWN	0.003418	0.000000	HLA-A24	HLA-B18	HLA-DR04
340	UNKNOWN	0.005929	0.000000	HLA-A24	HLA-B18	HLA-DR11
341	UNKNOWN	0.001850	0.000000	HLA-A24	HLA-B18	HLA-DR12
342	UNKNOWN	0.001805	0.000000	HLA-A24	HLA-B18	HLA-DR13
343	UNKNOWN	0.000477	0.000000	HLA-A24	HLA-B27	HLA-DR01
344	UNKNOWN	0.002028	0.000000	HLA-A24	HLA-B27	HLA-DR04
345	UNKNOWN	0.003214	0.000000	HLA-A24	HLA-B27	HLA-DR07
346	UNKNOWN	0.002383	0.000000	HLA-A24	HLA-B27	HLA-DR13
347	UNKNOWN	0.002048	0.000000	HLA-A24	HLA-B35	HLA-DR01
348	UNKNOWN	0.010879	0.000000	HLA-A24	HLA-B35	HLA-DR04
349	UNKNOWN	0.000603	0.000000	HLA-A24	HLA-B35	HLA-DR08
350	UNKNOWN	0.020520	0.000000	HLA-A24	HLA-B35	HLA-DR11
351	UNKNOWN	0.004688	0.000000	HLA-A24	HLA-B35	HLA-DR13
352	UNKNOWN	0.005457	0.000000	HLA-A24	HLA-B35	HLA-DR14
353	UNKNOWN	0.003218	0.000000	HLA-A24	HLA-B35	HLA-DR16
354	UNKNOWN	0.001374	0.000000	HLA-A24	HLA-B38	HLA-DR03
355	UNKNOWN	0.002455	0.000000	HLA-A24	HLA-B38	HLA-DR11
356	UNKNOWN	0.000477	0.000000	HLA-A24	HLA-B38	HLA-DR12
357	UNKNOWN	0.000477	0.000000	HLA-A24	HLA-B39	HLA-DR13
358	UNKNOWN	0.001430	0.000000	HLA-A24	HLA-B39	HLA-DR16
359	UNKNOWN	0.002147	0.000000	HLA-A24	HLA-B40	HLA-DR03
360	UNKNOWN	0.004038	0.000000	HLA-A24	HLA-B40	HLA-DR04
361	UNKNOWN	0.000953	0.000000	HLA-A24	HLA-B40	HLA-DR08
362	UNKNOWN	0.000477	0.000000	HLA-A24	HLA-B40	HLA-DR12
363	UNKNOWN	0.001393	0.000000	HLA-A24	HLA-B40	HLA-DR14
364	UNKNOWN	0.000564	0.000000	HLA-A24	HLA-B40	HLA-DR15
365	UNKNOWN	0.000535	0.000000	HLA-A24	HLA-B40	HLA-DR16
366	UNKNOWN	0.000520	0.000000	HLA-A24	HLA-B41	HLA-DR07
367	UNKNOWN	0.000477	0.000000	HLA-A24	HLA-B41	HLA-DR14

Calculated PRA (cPRA) uygulaması

- Frekans tahmini yaparken tüm alleller, ilgilenilen alleller (A+) ve diğerleri (A-) olarak ikiye ayrılır.
- Ilgilenilen allellerin frekansı p; diğerlerinin frekansı: (1-p) $\Rightarrow F(A+) = p^2 + 2p(1-p)$ ya da $F(A+) = 1 - (1-p)^2$.
- Hastanın antikorlarından dolayı organ kabul edemeyeceği alleler ilgi alanına alınarak bu allellerin frekansı $1 - (1-p)^2$ formülü ile hesaplanır.
- Kişinin taşıyacağı birden çok allele karşı antikor olacağından $CPRA = 1 - (1 - \sum p_i)^2$.
- $\sum p_i \rightarrow$ kabul edilemeyecek allelleri ve bu allelleri içeren haplotiplerin frekans (S1, S2, S3, ...) toplamını ifade eder.

Calculated PRA (cPRA) uygulaması

$$= \frac{2\pi}{8} \int_0^{\sqrt{2}} x \sqrt{1 + (2x)^2} dx$$
$$= \frac{2\pi}{8} \int_0^{\sqrt{2}} (1 + 4x^2)^{1/2} dx$$

- **S1:** 1 lokus haplotip frekans toplamı
(A, B, C, DQ, DR)
- **S2:** 2 lokus haplotip frekans toplamı
(AB, AC, ADQ, ADR, BC, BDQ, BDR, CDQ, CDR, DQDR)
- **S3:** 3 lokus haplotip frekans toplamı
(ABC, ABDQ, ABDR, ACDQ, ACDR, ADQDR, BCDQ, BCDR, BDQDR, CDQDR)
- **S4:** 4 lokus haplotip frekans toplamı
(ABCDQ, ABCDR, ABDQDR, ACDQDR, BCDQDR)
- **S5:** 5 lokus haplotip frekans toplamı (ABCDQDR) olmak üzere
CPRA = 1- (1 - S1 + S2 - S3 + S4 - S5)² bulunur.

$$CPRA = \sum_i [1 - (1 - S1 + S2 - S3 + S4 - S5)^2] \times D_i$$

i : The racial or ethnic base population, as reported to the OPTN for deceased donors

D_i : The proportion of donors in each specific race or ethnicity i in the OPTN deceased donor population

$$CPRA = 1 - (1 - \sum p_i)^2 \Rightarrow CPRA = 1 - [1 - (S_1 - S_2 + S_3 - S_4 + S_5)]^2 \text{ ya da } CPRA = 1 - (1 - S1 + S2 - S3 + S4 - S5)^2$$

Örnek cPRA uygulaması



- **Örnek:** PRA neticelerine göre kabul edilemez antijenler HLA-HLA-A*68, HLA-B*13, HLA-DRB1*12). Buna göre
- Bu **allelerin** ve bu **alleleri** içeren **halotiplerin frekansları** donör verilerini içeren **Arlequin** analizi üzerinden tespit edilir.
- 1-2-3 lokus içeren haplotip frekansları (S1, S2, S3) tespit edildikten sonra CPRA formülü üzerinden hesaplama yapılır.
- Neticeleler ayrıca OPTN'ye girilerek karşılaştırılır.

A68	0,046235	A68 B13	0,001814	A68 B13 DR12	0
B13	0,036225	A68 DR12	0,000278		
DR12	0,014776	B13 DR12	0,000953		
S1		S2		S3	

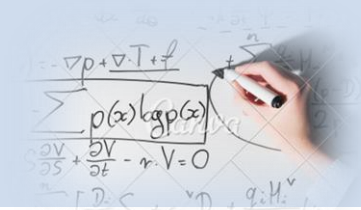
CPRA: 1 - probability of negative crossmatch

CPRA: $1 - (1 - S1 + S2 - S3)^2$

CPRA: $1 - (1 - 0,097236 + 0,003045 - 0)^2 \Rightarrow 0,190505721039$

CPRA: %19

CPRA'sı **%19** olan nakil adayının, organ donörlerinin yaklaşık **%81**'inden bir organı güvenli bir şekilde kabul edebilmesi (ve anında rejeksiyon yaşamaması) beklenir. Bu duyarlılık, adayın önceden oluşturulmuş (pre-formed) HLA antikorlarının sonucudur.



CPRA Calculator

OPTN

[Home](#) » [Resources](#) » [Allocation Calculators](#) » CPRA Calculator

[Home](#) » [Resources](#) » [Allocation Calculators](#) » CPRA Calculator

Unacceptable Antigens

A	DQA1
68 HLA-A*68	
B	DPB1
13 HLA-B*13	
BW	DPA1
C	DR51
DR	DR52
12 HLA-DRB1*12	
DQB1	DR53
Clear Calculate	
Clear Calculate	
DQB1	DR53
13	

Percent CPRA:

19%

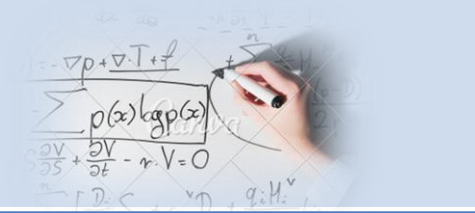
Detailed CPRA:

0.186136

A transplant candidate with a CPRA of 19% is expected to be able to safely accept an organ (and not experience immediate rejection) from approximately 81% of organ donors. This sensitization is the result of the candidate's pre-formed HLA antibodies.



Örnek cPRA uygulaması



- CPRA uygulamasında yararlandığımız **anti-HLA antikor** tespit yöntemleri (**PRA, SA**) arasındaki **uyum oranlarını** değerlendirmek için **Cohen'in kappa** istatistiği (κ) kullanıldı.
- **PRA tarama** ve **SA** kitleri kullanılarak anti-HLA antikorlarını tespit eden testler arasındaki uyum oranları **sınıf I antijenler** için **%83,3** (**kappa=0,675**, $p<0,001$), **sınıf II antijenler** için **%86,6** (**kappa=0,733**, $p<0,001$) idi.
- **SA** tespitinde **3000**'in üzerindeki ortalama floresans yoğunluğu (**MFI**) değerleri **kesim** olarak kabul edilirse **aynı testler** arasındaki **uyum** oranları **sınıf I antijenler** için **%92,5** (**kappa=0,852**, $p<0,001$) ve **sınıf II antijenler** için **%96,5** (**kappa=0,791**, $p<0,001$) olarak bulunmuştur.

Sonuçlar



- Böbrek alıcılarında **duyarlılık düzeyini** belirlemek için kullandığımız **kitlerde uyum oranı yüksek** olmasına rağmen,
- Hastaların **yaşadıkları** popülasyona göre **gerçek duyarlılık** düzeyini ortaya koymak için → HLA fenotip frekanslarına dayalı **CPRA uygulaması kullanılmalıdır**.
- **SA testi** sonuçları **pozitif cross-match** tahmini sağlarken, **CPRA** değerleri belirli bir popülasyondaki **uygun donörlerin oranına** ilişkin doğru bir tahmin sağlar.
- Ülkeler **bekleme listelerinde** hastaların **CPRA** değerlerine **puan vererek** organ tahsisinde **verimliliği** artırmalıdır.

Immunogenetics

HLA

ZAFER AKÇALI

DENİZ İLHAN TOPÇU

Computer Science Statistics

DTL



TUBA ERDOĞAN
ŞALE ŞİRVAN
DİLEK BAL ÜNALAN
HANİFE HABERAL
SEDEF IŞIK

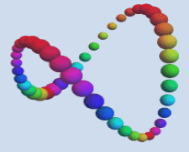


DİKKATİNİZ İÇİN TEŞEKKÜRLER

Dr. Uğur MUŞABAK



Panel reaktif antikorlar (PRA)



- HLA antijenlerine karşı antikor varlığının tespit edilmesi için **tarama, tanımlama ve tek antijen saptama** testleri yapılır.
- Pozitif reaksiyonlar % PRA ve MFI/MCS olarak verilir.
- IgG (**G₁₋₄**) izotip anti-HLA antikorlar saptanır.
- PRA tayin yöntemleri:

→ Serolojik: CDC

→ **Katı fazlı: SFA**

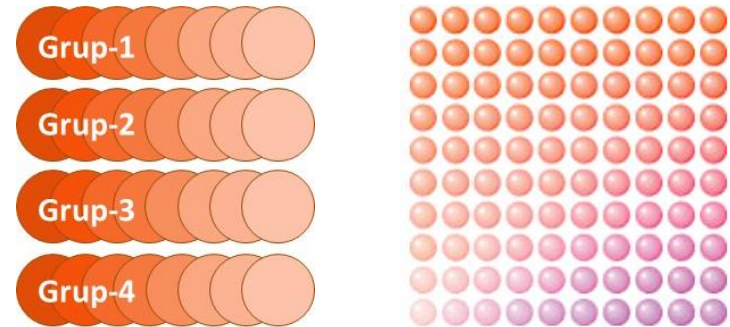
✓ Enzim İmmüno-Assay (EiA)

✓ Flow cytometry: FCM *

✓ Lümineks*

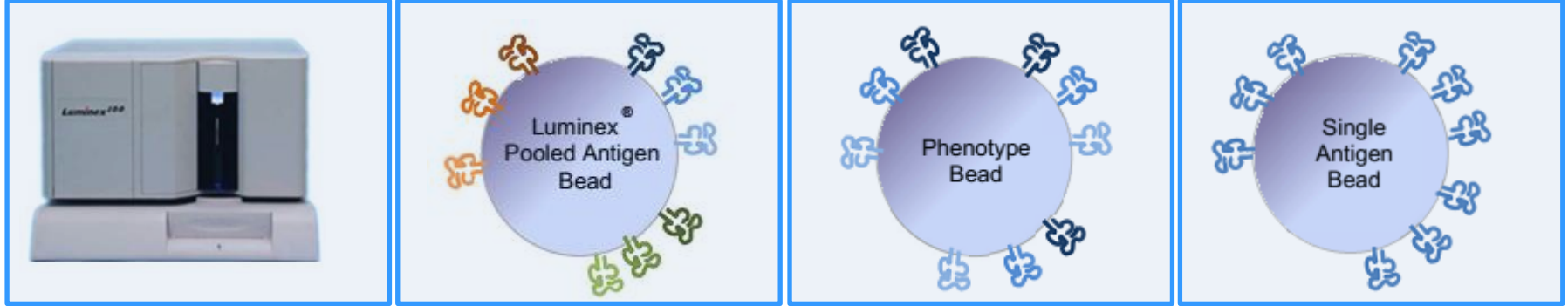


5.6µm & 6.5µm Microspheres



* Mikroboncuk teknolojisine dayalı çoklu (mültipleks) ölçüm

Mikroboncuk teknolojisi ile PRA tayini



Uygulama	Tarama	Tanımlama	Tek antijen
Ag yoğunluğu	Düşük	Orta	Yüksek
Çözünürlük	-	*	***
Ag kaynağı	Trombosit EBV hücre hattı	EBV hücre hattı	Rekombinant
Her mikroboncuktaki Ag kompozisyonu	3-5 ayrı kaynaktan elde edilen Sınıf-I ve/veya Sınıf-II Ag'ler: her lokus için 2'den fazla HLA antijeni ile kaplı	Tek kaynaktan elde edilen Sınıf-I ve/veya Sınıf-II Ag'ler: her lokus için 2 HLA antijeni ile kaplı	Sınıf-I ve/veya Sınıf-II'den her lokus için tek HLA antijeni ile kaplı