

Eplet-Spesifik HLA Antikorlarının İmmün Reaktivitedeki Önemi

Sebahat Akgöl, Ümit Aslanhan, Reza Kazamzadeh, Yaren Alan, Erol Demir, Talin Çatalbaşyan, Demir Kaan Demir, Deniz Ece Şallı, Burak Koçak, Caner Süsal





Eplet Adlandırması

- Epletler (2-5 amino asit uzunluğunda),
 - Numara; amino asitin sekans konumu
 - Harf; polimorfik kalıntılar

- 62GE (HLA-A2 ve HLA-B17)
- 127K (HLA-A2, A23, A24, A68 ve A69'da)
- 145L(HLA-B13)



HLA Epitop İmmünojenitesi

- Donör ve alıcı HLA epitop uyumsuzluğuna bağlı eplet-spesifik DSA gelişme riski; uyumsuz eplet sayısı artıkça potansiyel risk artabilir.
- HLA epitopları ne kadar immünojeniktir?
 - moleküler ve fizyokimyasal özellikleri
 - amino asitlerin hidrofobiklik ve elektrostatik özellikleri

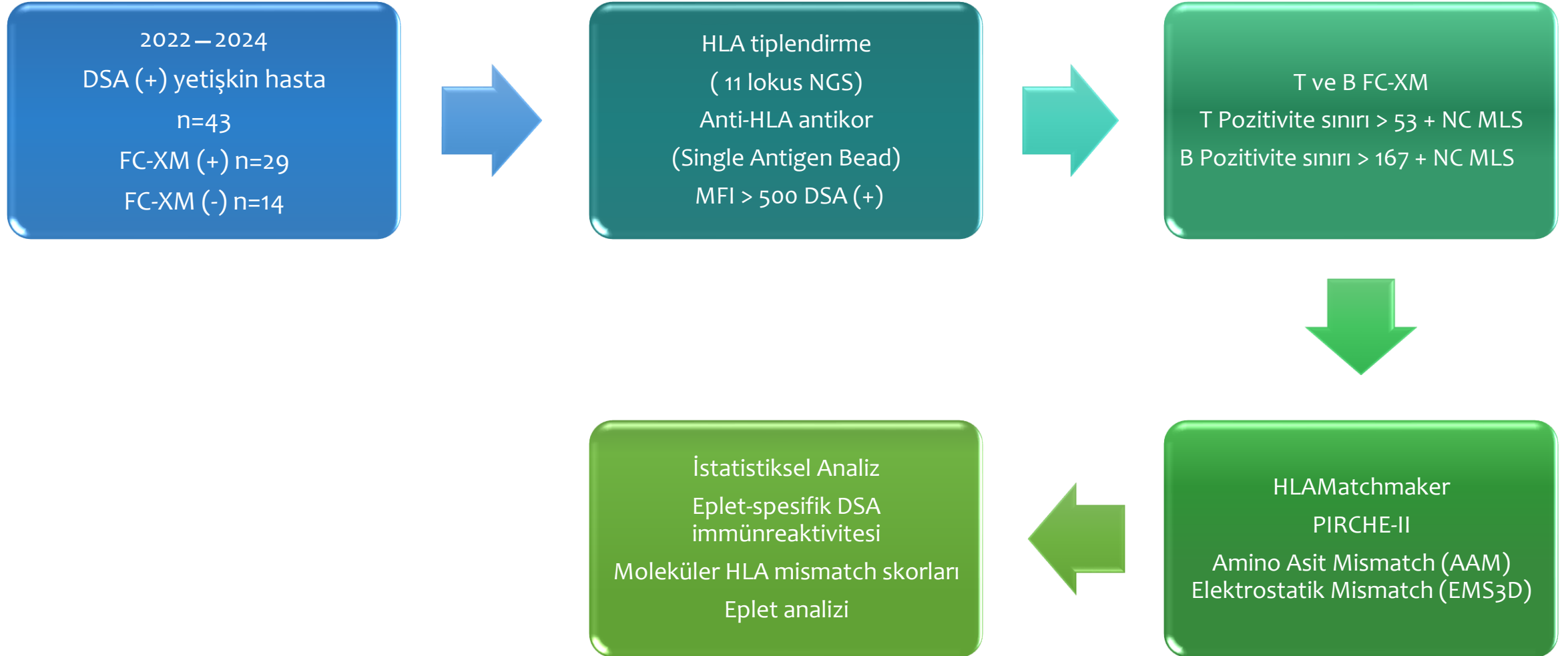


Amaç

- Standart FC-XM testi baz alınarak;
- Eplet-spesifik DSA'nın immün reaktivitesi flow crossmatch ile değerlendirmek
- Moleküler HLA uyumsuzluk skorlarının immün reaktivite üzerindeki düzenleyici etkisini incelemek

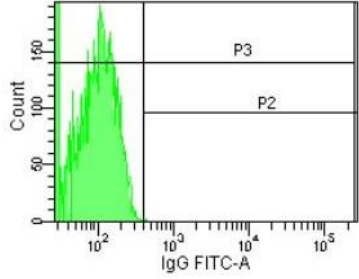


Yöntem



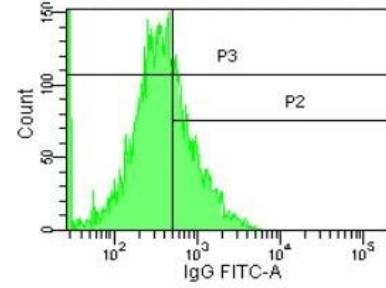
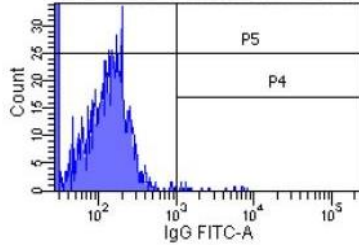


Yöntem



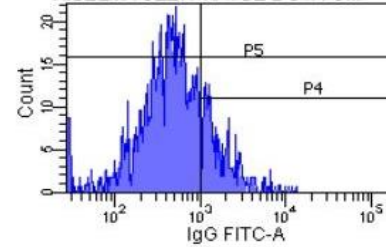
Tube: NEGATIF

Population	#Events	%Parent	%Total
All Events	30,276	####	100.0
P1	9,805	32.4	32.4
T LENFOSITLER	7,596	77.5	25.1
P2	28	0.4	0.1
P3	7,596	100.0	25.1
B LENFOSITLER	1,005	10.2	3.3
P4	16	1.6	0.1
P5	1,005	100.0	3.3



Tube: CM

Population	#Events	%Parent	%Total
All Events	50,331	####	100.0
P1	12,034	23.9	23.9
T LENFOSITLER	7,228	60.1	14.4
P2	2,263	31.3	4.5
P3	7,228	100.0	14.4
B LENFOSITLER	1,000	8.3	2.0
P4	208	20.8	0.4
P5	1,000	100.0	2.0



T Pozitivite sınırı > 53 + NC MLS

B Pozitivite sınırı > 167 + NC MLS

Experiment Name:
Specimen Name:
Tube Name: NEGATIF
Record Date:

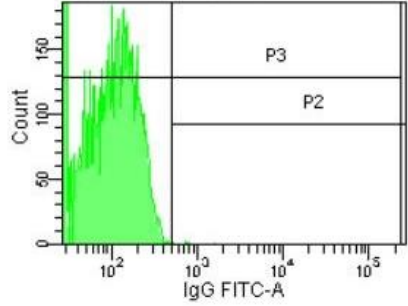
Population	#Events	%Parent	%Total	IgG FITC-A Mean	IgG FITC-A Median
All Events	30,276	####	100.0	319	47
P1	9,805	32.4	32.4	138	90
T LENFOSITLER	7,596	77.5	25.1	87	81
B LENFOSITLER	1,005	10.2	3.3	181	118
P2	28	0.4	0.1	964	595
P3	7,596	100.0	25.1	87	81
P4	16	1.6	0.1	3,454	2,187
P5	1,005	100.0	3.3	181	118

Experiment Name:
Specimen Name:
Tube Name: CM
Record Date:

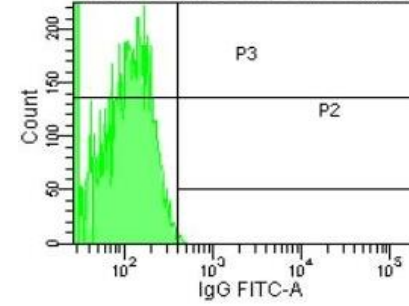
Population	#Events	%Parent	%Total	IgG FITC-A Mean	IgG FITC-A Median
All Events	50,331	####	100.0	739	297
P1	12,034	23.9	23.9	515	341
T LENFOSITLER	7,228	60.1	14.4	501	337
B LENFOSITLER	1,000	8.3	2.0	769	458
P2	2,263	31.3	4.5	1,055	791
P3	7,228	100.0	14.4	501	337
P4	208	20.8	0.4	2,153	1,530
P5	1,000	100.0	2.0	769	458



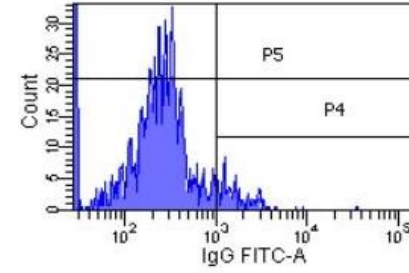
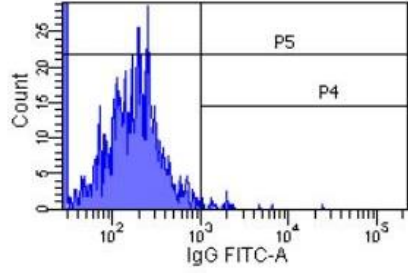
Yöntem



Tube: NEGATIF				
Population	#Events	%Parent	%Total	
■ All Events	55,478	####	100.0	
■ P1	17,023	30.7	30.7	
■ T LENFOSITLER	11,561	67.9	20.8	
□ P2	42	0.4	0.1	
□ P3	11,561	100.0	20.8	
■ B LENFOSITLER	1,000	5.9	1.8	
□ P4	15	1.5	0.0	
□ P5	1,000	100.0	1.8	



Tube: CM				
Population	#Events	%Parent	%Total	
■ All Events	27,498	####	100.0	
■ P1	14,460	52.6	52.6	
■ T LENFOSITLER	10,515	72.7	38.2	
□ P2	58	0.6	0.2	
□ P3	10,514	100.0	38.2	
■ B LENFOSITLER	1,027	7.1	3.7	
□ P4	91	8.9	0.3	
□ P5	1,027	100.0	3.7	



T Pozitivite sınırı > 53 + NC MLS

B Pozitivite sınırı > 167 + NC MLS

Experiment Name:					
Specimen Name:					
Tube Name: NEGATIF					
Record Date:					
Population	#Events	%Parent	%Total	IgG FITC-A Mean	IgG FITC-A Median
■ All Events	55,478	####	100.0	340	46
■ P1	17,023	30.7	30.7	165	91
■ T LENFOSITLER	11,561	67.9	20.8	69	51
■ B LENFOSITLER	1,000	5.9	1.8	202	132
□ P2	42	0.4	0.1	4,563	879
□ P3	11,561	100.0	20.8	69	51
□ P4	15	1.5	0.0	3,457	1,816
□ P5	1,000	100.0	1.8	202	132

Experiment Name:					
Specimen Name:					
Tube Name: CM					
Record Date:					
Population	#Events	%Parent	%Total	IgG FITC-A Mean	IgG FITC-A Median
■ All Events	27,498	####	100.0	373	114
■ P1	14,460	52.6	52.6	207	104
■ T LENFOSITLER	10,515	72.7	38.2	113	80
■ B LENFOSITLER	1,027	7.1	3.7	428	238
□ P2	58	0.6	0.2	5,844	541
□ P3	10,514	100.0	38.2	88	80
□ P4	91	8.9	0.3	2,209	1,508
□ P5	1,027	100.0	3.7	428	238



- HLA Matchmaker (Eplet Matching ve Eplet Analizi)
 - <http://www.epitopes.net/downloads.html>
- PRICHE (Eplet Matching)
 - <https://www.pirche.com/>
- Amino Asit Mismatch (AAMS)
 - https://mohorianulab.org/shiny/kosmoliaptsis/HLA_Algorithms/
- Elektrostatik Mismatch (EMS3D)
 - https://mohorianulab.org/shiny/kosmoliaptsis/HLA_Algorithms/

<http://www.epitopes.net/downloads.html>

<https://www.pirche.com/>

https://mohorianulab.org/shiny/kosmoliaptsis/HLA_Algorithms/



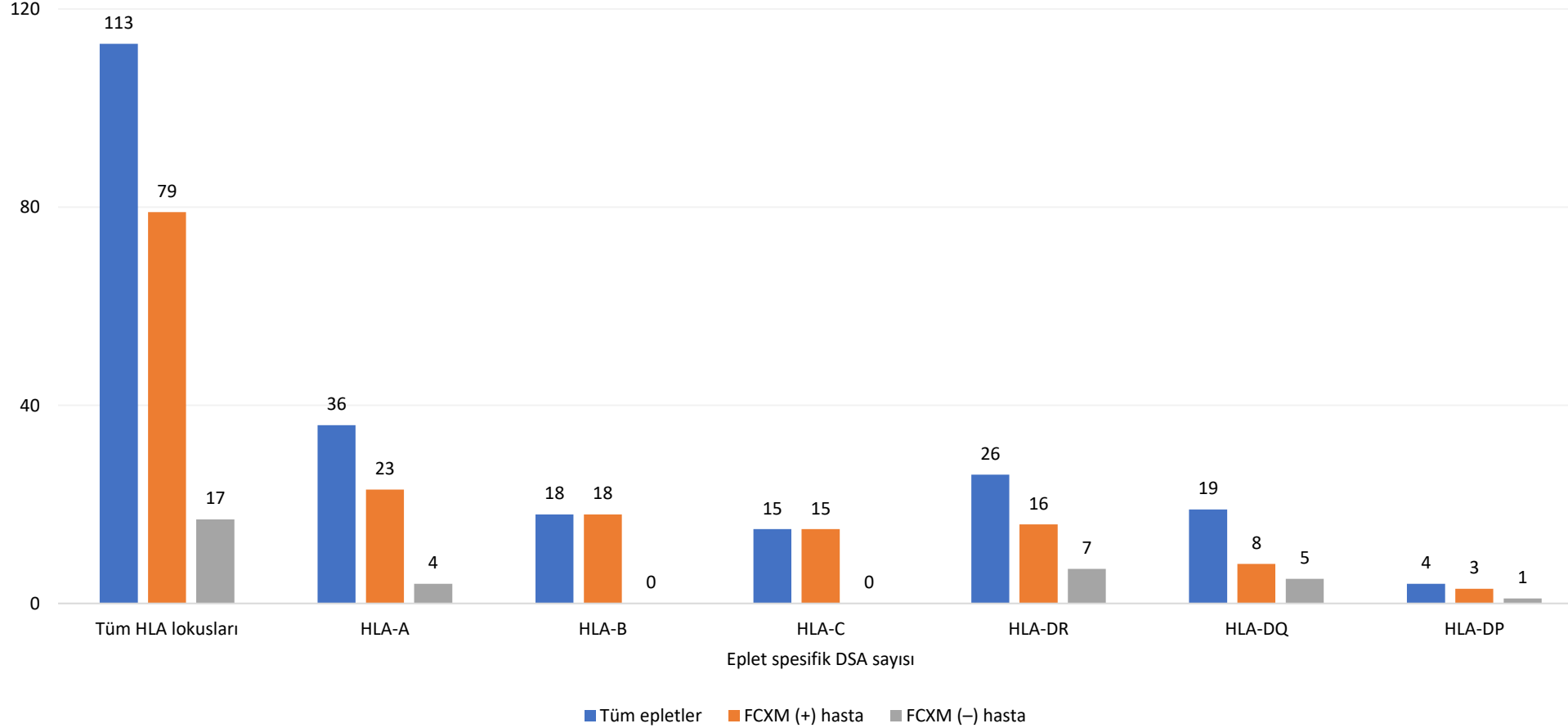
	FCXM (+) hasta (n=29)	FCXM (-) hasta (n=14)	P
Hasta yaşı (min–max, yıl)	43 (18–61)	52 (18–70)	0,23
Hasta cinsiyeti (n, %) <i>Kadın</i>	7 (24,1)	7 (50,0)	0,09
Donör özellikleri <i>Donör yaşı</i> (min–max, yıl)	46 (10–67)	45 (33–63)	0,92
<i>Akraba olmayan donör</i> (n, %)	1 (7,1)	3 (10,3)	0,74
<i>Kadın donör</i> (n, %)	19 (65,5)	9 (64,3)	0,94
HLA mismatch (min–max)	4 (2–6)	3 (1–6)	0,51
İmmünizasyon geçmişi (min–max) <i>Gebelik sayısı</i>	3 (1–4)	3 (2–3)	0,53
<i>Geçirilmiş böbrek nakil sayısı</i>	0 (0–1)	0 (0–2)	0,32
İmmünizasyon geçmişi (n, %) <i>Gebelik</i>	19 (65,5)	5 (35,7)	0,65
<i>Kan transfüzyonu</i>	20 (69,0)	7 (50)	0,34
<i>Geçirilmiş böbrek nakli</i>	8 (27,6)	1 (7,1)	0,15



	FCXM (+) hasta (n=29)	FCXM (-) hasta (n=14)	P
HLAMatchmaker skoru*			
ABC	45 (15-93)	41 (16-65)	0,32
DRDQ	31 (5-48)	32 (17-59)	0,25
ABCDRDQ	73 (17-103)	76 (41-113)	0,80
HLAMatchmaker (Abver) skoru*			
ABC	17 (7-36)	12 (4-23)	0,07
DRDQ	10 (1-15)	10 (8-15)	0,21
ABCDRDQ	23 (10-36)	23 (12-34)	0,44
PIRCHE-II skoru*			
ABC	51 (13-146)	75 (27-101)	0,46
DRDQ	45 (22-98)	36 (8-108)	0,30
ABCDRDQ	96 (41-244)	94 (59-209)	0,78
AAMS skoru*			
ABC	28 (2-56)	13 (3-39)	0,07
DRDQ	42 (4-107)	52 (1-72)	0,59
ABCDRDQ	65 (32-144)	70 (11-98)	0,38
EMS3D skoru*			
ABC	1,28 (0,35-1,90)	0,82 (0,35-1,95)	0,29
DRDQ	0,70 (0,37-1,30)	0,79 (0,36-1,31)	0,35
ABCDRDQ	2,16 (0,96-3,12)	1,64 (0,35-2,86)	0,59



Bulgular



Şekil 1. Eplet Spesifik DSA Sayılarının Farklı HLA Lokuslarına Göre Dağılımı



	HLA-A (MFI: 864–17060)	HLA-B (MFI: 1321–18528)	HLA-C (MFI: 644–16812)	HLA-DRB1/3/4/5 (MFI: 695–20108)	HLA-DQA1/-DQB1 (MFI: 1049–23896)	HLA-DPB1 (MFI: 629–6596)
FC-XM (+) (n=29) MFI (En düşük–en yüksek)	127K, 62QE+56G, 66NV, 79GT+90D, 90D, 138MI, 138MI+79GT, 144KR, 144KR+151H, 151AHA, 163R, 163RW, 62EE, 166DG, 44KM3, 76ANT, 62QE, 43Q+62GER, 62GE, 62GK2, 161D, 79GT, 62LQ (MFI: 864–17060)	65QIA, 70IAQ, 76ESN, 80N, 180E, 163EW, 71TTS, 69TNT+80N, 65QIA+76ESN, 80I, 41T, 143S+76ESN, 163LW+65QIT, 44RT+69TNT, 80I+69TNT, 62GE, 62GRN, 71SA (MFI: 1321–18528)	76VRN, 80N, 193PL, 163EW, 21H, 73AN, 90D, 248M, 267QE, 163LW, 173K, 219W, 193PL3, 80K, 80K+14R (MFI: 644–16812)	16Y, 30RV, 77N, 98Q, 56EDR11, 56EEDR11, 57DE, 57DEDP, 70D, 70DA, 11STS, rp67IE, 47F, 96HK, 40YD2, 181M (MFI: 803–20108)	75S3, 55RL3, 56PV, 67VG, 85VA, 85VY, 45GV, 40GR3 (MFI: 1049–23896)	84DEAV, 96K, 50R (MFI: 1441–6596)
FC-XM (–) (n=14) MFI (En düşük–en yüksek)	80I, 80I+90A, 145RT, 62GK (MFI: 2983–5187)	–	–	25Q3, 30C, 96EV, 48Q6, 28H, 108T, 74R (MFI: 695–4556)	45GE3, 74SR3, 74SV2, 77R, 140A2 (MFI: 1088–22900)	p57D (MFI: 629)



- DSA pozitif hastaların bazılarında FX-CM pozitif iken bazılarında negatiftir.
- Antikorların MFI yüksekliği, FX-CM pozitifliğini arttırabilir.
- Ancak MFI oranı dışında, eplet yapısı antikor-antijen bağlantısına etki edip FC-XM sonucunu belirleyebilir.



- Bu çalışmada farklı lokuslardaki eplet-spesifik DSA'lar, MFI değerlerinden bağımsız olarak FC-XM üzerine farklı etkiler gösterdi.
- Özellikle **HLA-B** ve **-C** lokuslarındaki eplet-spesifik DSA'ların, bazı **HLA-DQ** ve **-DR** lokuslarındaki eplet-spesifik DSA'lara kıyasla daha yüksek FC-XM-pozitiflik sıklığına sahip olduğu görüldü.
- FC-XM pozitif hastalarda HLAMatchmaker (ABC Abver) ve AAMS (ABC) diğer gruba göre daha yüksekti.



- Tüm epitop uyumsuzlukları eşit derecede immünojenik değildir.
- Artan eplet uyumsuzluğu immünojenik epitopların sayısını arttırabilir.
- Bazı epletlerin affinite özellikleri daha yüksek veya daha düşük olabilir, bu da epitopların immünojenitesine katkı sunabilir.

TEŞEKKÜRLER

