

BÖBREK NAKLİNDE İMMÜNOLOJİK TESTLER VE YORUMLANMASI

Sebahat Akgöl, PhD
Doku Tipleme Laboratuvarı Sorumlusu



**KOÇ ÜNİVERSİTESİ
HASTANESİ**



Funded by
the European Union



TIREX
KOÇ UNIVERSITY TRANSPLANT IMMUNOLOGY
RESEARCH CENTER OF EXCELLENCE

27 Eylül 2025



- 10 yıllık greft sağkalım oranları, kadavra ve canlı donör nakillerinde sırasıyla %61-%77 ile %70-%75
- Sensitize olmayan alıcıların %30'u 10 yıl içinde **de novo DSA** geliştiriyor
- **de novo DSA geliştirenlerin %40'ı**, 5 yıl içinde greft kaybediyor
- **de novo DSA + ABMR gelişen hastalar** → daha güçlü immünosüpresyon
- Enfeksiyonlar pediatrik alıcılarda **halen en sık ölüm nedeni (%28)**
- Çoğu pediatrik alıcı → yaşam boyu birden fazla nakil ihtiyacı



Böbrek Naklinde Alloimmün Risk Sınıflandırması



Böbrek nakli alloimmünite risk sınıflandırması için iki ana strateji kullanılmaktadır

1. Alıcı ve donör arasındaki HLA uyumsuzluklarının belirlenmesi
2. Alıcının serumunda önceden oluşmuş anti-HLA antikorlarının tanımlanması



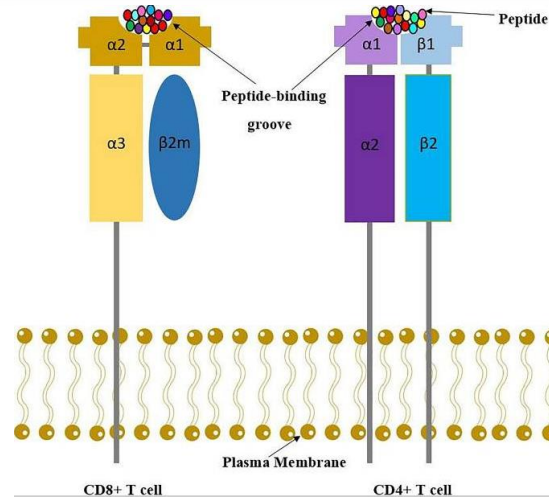
- Doku Tipleme
- Anti-HLA Antikor/Donör Spesifik Antikor (DSA)
- Crossmatch (DSA Reaktivitesi)



Doku Grubu Antijenleri

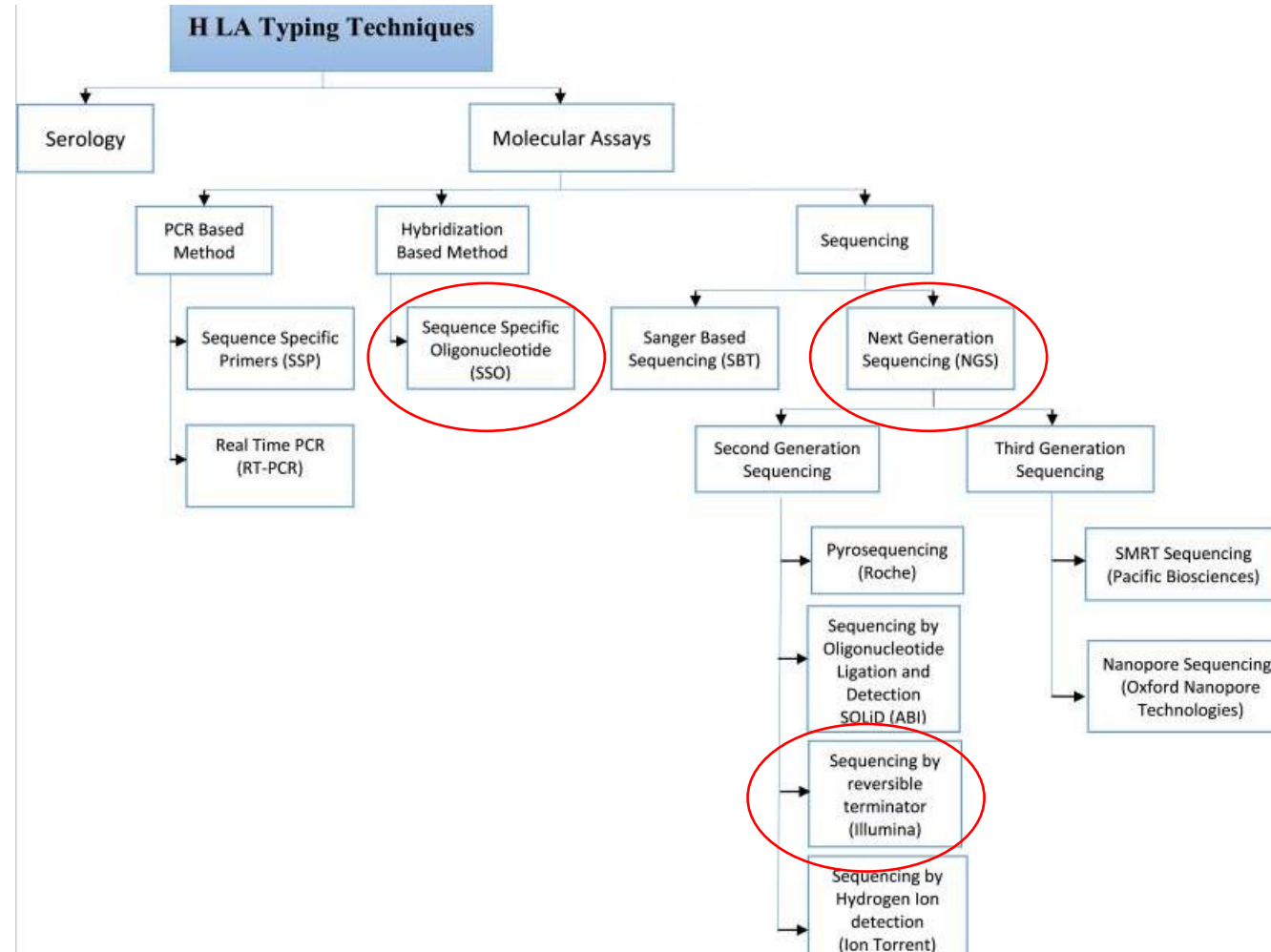
- Majör Doku Uyumluluk Kompleksi (MHC) genleri, kendinden olanı ve olmayanı ayırt etmek için doku antijenleri'ni kodlar
- T hücrelerine antijen sunumu

İnsan Lökosit Antijeni (HLA)



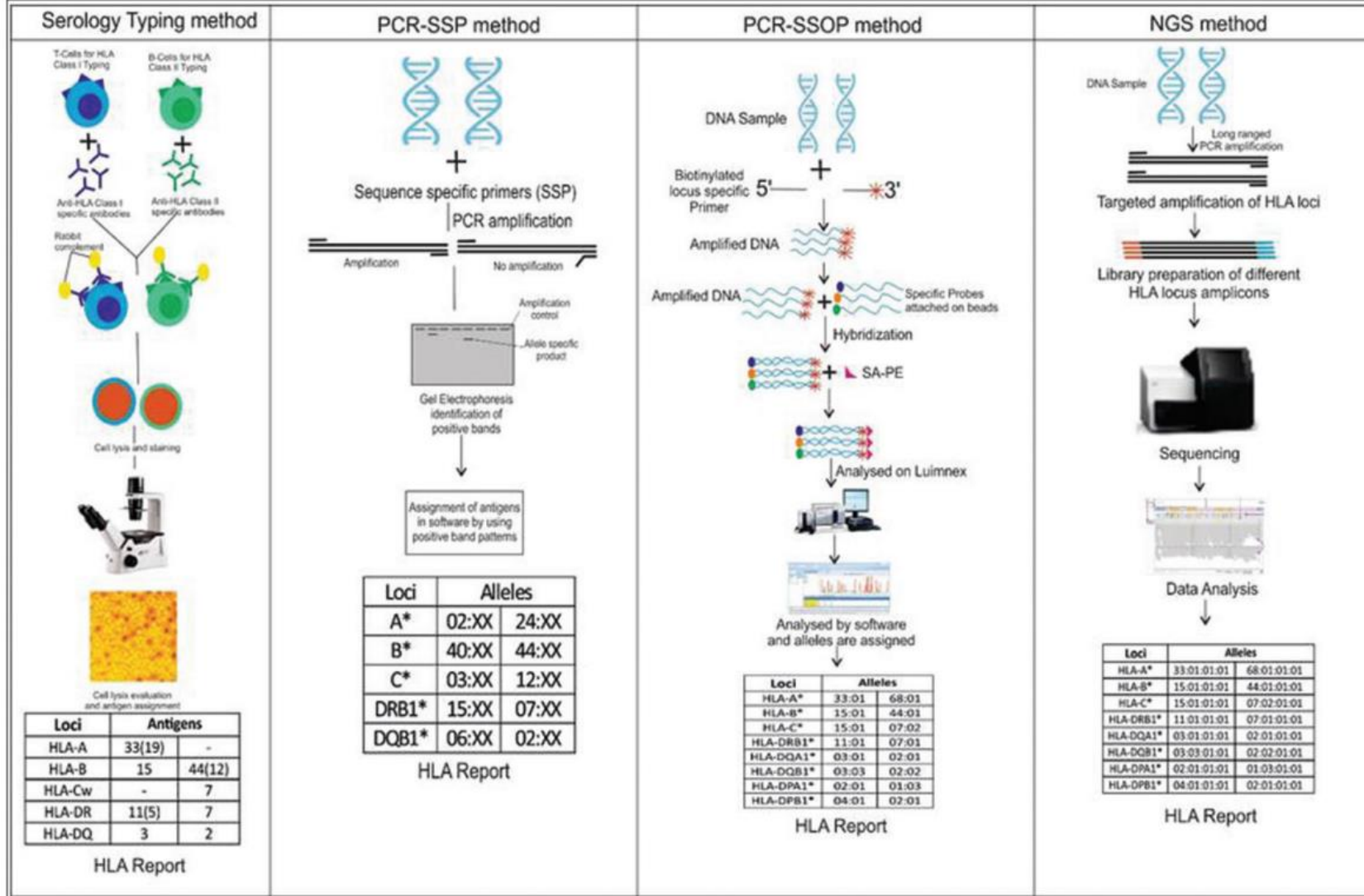


HLA Tipleme Teknikleri





HLA Tipleme Teknikleri



SSO

- düşük/orta/yüksek çözünürlüklü
- 3 saat
- 11 lokus

NGS

- yüksek çözünürlüklü
- yaklaşık 2 gün
- 11 lokus



Türkiye’de HLA Tipleme Yöntemleri



HLA Tipleme	Standart Risk (Canlı Verici)	Yüksek Risk (Canlı Verici)	Alıcı (Kadavra Donör)	Kadaverik Donör
Düşük Çözünürlüklü	14 (63.64%)	5 (22.72%)	17 (77.27%)	16 (72.27%)
Yüksek Çözünürlüklü	5 (22.72%)	14 (63.63%)	2 (9.91%)	3 (13.91%)
3 Lokus	10 (45.45%)	1 (4.55%)	12 (54.55%)	9 (40.55%)
≥5 Lokus	8 (36.36%)	17 (77.27%)	7 (31.82%)	10 (45.82%)

UNOS
EUROTRANPLANT

HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DRB3/4/5, -DQA, -DQB, -DPA, -DPB (2 field)

Düşük çözünürlükte sınırlı lokus tipleme

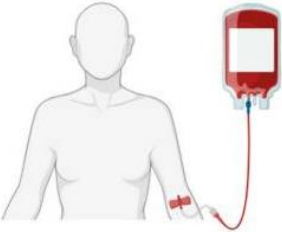
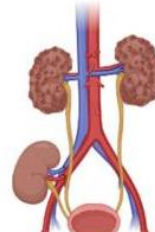
- Hatalı ve eksik DSA
- Nakil sonrası tedavide gecikme



- Doku Grubu Antijenlerinin Tiplemesi
- **Anti-HLA/ Donör Spesifik Antikor (DSA)**
- Crossmatch



Anti-HLA Antikor

	(A)	(B)	(C)
			
Sensitization	Transfusion	1st abort/pregnacy	Transplant
HLA	2 haplotypes (unknown)	1 haplotype (parent)	2 haplotypes (deceased donor)
Degree of allosensitization	Low: 20 – 30 days Passenger mismatched leukocytes	Intermediate: 30 – 270 days	High: 30 – 365... days IS
	1 ünite %20 10 ünite ve üstü %40 20 ünite ve üstü %70	1. gebelik %15-25 2. gebelik %50-60	Nakil öncesi %20 1. Tx %17 2. Tx %64 3. Tx %84 4. Tx %92



Aşı ve Enfeksiyonlar

Allosensitizasyonu Tetikleyebilir mi?

1.Çapraz reaktivite

- Aşı ve virüs/bakteri antijenleri → Alloantijenlere benzer epitoplar taşıyabilir
(T/B hücre yanıtı HLA epitoplarına da yönlenebilir)

2.Innate immün aktivasyon

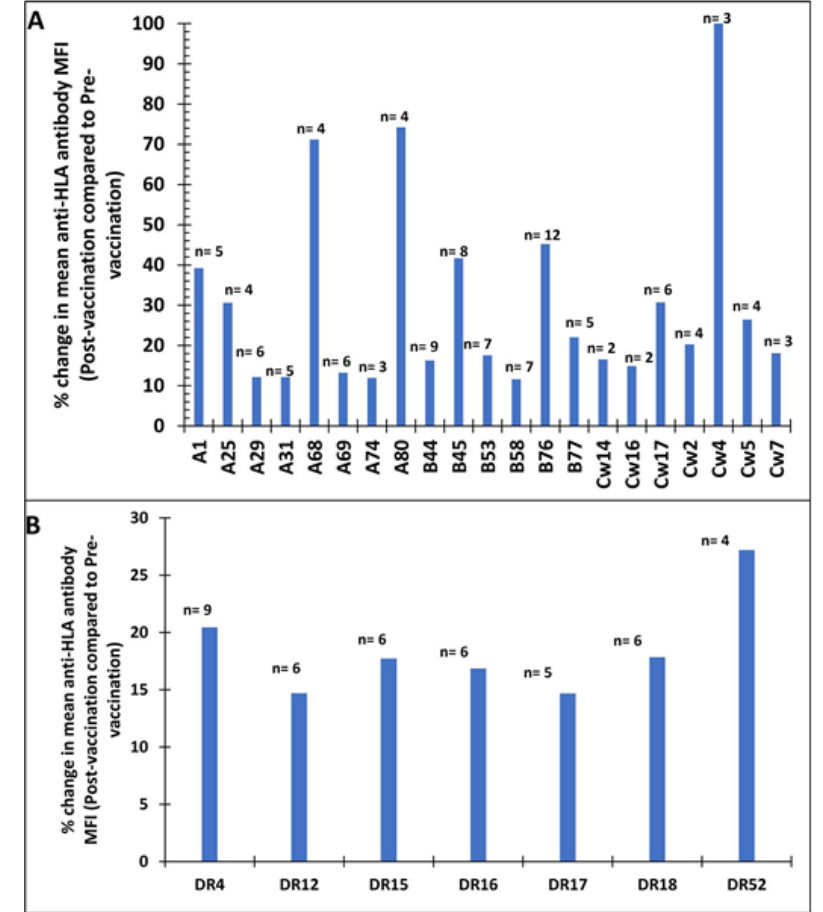
- Aşı ve enfeksiyon sonrası sitokin salınımı → Sessiz alloreaktif bellek T/B hücrelerini uyarabilir

3.Adjuvan etkileri

- Bazı aşı adjuvanları → Non-spesifik immün yanıt

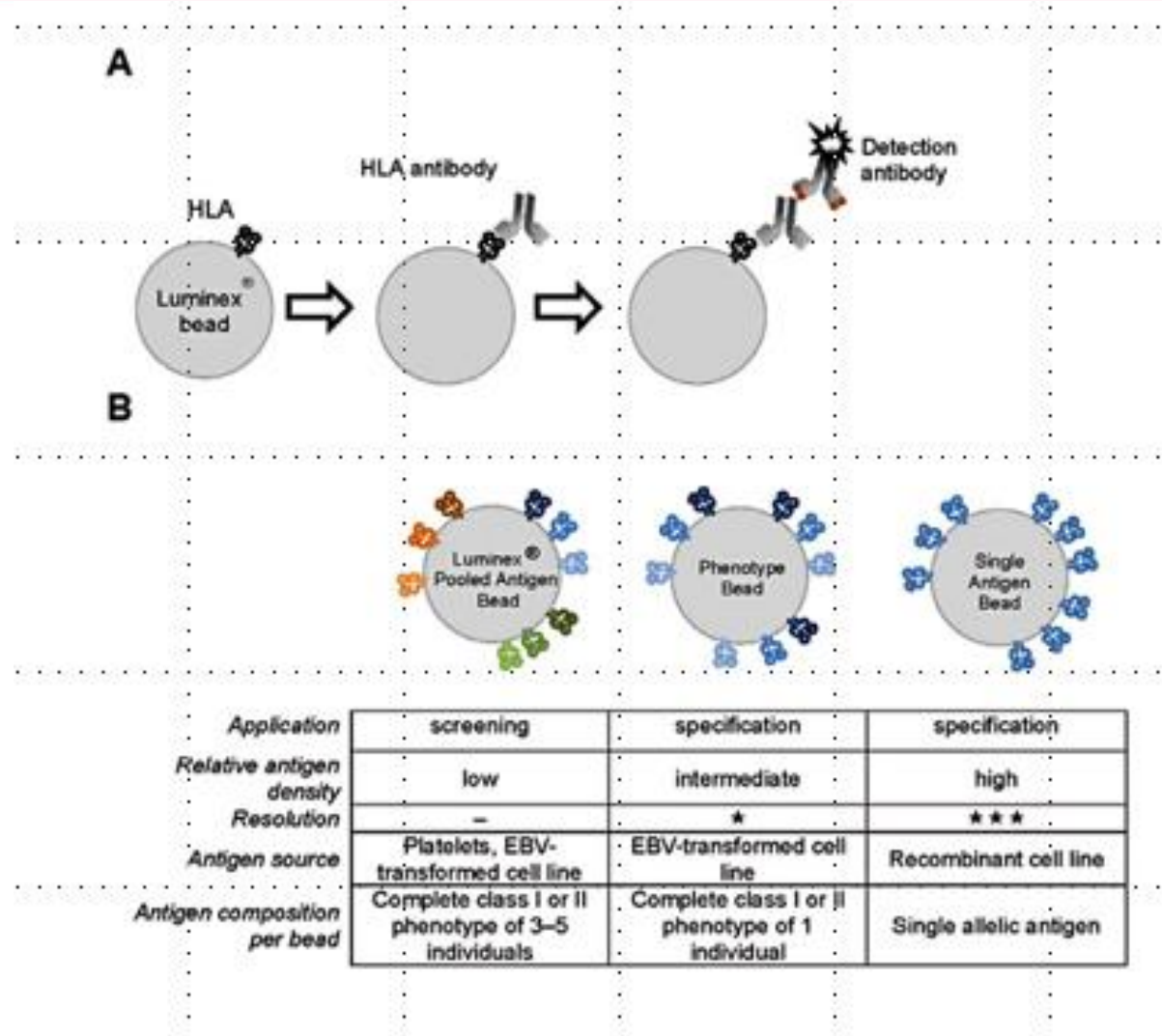
Klinik Gözlemler

- Aşı sonrası **DSA gelişimi çok nadir** bildirilmiştir
- Çoğu çalışma → **Aşıların güvenli olduğunu ve reddi artırmadığını** göstermektedir
- Aşılamamanın riski >>> Aşılama sonrası DSA gelişme riski
- Aşılamadan 1 ay sonra ek bir HLA antikor testi yapılmalı





Anti-HLA Antikor Testleri





Anti-HLA Antikor Tayini



Hangi kitleri kullanmalıyız?

Tarama Testi

- Hem HLA sınıf I hem de sınıf II'ye karşı duyarlılık oluşması, düşük greft sağkalım oranı

Single Antigen Bead Testi

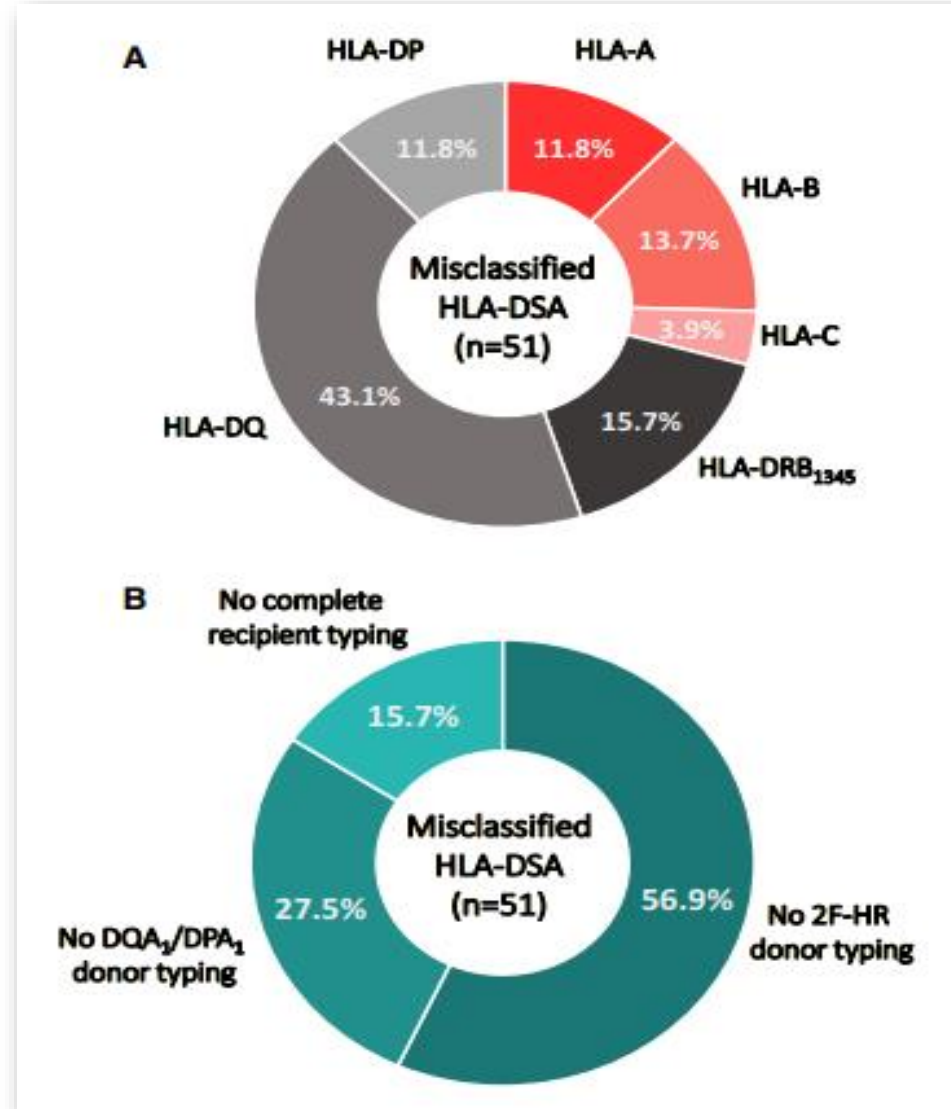
- Tek bir antijen düzeyinde hassas ve spesifik antikor profili
- HLA-A, B, C, DRB1/3/4/5, DQB1, DQA1, DPB1, DPA1 allellere karşı gelişen antikorları yüksek çözünürlüklü olarak belirleme
- Çapraz reaktif gruplara (CREG'ler) ve epletlere karşı reaksiyon modellerini belirleme ve bead panelinde temsil edilmeyen HLA moleküllerine karşı potansiyel reaksiyonları tahmin etme yeteneğidir.

Bead	Standart Risk (Canlı Verici)	Yüksek Risk (Canlı Verici)	Alıcı (Kadavra Donör)
Fenotip (Tanımlama)	10 (45.45%)	7 (31.82%)	10 (45.45%)
Single Antijen	8 (36.36%)	12 (54.55%)	4 (18.18%)

Süsal C, Transplantation. 2002
Lachmann N,. Transfus Med Hemother. 2013
San Segundo D, Int J Mol Sci. 2025
Ayna T, 2024



Doğru ve Eksiksiz DSA Tayini





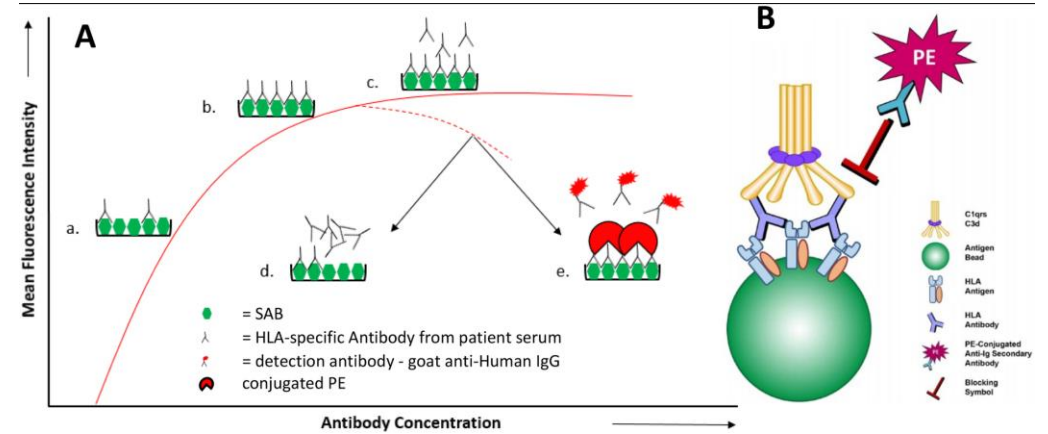
Teknik Sınırlamalar İnhibisyon Etkisi

Hook Etkisi (High-Dose Hook Effect)

- **Aşırı antikor varlığı**
- İkincil antikor, komplekslere bağlanamaz
- Sonuç: **Beklenenin altında düşük MFI ölçümü**

Prozon Fenomeni

- **Aşırı antikor veya inhibitörler**
- Antijen-antikor çapraz bağları oluşmaz
- Reaksiyon çıkmaz → **Yanlış negatif**
- Sınıf I anti-HLA antikorlarında yüksek prevalans (>%70)



**IgM, kompleman ve immün kompleksler

- EDTA/ DTT/ ısı inaktivasyonu
- Riskli hastalarda dilüsyon
- Yüksek titreli (MFI 18.000 üstü) HLA antikorlarının gerçek "gücünü" belirlemek için serum seri dilüsyonlarla testlenmeli

Desensitizasyon kararında dilüsyon kritik!!!

Tambur AR, HLA. 2022

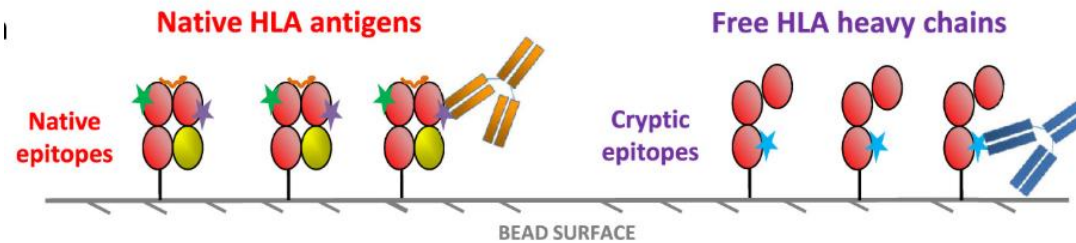
San Segundo D, Int J Mol Sci. 2025



Teknik Sınırlamalar Denatüre Beadler

Denatüre HLA molekülü, kriptik antijen ve serbest beta2-mikroglobuline bağlı non spesifik pozitiflikler

Belirli A lokusu	Kan bağışçıları arasında antikor sıklığı, %	Kafkas antijen sıklığı, %	Belirli B lokusu	Kan bağışçıları arasında antikor sıklığı, %	Kafkas antijen sıklığı, %
A*30:02	18.9	0,9	B*15:12	11.1	0
A*31:01	11.3	2.3	B*82:01	10.4	0
A*80:01	8.5	0	B*15:16	9.9	0
A*34:01	6.8	0	B*37:01	7.8	1.3
A*66:02	6.6	0	B*44:02	6.1	9.0
A*43:01	5.9	0	B*45:01	5.9	0,4
A*66:01	5.9	0.2	B*81:01	4.7	0

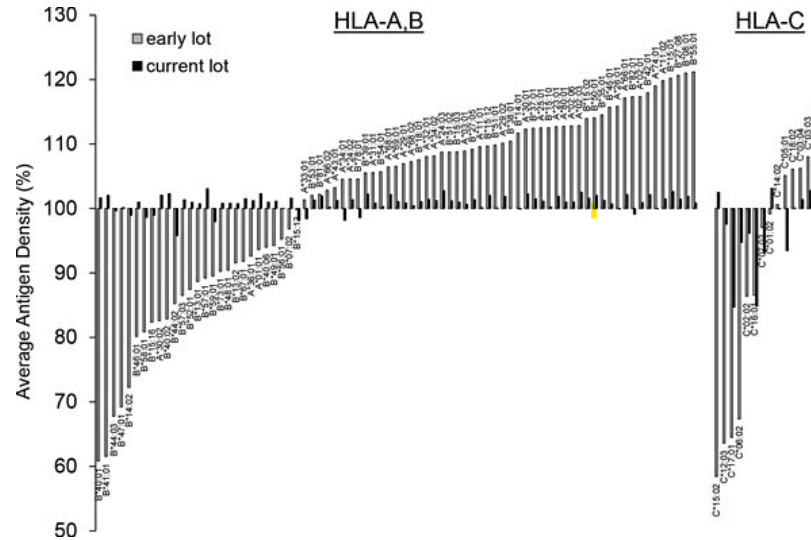


HLA sınıf I bead (ağır zincir + β 2m + peptit)



Teknik Sınırlamalar HLA Yoğunluğu Farkı

- Hücrelerdeki doğal ekspresyona kıyasla bead üzerinde daha fazla antijen (özellikle C, DQ ve DP) bulunur
- Her lot farklı yoğunlukta HLA antijenini barındırır
- Test başına düşen bead konsantrasyonu farklıdır
- Tedarikçiler arasında HLA kombinasyonunda farklılıklar var





Teknik Sınırlamalar Nadir HLA Alelleri

- Sınırlı sayıda HLA antijeni tarıyoruz: Sınıf I kiti 100 bead, Sınıf II kiti 100 farklı bead; yaygın allelleri içerir

ExPlex paneli, 54 ek Sınıf I ve 24 Sınıf II tek antijenle genişletilmiş HLA Antikor kapsamı

Class I									
A*01:02	A*02:10	A*26:02	B*07:14	B*15:21	B*35:08	B*39:06	B*42:02	C*01:03	C*08:04
A*02:05	A*02:18	A*26:03	B*15:04	B*15:24	B*35:12	B*39:13	B*48:02	C*02:10	C*12:02
A*02:07	A*03:02		B*15:06	B*15:27	B*38:02	B*40:03	B*50:02	C*04:03	C*14:03
			B*15:07	B*27:04	B*39:02	B*40:04	B*55:02	C*07:01	C*15:05
			B*15:17	B*27:06	B*39:04	B*40:05	B*55:04	C*07:04	C*16:02
			B*15:18	B*35:02	B*39:05	B*41:02	B*56:03	C*08:02	C*17:03
			B*15:20	B*35:03				C*08:03	C*18:01

Class II							
DRB1*04:06	DRB1*08:07	DRB3*02:01		DPB1*02:02	DPA1*01:03	DPB1*40:01	DPA1*01:05
DRB1*04:07	DRB1*13:02	DRB5*01:02		DPB1*26:01	DPA1*03:01	DPB1*85:01	DPA1*01:03
DRB1*04:10	DRB1*14:04			DPB1*30:01	DPA1*02:01	DPB1*105:01	DPA1*02:01
DRB1*04:11	DRB1*14:05			DPB1*31:01	DPA1*03:01	DPB1*107:01	DPA1*02:01
DRB1*08:02	DRB1*14:06	DQB1*03:19	DQA1*02:01				
DRB1*08:03	DRB1*14:03	DQB1*05:03	DQA1*01:01				

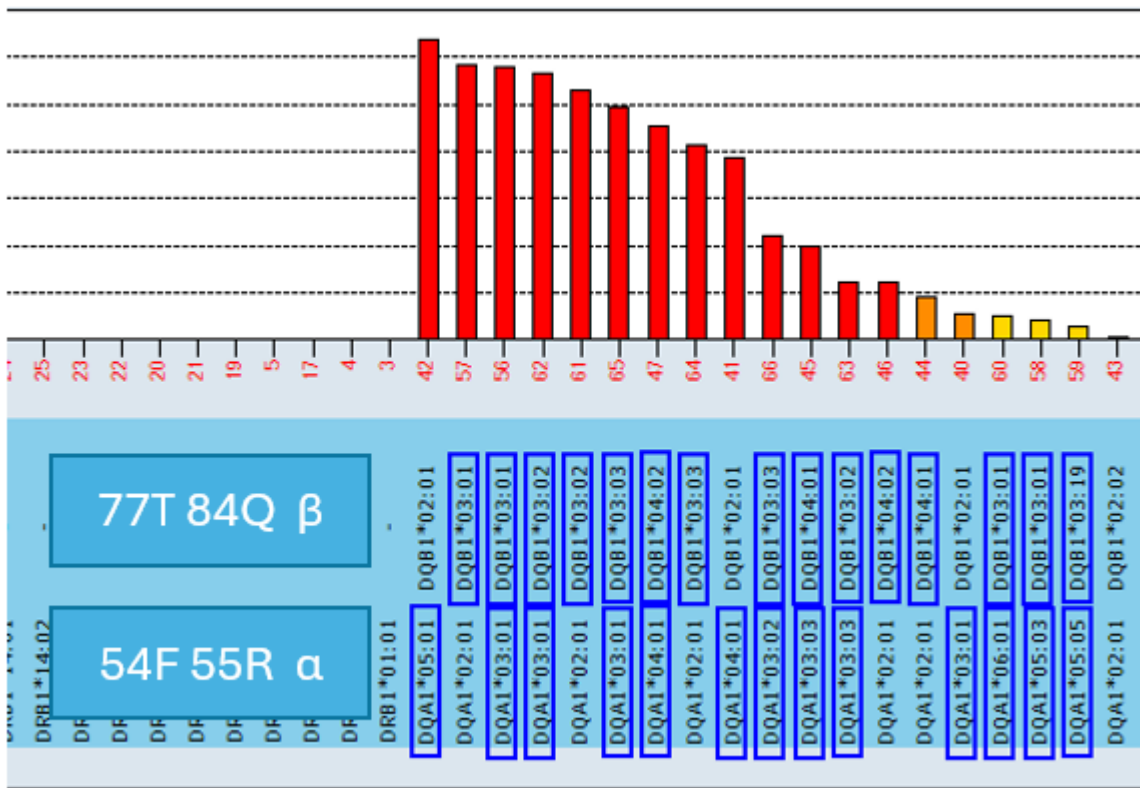


Nadir HLA Alellerine Yönelik Antikor Varlığı Eplet Analizi ile Belirlenebilir



Nadir alleller için; donör uyumsuz eplet analizi yapılmalı

<https://www.epregistry.com.br/>



HLA Eplet Registry

HLA-ABC HLA-DRB HLA-DQ HLA-DP HLA-MICA Interlocus Mismatch Calc. Publications New pattern Changelog Contact

New: Subscribe and stay updated!
Click here and enter your email address to receive notifications about new updates of this registry.

HLA-ABC eplets Software version: 2025-02-01. IPD-IMGT/HLA: 3.61

Search Filters

ID	Name	Description	Evidence**	Exposition*	Status	Str. eplet	Frequency	3D View (Luminex® Alleles)	All Alleles
1	1C	1C		High		View	View	C*01:02, C*01:03, C*02:02, C*02:10, C*05:01, C*06:02, C*07:01, C*07:02, C*07:04, C*08:01, C*08:02, C*08:03, C*08:04, C*12:02, C*12:03, C*14:02, C*14:03, C*15:02, C*15:05, C*16:01, C*16:02, C*18:01, C*18:02	View (2340)
2	9D	9D		Very low			View	B*08:01, C*06:02, C*07:01, C*07:02, C*07:04, C*18:01, C*18:02	View (1787)
3	9F	9F		Very low			View	A*01:01, A*02:01, A*02:02, A*02:03, A*02:07, A*02:18, A*03:01, A*03:02, A*32:01, A*36:01, A*74:01, A*80:01, C*01:02, C*01:03	View (2312)
4	9H	9H		Very low			View	B*18:01, B*27:03, B*27:04, B*27:05, B*27:06, B*27:08, B*37:01, B*40:01, B*40:02, B*40:03, B*40:04, B*40:05, B*40:06, B*41:01, B*41:02, B*42:02, B*45:01, B*49:01, B*50:01, B*50:02, B*73:01	View (1527)

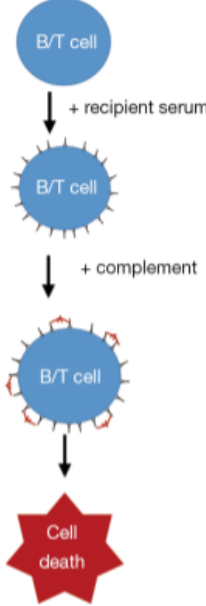
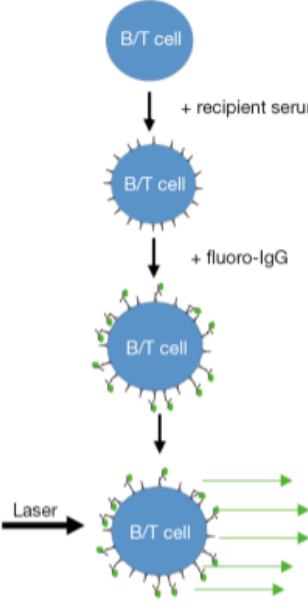
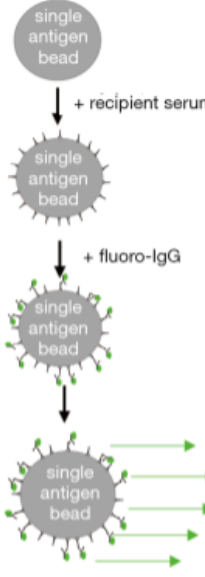


- Doku Grubu Antijenlerinin Tiplemesi
- Anti-HLA/ Donör Spesifik Antikor (DSA)
- **Crossmatch (DSA reaktivitesi)**



Crossmatch Testleri

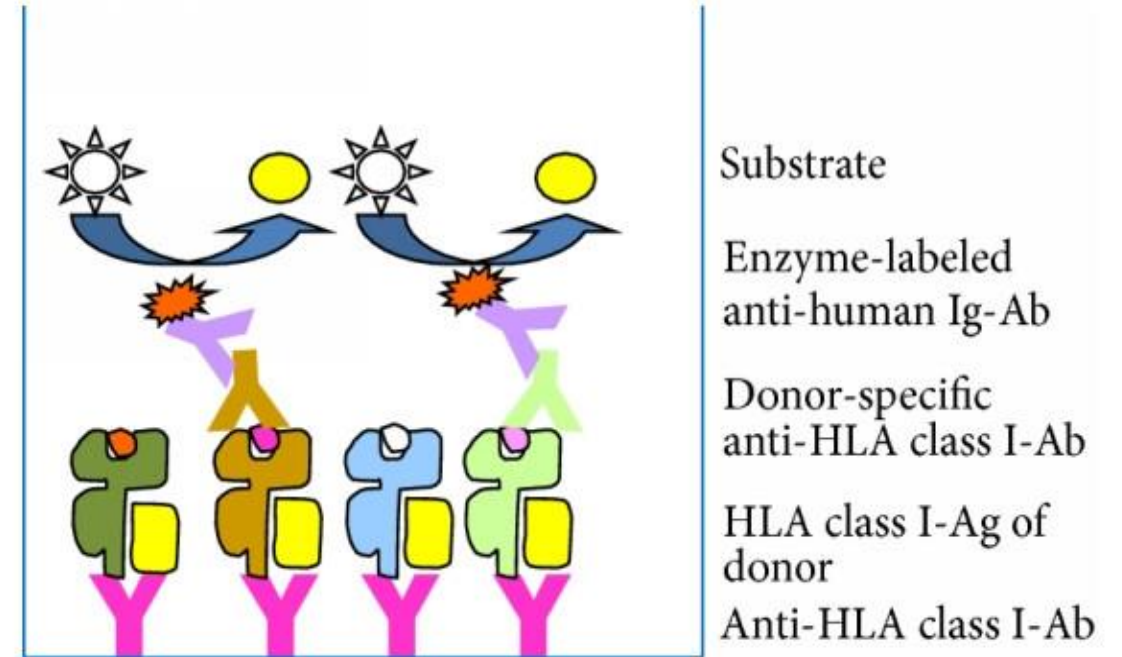
- Alıcı serumunda reaktif DSA'yı değerlendirmek için crossmatch testi yapılır.

Antibody test methods	CDC cross match	Flow cross match	Solid phase single antigen assay
Diagram of protocols			
Usage of test	Usually pre-transplant	Usually pre-transplant	Both pre- and post-transplant
Antigen source	Native antigens on donor lymphocytes	Native antigens on donor lymphocytes	Purified single antigens on beads
Antibody detected	Cytotoxic, complement fixing IgG and IgM, donor specific	Donor specific IgG	IgG anti-HLA antibodies in general
Antibody specificity determined	No	No	Yes (HLA)
Quantitation	Scale 1-8 binary	Semi-quantitative	Semi-quantitative
Sensitivity	Low	Intermediate	High
Repeatability	Low	Low to intermediate	High
Requirement for live cells	Yes	Yes	No



Crossmatch Testi Teknik Sınırlamalar

- Terapötik antikor kullanan hastalarda
(Rituximab (anti-CD20) ve Basiliximab (Simulect)
(anti-CD25)) yalancı pozitiflik
- Bazı ilaçlar (statin veya steroid gibi) hücre
yüzeylerinde HLA moleküllerinin ekspresyonu
düşürebilir; yanlış negatiflik
- Non-HLA, otoantikor ve immün komplekslere
bağlı pozitiflik
- Enfeksiyon ve aşılarla bağlı pozitiflikler



ELISA crossmatch



Pre-op Alloimmün Risk Yaklaşımı

Hastanın risk potansiyeli!!!!!!

Hastadan detaylı sensitizasyon anemnezi alınmalıdır
(kan transfüzyonu, gebelik, geçirilmiş nakil; aşı ve enfeksiyon...)

Kan Transfüzyonu	☐ Var	☒ Yok	Sayısı	Var ise son transfüzyon tarihi	 / /
Gebelik	☐ Var	☒ Yok	Sayısı	Var ise son gebelik tarihi	 / /
Geçirilmiş Nakil	☐ Var	☒ Yok		Son nakli tarihi	 / /
Tx Nefrektomi	☐ Var	☐ Yok		Var ise nefrektomi tarihi	 / /
ATG/Rituximab Kullanımı	☐ Var	☐ Yok		Ötoimmün Hastalık	☐ Var ☐ Yok
Önceki Donörün HLA Sonuçları	☐ Var	☐ Yok	(Var ise laboratuvara gönderilmesi rica olunur)	Primer Tanı	



Alloimmün Risk Yaklaşımı

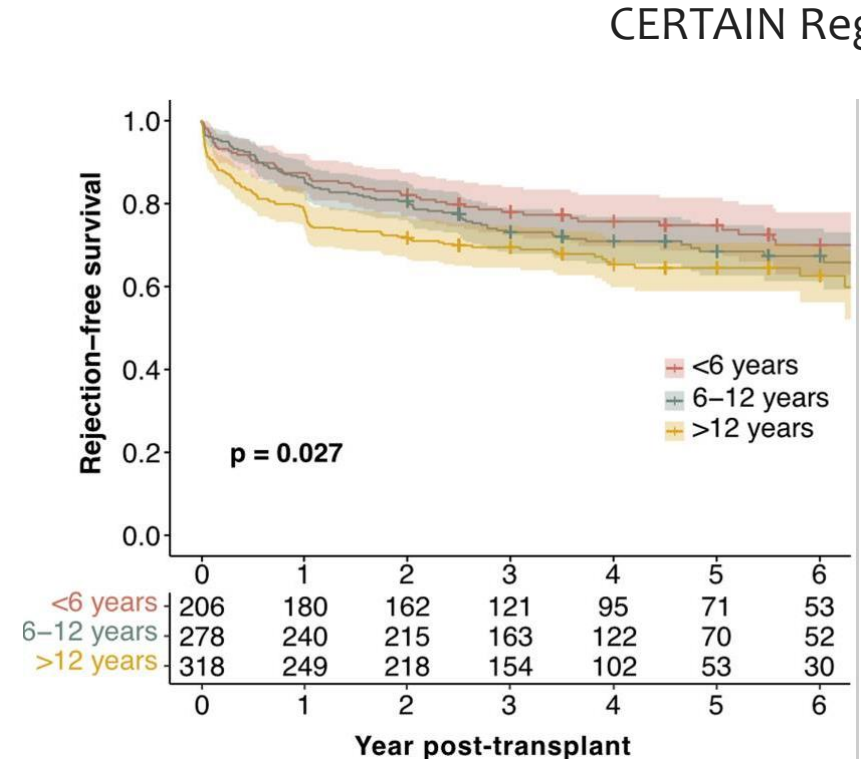
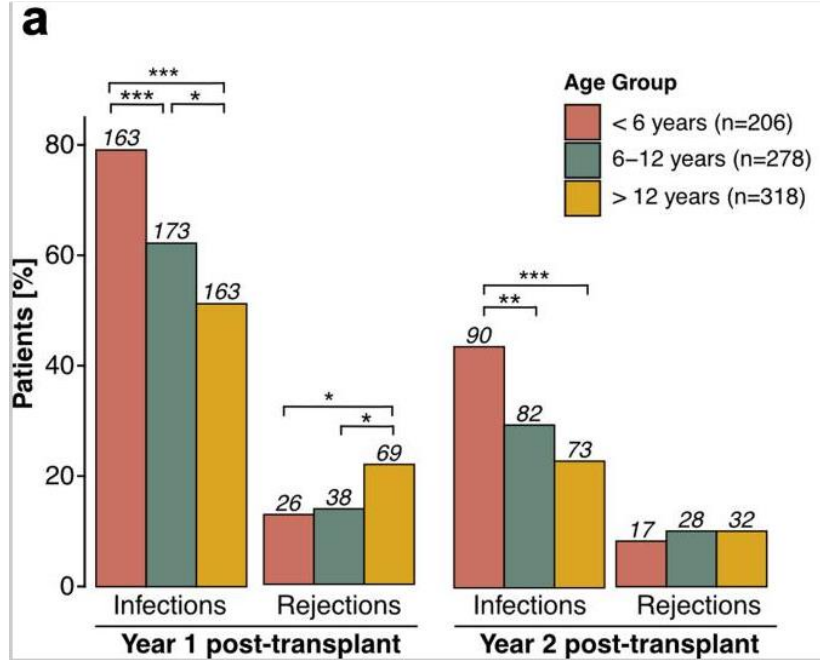
Pretransplant donor–recipient HLA laboratory evaluation

CDC crossmatch	Flow crossmatch	Single antigen bead	History of sensitization	HLA molecular MM	HLA identical	Immune risk assessment
DSA positive	DSA positive	DSA positive				Active memory and at risk for hyperacute rejection
Negative	DSA positive	DSA positive				Active memory and at risk for ABMR and TCMR
Negative	Negative	DSA positive				Active memory and at risk for ABMR and TCMR
Negative	Negative	Negative	Pregnancy or prior transplant with repeat MM			At risk for latent memory with a recall B and T cell response
Negative	Negative	Negative	cPRA with unknown repeat MM			Potential risk for latent memory with a recall B and T cell response
Negative	Negative	Negative	No	High		Increased risk for de novo alloimmune response
Negative	Negative	Negative	No	Low		Baseline risk for de novo alloimmune response
Negative	Negative	Negative	No	0	Yes	Low risk for de novo alloimmune response

MM, Mismatch; DSA, donor-specific antibody; ABMR, antibody-mediated rejection; TCMR, T cell-mediated rejection.



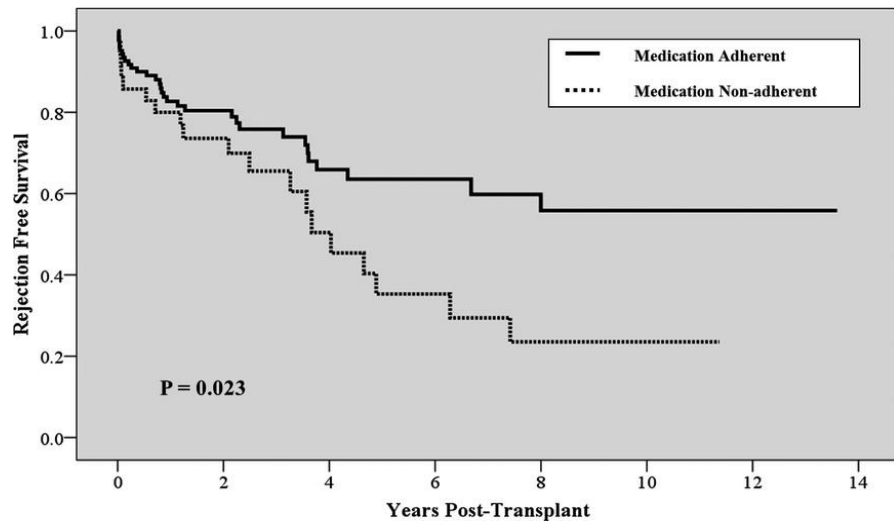
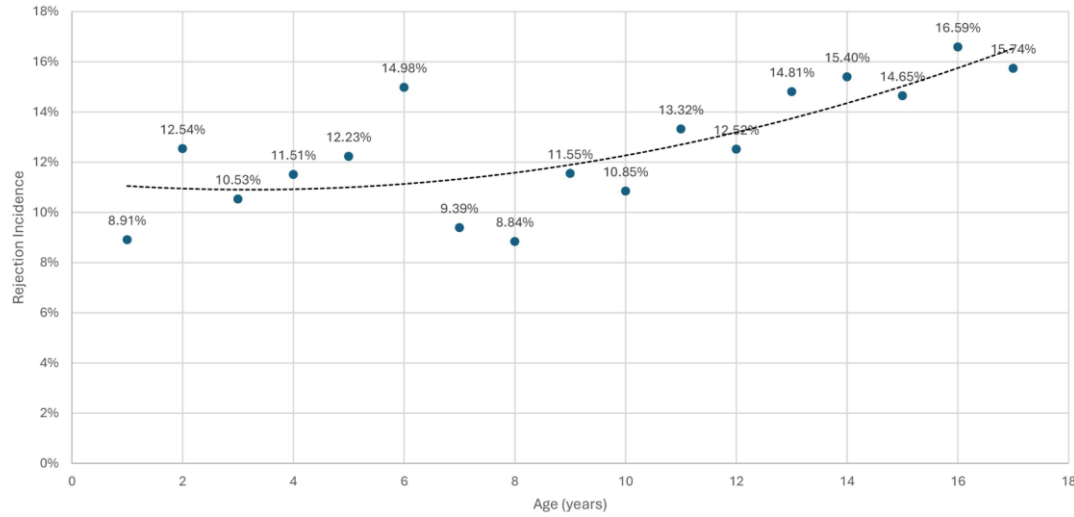
Pediatric Hastalarda Nakil Sonrası



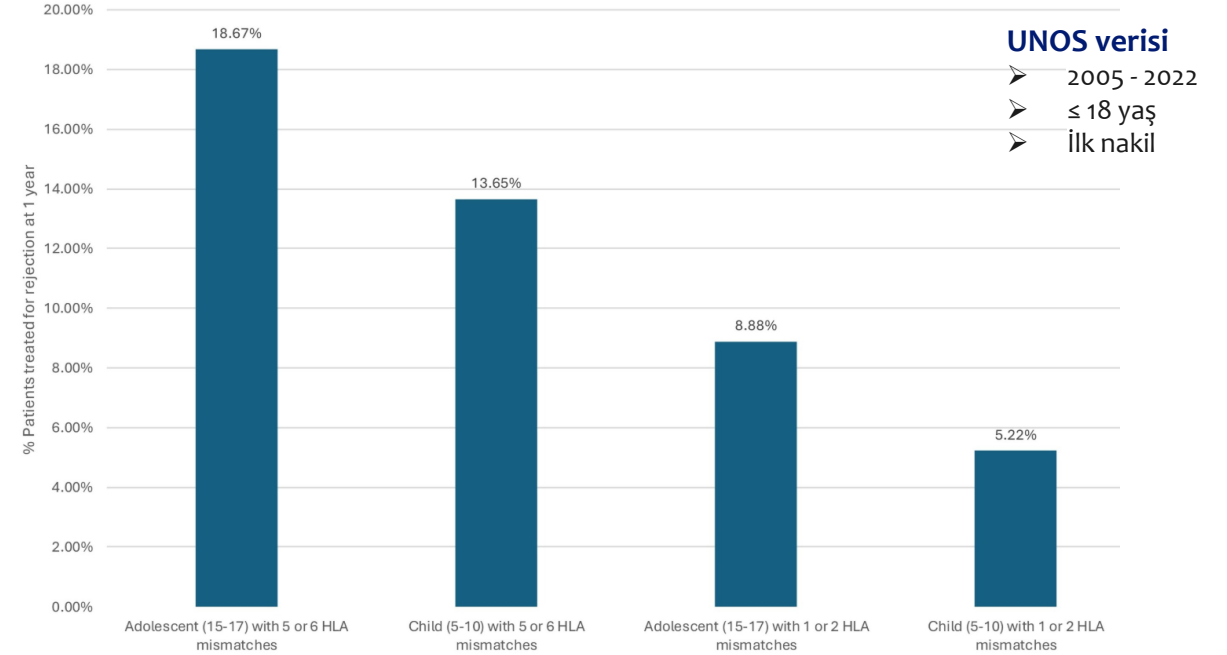
BPAR, nakilden sonraki ilk 2 yıl içinde hastaların %23,8'inde meydana gelen ikinci en yaygın olay



Artan rejeksiyon insidansı

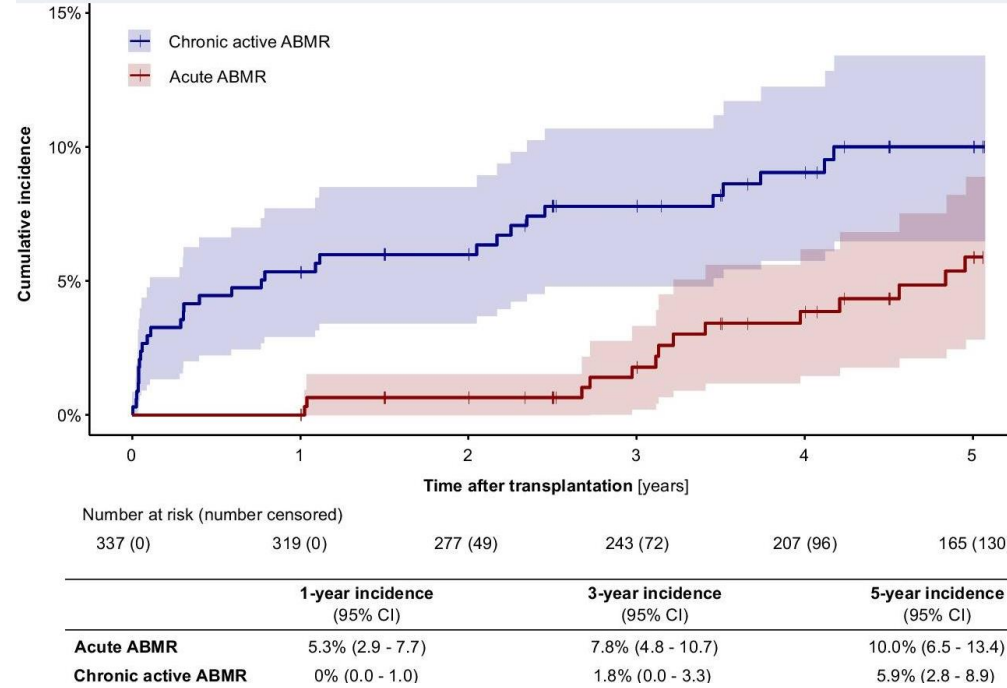
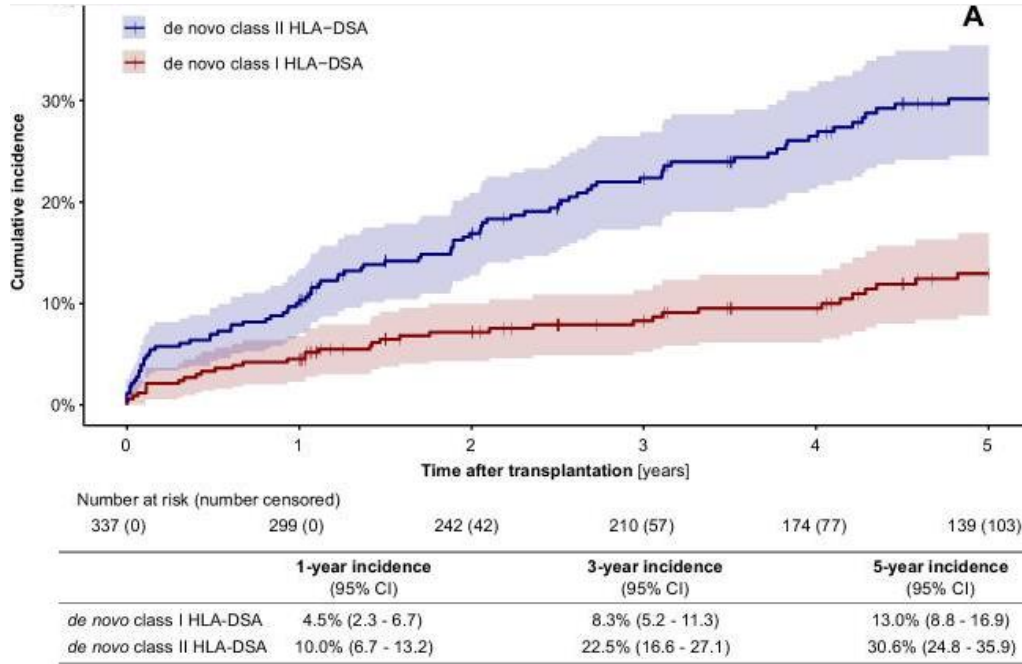


Contrasting Rejection Rates in High- vs. Low-Risk Immunologic Profiles





De novo DSA insidansı



CERTAIN verisi

- 2006 - 2021
- ≤ 21 yaş
- 337 hasta
- %30,3 canlı donör
- Düşük immünolojik risk (pre op %3,9 HLA-DSA varlığı)

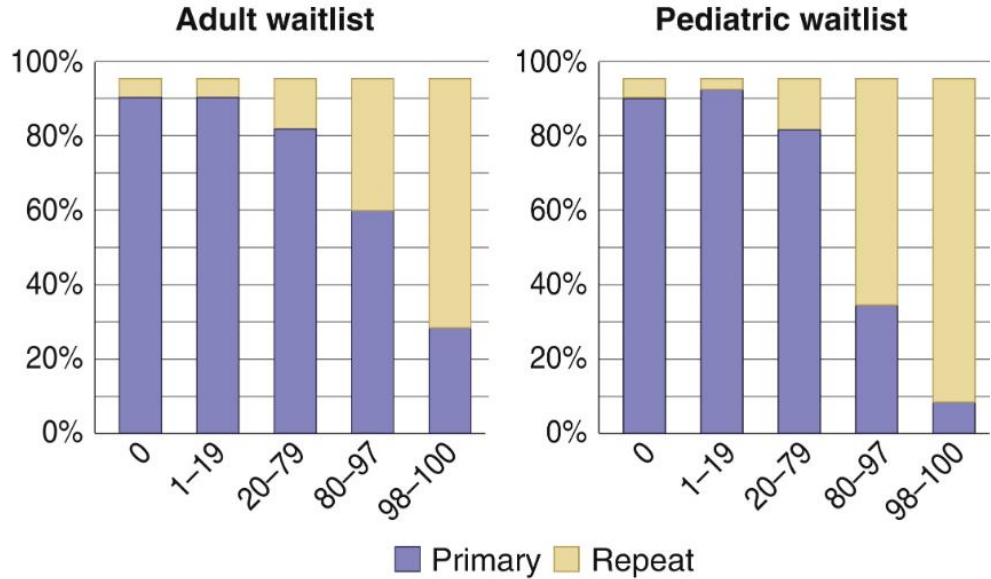
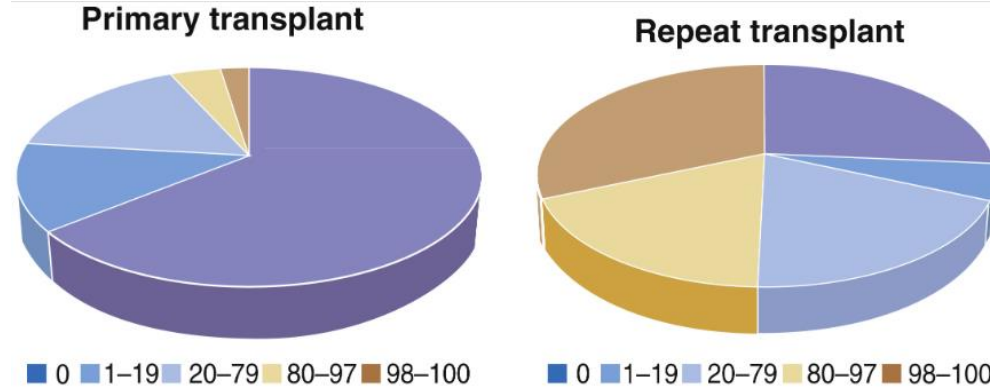
Sınıf I: 1yıl %4,5 – 3. yıl %8,3 – 5. yıl %13
Sınıf II: 1 yıl %10 – 3. yıl %22,5 – 5. yıl %30,6

Risk faktörleri

- HLA-DR uyumsuzluğu
- de novo HLA-DSA (özellikle sınıf I + II çift pozitif)
- > 1 Tx



İlk Nakilden Sonra Duyarlılık Tehlikesi



2021 yılı OPTN verileri

- İlk nakilden sonra duyarlılık riski pediatrik ve genç yetişkin popülasyonda daha yüksek
- Re-transplantasyon bekleyen pediatrik hastaların **%39'unda cPRA $\geq$ %98**
- En sık de novo **HLA-DQ** lokusuna spesifik antikor görülüyor

Koç Üniversitesi Hastanesi verisi

%62,5 HLA-DQ

%58,3 HLA-DR

%38,8 HLA-A



Çocuklar erişkinlerden farklıdır

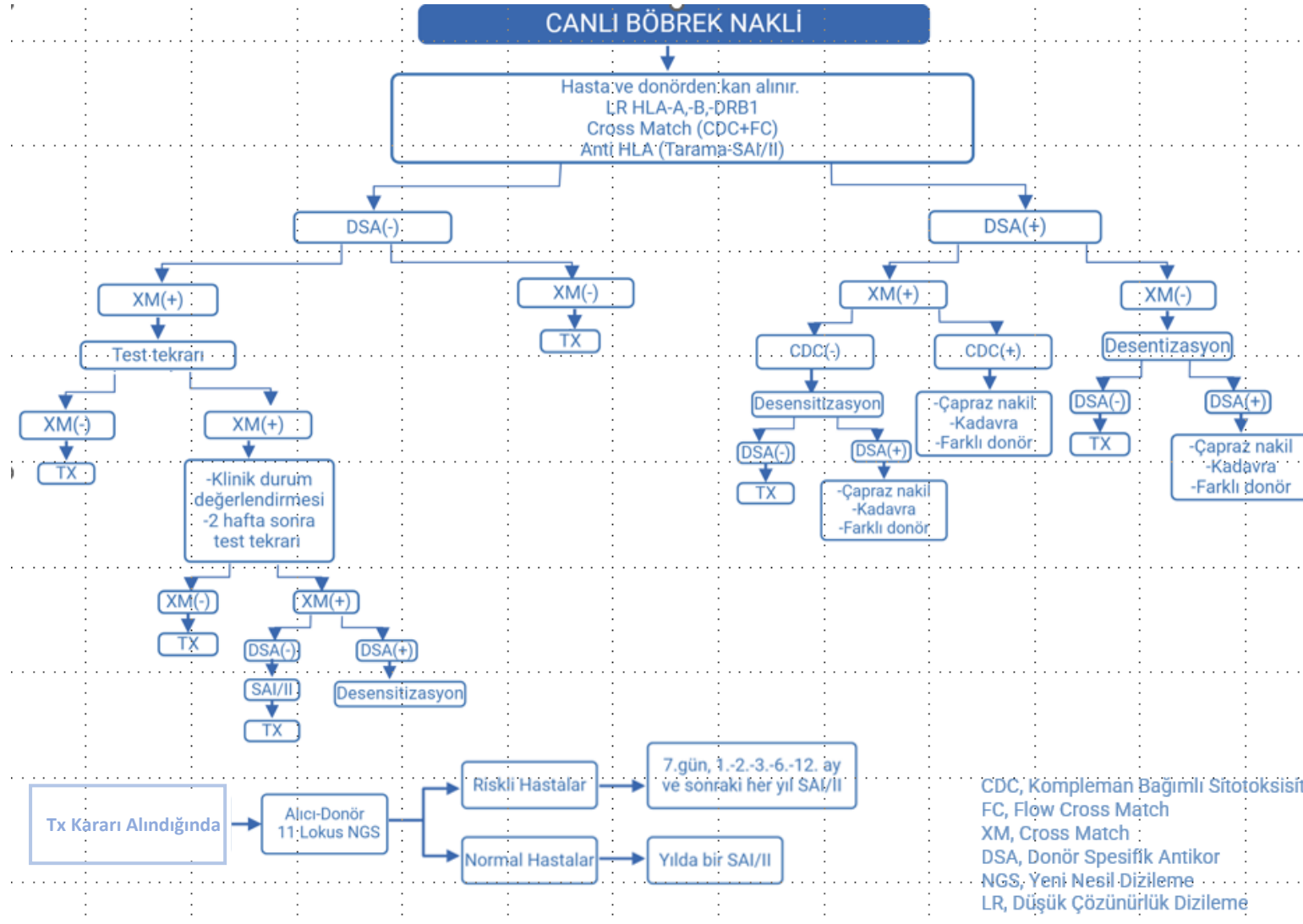
- Daha uzun yaşam beklentisi → **birden fazla nakil ihtiyacı (retransplantasyon) kaçınılmaz**
- Enfeksiyon ve aşılama süreçleri kritik

Riskler

- İmmünosüpresif ilaçlara düşük uyum (özellikle ergenlerde)
- Tekrarlayan enfeksiyonlar → ilaç dozunun azaltılması
- Yetersiz immünosüpresyon → artan de novo DSA, rejeksiyon
- Uzun vadeli ilaç kullanıma bağlı ilaç toksisiteleri (CNI, steroid)
- Eşlik eden hastalıklar → enfeksiyon, malignite

Biz ne yapabiliriz?

- Nakil öncesi immünolojik değerlendirmeyi titizlikle yapmalıyız
- Nakil sonrası düzenli anti-HLA takibi





Teşekkürler



**Çocuklar geleceğimiz
onlara en iyi hizmeti sunmak, hepimizin sorumluluğu!**