

# İmmünesupresif İlaçların Etki Mekanizmaları

Effect Mechanism Of Immunosuppressive Drugs

<sup>1</sup>Arş.Gör.Dr. Tülay Kılıçaslan AYNA

<sup>1</sup>Arş.Gör. Hayriye Şentürk ÇİFTÇİ

<sup>2</sup>Yrd. Doç. Dr. Hilmi TOZKİR

<sup>1</sup>Prof.Dr. Mehmet GÜRTEKİN

<sup>1</sup>Prof.Dr. Mahmut ÇARİN

<sup>1</sup>İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

<sup>2</sup>Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Gaziantep Tıp Dergisi 2009;15(3):42-47.

## Özet

Etkili immünesupresyon, başarılı bir organ transplantasyonu için önemlidir. Burada solid organ transplantasyonunda kullanılan farklı immünesupresif ajanlara genel bir bakış yapacağız. İmmünesupresif ajanların sayısı gün geçtikçe artmaktadır. Bu ajanlar, allografta karşı oluşan immunolojik cevabın farklı basamaklarını hedef alırlar. Bu immünesupresif ajanlar: steroidler, anti-proliferatif ajanlar (azatiyopirin ve mikofenolat), kalsinörin inhibitörleri (siklosporin ve tacrolimus), TOR inhibitörleri (sirolimus ve everolimus) poliklonal ve monoklonal antikor preparasyonlarıdır.

**Anahtar kelimeler:** Organ transplantasyonu, İmmünesupresif tedavi

## Abstract

Effective immunosuppression is a key to successful organ transplantation. This study will provide an overview of different immunosuppressive agents used in solid organ transplantation. An increasing number of immunosuppressive agents are available and these agents target different steps of the immunological response to an allograft. These immunosuppressive agents are steroids, anti-proliferative agents (azathioprine and mycophenolate), calcineurin inhibitors (cyclosporine and tacrolimus), TOR inhibitors (sirolimus and everolimus), polyclonal and monoclonal antibody preparations.

**Key Words:** Organ transplantation, Immunosuppressive therapy

## Giriş

Organ ve doku naklinde, immünesupresif tedavinin amacı, alıcı da graft (nakledilen doku veya organ)'a karşı tolerans oluşturmak, red olayının gerçekleşmesini önlemektir. Bu da graftın sağ kalım süresinin ve/veya hastanın yaşam süresinin uzamasını sağlamaktadır. Bu avantaj sayesinde graftın sağ kalım süresi ve/veya hastanın yaşam süresi uzamaktadır. The United Network of Organ Sharing (UNOS) verileri, canlı donörden yapılan böbrek transplantasyonlarında nakil sonrası 1., 3. ve 5. yıllardaki graft sağ kalım oranlarını %94.5, %87 ve %78.4 olarak bildirmiştir. Bu oran kadavradan yapılan böbrek nakillerinde ise, %89.4, %76.3 ve %64.7'dir. Son veriler böbrek transplantasyonlarında graft yetmezlik riskinin, akut rejeksiyon ataklarına sahip olan alıcılarda %0.4, akut rejeksiyon atakları geçirmeyen alıcılarda ise %6.3 oranında azaldığını göstermektedir. İmmünesupresif ajanlardaki gelişmelerle daha etkili, daha güvenli ve daha hedefe yönelik bir tedavi transplantasyondaki başarının artışına katkıda bulunmaktadır (1,2). İmmünesupresyon ile antijen tanınarak, red olayının oluşmasında kilit pozisyonunda bulunan T hücrelerinin antijeni saptama ve çoğalma, farklılaşma ve antikor yapımı işlevi baskılanmaktadır.

Temel olarak iki immünesupresyon yöntemi vardır.

- Nonspesifik immünesupresyon
- Spesifik immünesupresyon

Nonspesifik immünesupresyon, immun sistemin aktivasyonunu antijene bağlı olmaksızın engeller. Burada immun sistemin fonksiyonu her aşamada baskılandığı için alıcıyı enfeksiyonlara duyarlı hale getirir. En sık kullanılan non-spesifik immünesupresif ilaçlar steroidler, azatiyopirin, anti lenfosit globulin'lerdir.

Spesifik immünesupresyon, antigraft cevabı enfeksiyonlara duyarlılık artışına yol açmadan durduran protokollerle yapılan immünesupresyondur (3,4) (Şekil 1). 1950'lerde tüm vücut ışınlaması tek immünesupresyon yöntemi idi.

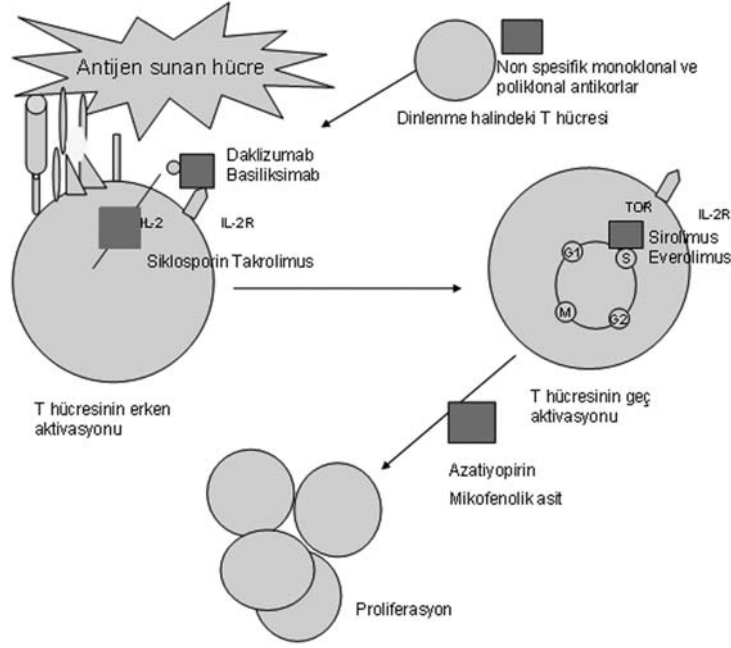
Arş.Gör.Dr. Tülay Kılıçaslan AYNA, İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Adres : İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Temel Bilimler Binası 34390 Çapa İSTANBUL

Tel: 0212 635 11 68 Faks: 0212 635 11 68 E-mail: tulayayna@gmail.com

Geliş Tarihi: 05.06.2009 Kabul Tarihi: 19.09.2009





**Şekil 1.** Yaptığımız bu çizimle farklı immünyosupresif ilaçların etkilerini özetleyebiliriz.

Reddi önleme konusunda faydalı olmasına rağmen, hastalar ya infeksiyondan ya da kemik iliği aplazisinden dolayı kaybedilmekte idi. 1960'larda AZA immünyosupresif tedavi protokollerine katıldı. Bu sayede graft yaşamının uzatılması, böbrek transplantasyonu yapan merkezlerin artmasına yol açmıştır. 1970'li ALG-ATG, 1980'li yıllarda ise CsA klinikte kullanılmaya başlamıştır.

CsA'nın böbrek transplantasyonunda kullanımı ile böbrek transplantasyonda graft yaşamında %10-15 oranında iyileşme sağlanmıştır. İmmün sistem reaksiyonlarındaki mekanizmaların daha detaylı saptanması ile kullanıma giren ilaçlar gün geçtikçe artmaktadır. Reddi engellemek amacıyla kullanılan immünyosupresiflerin çoğu "kritik doz ilaç" adını almaktadır. En iyi ve en düşük yan etkiyi belirlemek için de için kan düzeylerinin saptanması gerekmektedir (3,5). Farklı transplantasyon merkezlerinde farklı immünyosupresif tedavi protokolleri uygulanmakla birlikte, günümüzde mevcut immünyosupresif ilaçlar şöyle özetlenebilir.

### KORTİKOSTEROİDLER

Kortikosteroidlerin en önemli immünyosupresif etkileri Antijen Sunan Hücreler (ASH) ve T hücreleri üzerinedir. Kortikosteroidler, ASH'dan salınan sitokinlerin (IL-1, IL-6) hücre yüzeyinde ekspres olmasını engeller. Ayrıca immün reaksiyonlarda önemli rol oynayan IL-2'nin üretimini baskılayarak, T hücre proliferasyonuna da engel olur. Sitoplazmaya geçtikten sonra, 90 kd ağırlığındaki ısı-şok-proteini ile birlikte bulunan sitoplazmik reseptörüne bağlanır. Bu bağlanma ile ısı-şok proteini kompleksten ayrılır ve reseptör steroid ikilisi hücre çekirdeğine geçerek glikokortikoid yanıt elemanları olarak adlandırılan DNA dizisine bağlanır.

Bu bağlanma ile sitokin gen kopyalamasının inhibe edildiği düşünülmektedir. Bu etki mekanizması ile kortikosteroidler, birçok sitokin sentezinde rol oynayan Nükleer Faktör kapa-beta (NK- $\kappa$ B)'nin çekirdeğe geçiş DNA'ya bağlanmasını önlemektedir. Anti enflamatuar etkileri ise muhtemelen monositlerin inflamasyon alanına göçünü engellemek suretiyle gerçekleşmektedir (8-9).

Genelde transplantasyon pratiğinde, prednizon ve prednizolon formunda kullanılan steroidler hızla emilir. Yaklaşık 1-3 saatte serumda yüksek değerlere ulaşır. Prednizon ve prednizolon ikili veya üçlü protokollerde nonspesifik bir ajan olarak kullanılmaktadır. Akut redlerin tedavisinde metil prednizolon kullanılmaktadır (8,10).

### AZATİYOPİRİN (AZA)

AZA karaciğerde metabolize olarak, önce 6-merkaptopurin'e daha sonrada aktif formu olan 6-thioisinic aside dönüşmektedir. 6-thioisinic asit, hücrenin DNA'sı ile birleşerek purin nükleotid sentezini inhibe eden ve RNA sentez ve metabolizmasını bozan bir purin analogudur. Bu ajan genel miyelosit baskılayıcısıdır. Kemik iliğinde promiyelositlerin proliferasyonunu inhibe ederek monosit sayısını azaltmaktadır.

Bu ilacın kullanımını etkileyen en önemli yan etkidir. AZA, siklosporinin transplantasyon merkezlerinde kullanılmaya başlamasından sonra yardımcı ilaç pozisyonuna düşmüştür. Günümüzde mikofenolat mofetil (MMF)'in kullanıma girmesi ile nakil sonrası dönemde daha da az kullanılmaktadır (4,10).

## KALSİNÖRİN İNHİBİTÖRLERİ

**Siklosporin (CsA):** Fungal kaynaklı bir makroliddir. Kalsiyuma bağlı IL-2 üretimini engelleyen bir siklik peptiddir. Sitoplazmaya geçen CsA, reseptörü olan siklofiline bağlanarak kalsinörin isimli enzimin aktivitesini ve bu yolla nükleer faktör (NF-ATc) aktivasyonunu engeller. Böylece başta IL-2 olmak üzere IL-4, Interferon-gama (IFN-), Tümör Nekroz Faktör-alfa (TNF-)'nın gen transkripsiyonu ve IL-2 Reseptör (IL-2R) ekspresyonu engellenmektedir. Bu sayede lenfosit proliferasyonu da engellenmektedir (10). CsA kritik doz ilaç grubuna girmektedir. Bu ilaçlarda kan düzeyleri ve buna bağlı olarak da ilaç kan seviyelerinin takibi hasta ve graft açısından önem kazanmaktadır. CsA kullanıma sunulduğu zaman toksik komplikasyonu ile daha uyumlu olduğu düşünülen çentik düzeyi (trough level-C0) ölçülmekte idi. CsA uygulandıktan sonra yüksek konsantrasyona ulaşma zamanı 0-4 saat arasındadır. Özellikle ilaç uygulandıktan sonra 2. saatte en yüksek kan düzeyine ulaşmaktadır.

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalındaki İmmünesupresif laboratuvarında, yaptığımız bir çalışmada, böbrek transplantasyonu olmuş hastaların farklı dilüsyonlarda C2 düzeyleri saptanmış ve iki farklı dilüsyon çalışmasının birbiri ile uyumlu olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonucunda C2 kan düzeylerinin C0 kan düzeylerinden yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca laboratuvarımızda geliştirdiğimiz dilüsyon çalışmasının maliyetininin daha düşük olduğu belirlenmiştir (11). Nakil öncesi böbrek hasta-verici çiftlerine uyguladığımız bir diğer çalışmada, Karşık Lenfosit Kültür (Mixed Lymphocyte Culture-MLC) testinde farklı kombinasyonlarda hücrelerin proliferasyonu değerlendirilmiştir. Fitohemaglotinin ile stimüle edilen hasta verici çiftlerinde en düşük inhibisyona CsA-Aza-MeP sebep olurken, en yüksek inhibisyon FK-506-MMF-MeP kombinasyonunda görülmüştür (12). Bir başka çalışmamızda ise, MLC teste IL-2 ilave edilerek test modifiye edilmiştir.

Bu şekilde kemik iliği transplantasyonu yapılması planlanan hasta-verici çiftlerinin saptanamayan İnsan Lökosit Antijenleri (Human Leucocyte Antigen-HLA) farklılığının saptanmasına çalışılmıştır. Bu kombinasyonlar üzerine CsA ve MeP ilave edilerek hastaların direnç ve duyarlılıkları araştırılmıştır. Sonuç olarak hastaların büyük bölümünün CsA'ya duyarlı olduğu saptanmıştır (13). Siklosporinde immünesupresyonu sağlayan temel molekül CsA'dır. Ancak sıklıkla görülen AM1, AM9, AM4N gibi metabolitler de düşük düzeyde immünesupresif etkiye sahiptir. Bu nedenle CsA'nın spesifik olarak monitorize edilmesi tedavi açısından önemlidir (10,14,15).

Kan CsA düzeyleri plazmadan veya tam kandan ölçülebilmektedir. Plazma düzeyleri ısı bağımlı olduğu için tam kan ölçümleri tercih edilmektedir. Ayrıca, CsA'nın 1/3'ü lipoproteinlere bağlanmış olarak plazmada bulunur. İlacın büyük bölümü, eritrositlere bağlanmaktadır. Bu sebeple de tam kan ilaç düzeyleri plazma düzeylerinden daha yüksektir.

Ayrıca tam kandan yapılan ölçümlerle daha anlamlı ve uygulamaya yönelik sonuçlar elde edilmektedir (10,15). Siklosporin gastrointestinal sistem ve karaciğer mikrozomal enzim sisteminde bulunan stokrom p450 tarafından metabolize edilir. Çok küçük bir kısmı böbrek yolu ile olmak üzere genellikle safra yolu ile atılmaktadır. p450 aktivitesini veya inhibisyonunu uyararak kalsinörin inhibitör seviyesini azaltan veya artıran birtakım ilaçlar mevcuttur (10,15).

**Takrolimus (TAC- FK 506):** TAC, Streptomyces tsukubaensis'den 1984 yılında elde edilmiş bir makrolid laktondur. Yapılan in vivo ve in vitro araştırmalarda immünesupresif gücünün CsA'dan 10-100 kat fazla olduğu gösterilmiştir. Molekül, fonksiyonel olarak bağlanma halkası ve efektör bölge olarak isimlendirilen iki kısımdan oluşmaktadır. TAC bağlanma domaini aracılığı ile FK 506-bağlanma proteini (FKBP)'ne bağlanarak bir kompleks yapar. Bu kompleks daha sonra efektör kısım aracılığı ile kalsinörine bağlanır. Böylece IL-2'nin gen transkripsiyonu önlenir (16-18).

TAC'ın sekiz metaboliti tesbit edilmiştir. Bunlardan M-II yüksek oranda çapraz reaksiyon gösterir. Karşık lenfosit kültür çalışmasında da immünesupresif etkisi tesbit edilmiştir. Çapraz reaksiyon veren diğer iki metaboliti M-II' ve M-V farmakolojik olarak aktif değildir (19). Böbrek transplantasyonu sonrası TAC kullanan hastaların kan düzeylerini iki farklı yöntem ile (Enzyme Linkage Immonosorbent Assay-EMIT ve Microparticle Enzyme Immunoassay-MEIA) belirlediğimiz bir çalışmada ,elde edilen sonuçların birbiri ile uyumlu olduğu, her iki yöntemin de TAC düzeyinin belirlenmesinde kullanılabilecek güvenilir, uygulaması kolay teknikler olduğu belirlenmiştir (20).

Sistemik dolaşımında TAC eritrositlere güçlü bir şekilde bağlanır. Tam kan ve plazmadan yapılan düzey çalışmalarında, konsantrasyonlarının dağılım oranı yaklaşık 20:1'dir (21). Eritrositler ve plazma arasındaki TAC'un dağılım oranı ise, hematokrit seviyelerine ve TAC konsantrasyonuna bağlıdır. Anabilim dalımızda yaptığımız bir araştırmada da hematokrit düzeyleri ile TAC kan düzeyleri arasında negatif bağlantı tesbit edilmiştir (22). Plazmada genel olarak serum albumini ve a-1 asit glikoproteine bağlanır. TAC'ın farmokinetik özellikleri önemli oranda kişisel farklılıklar gösterir. Bu nedenle verilecek olan doz, kan düzeylerine göre ayarlanmaktadır. Takrolimus sitokrom P450 sisteminin 3A4 izoenzimi ile temel olarak karaciğerde metabolize olur (21,23).

## MİKOFENOLAT MOFETİL (MMF)

1995 yılında klinikte kullanılmaya başlanan MMF, bir immünesupresif olan mikofenolik asitin (MPA) ester ön ilaç formudur. MMF'in aktif komponenti olan MPA Inosin Monofosfat Dehidrogenaz (IMPDH) enziminin seçici ve geri dönüşümlü inhibitörüdür. MPA'nın etki mekanizması purin sentezinin durdurulmasına dayanır. IMPDH de novo purin sentezinde hız sınırlayıcı enzimdir. IMPDH, de novo purin sentezinde hız sınırlayıcı bir enzimdir. İnosinden guanosin nükleotidlerin oluşumunu katalize eder.

Guanosin nükleotidlerin depleasyonu da T ve B lenfositler üzerinde antiproliferatif etki gösterir. IMPDH enziminin iki izotopu vardır. Tip I esas olarak lökositlerde bulunurken, tip 2 başta aktif lenfositler olmak üzere birçok dokuda saptanmıştır. MMF Tip 2 izoformunu daha fazla inhibe eder. İn vitro olarak MMF, T ve B hücre proliferasyonunu engeller ve sitotoksik T hücre oluşumunu inhibe eder. Ek olarak fibroblast ve endotelial hücrelerin mitojenik cevaplarını baskılar, karışık kültür cevabını engeller, adezyon moleküllerinin ve/veya ligandlarının glikozilasyonlarını azaltır (10,24). MMF gastrointestinal absorpsiyondan sonra hızla karaciğer tarafından hidrolize edilerek aktif formu MPA ortaya çıkar. Lipide çözünebilir MPA, inaktif metaboliti olan glukuronidinin aksine hücre içine kolayca geçebilir. MMF'in, temel metaboliti olan mikofenolik asit glukuronidin böbrekler yoluyla vucuttan atılır. MMF klinikte steroid ve kalsinörin inhibitörleri ile birlikte kullanılmaktadır (10).

### TOR İNHİBİTÖRLERİ

**Sirolimus (SRL-Rapamisin):** SRL ilk kez 1975'de *Streptomyces hygroscopicus*dan elde edilmiş, makrosiklik bir laktondur. Başlangıçta antifungal etkisi için çalışılmıştır. Yapılan in vitro çalışmalarda immunsupresif etkisi belirlenerek 1996'da ilk klinik uygulamaları başlamıştır (25). SRL alloantijenik cevabın ikinci fazı boyunca etki eder. T hücrelerinin verici antijenleri ile stimülasyonundan sonra, salınan IL-2'nin reseptörüne bağlanarak birçok siklin ve sikline bağlı kinazların (cdks) oluşumu ve sinyal yolunu aktive eden fosforilasyon kaskatı başlar. Fosforilasyon kaskatı IL-2 ile uyarılan T hücrelerini DNA sentez aşamasına yönlendirir. SRL da, intrasellüler reseptör FK-Bağlama proteini 12 (FKBP-12) 'ye bağlanır. SRL-FKBP-12 kompleksi kalsiyumdan bağımsız sinyal yolları targets of rapamycin (TORs-TOR1, TOR2)'e bağlanarak inhibe eder. Bu bağlanma T hücre döngüsünde G1/S geçişi için gerekli olan siklin-cdk kompleksinin aktivasyonunu engeller. SRL gastrointestinal sistemden hızlı bir biçimde emilmekte ve 1-2 saat içinde tepe yoğunluğuna ulaşmaktadır (25,26). Karaciğerde hem CYP3A hem de p-glikoprotein kanalı ile metabolize edilir. Sirolimus, karaciğerde ve ince bağırsak da sitokrom p-450 3A (CYP3A) ile metabolize edilir, hidroksi, demetil ve hidroksidemetili kapsayan yedi majör metaboliti tam kanda tespit edilmiştir. SRL kandaki temel bileşendir ve %90'dan daha büyük bir immunsupresif aktiviteye sahiptir (27). Altın standart olarak bilinen HPLC yöntemi ile saptanan SRL kan düzeyi sonuçları ile MEIA yöntemi ile belirlenen SRL kan düzeyleri karşılaştırıldığında, MEIA yönteminin de kliniği aydınlatıcı, hızlı ve doğru bir teknik olduğu belirlenmiştir (28).

**Everolimus:** Everolimus, sirolimustan türeyen yeni proliferasyon sinyal inhibitörüdür. Kalsiyum kanal blokerleri T hücre döngüsünün erken aşamaların etkilerken, everolimus G1 evresinden S fazına girişi önler. Everolimusun farmakokinetikleri CsA'ya dayalı tedavi alanlarda değerlendirilmiştir. Oral olarak alındığında hızla absorbe edildiği, 2 saat sonrada kanda en yüksek düzeye ulaştığı bilinmektedir.

Yarı ömrü SRL'den daha kısa olan everolimus daha kısa sürede sabit düzeylere ulaşır. Her iki ilaçta CsA nefrotoksitesini artırabilir. Bu etkiyi transforming growth faktör 1'in üretimini artıran farmakokinetik etkileşimlerden dolayı olduğu düşünülmektedir (10,29).

### ANTİLENFOSİT İMMUNGLOBULİNLER, MONOKLONAL ANTİKORLAR

**Antilenfosit serum:** (ALS) çalışmaları 1951'de Woodruff ve Formanın çalışmaları ile başlamıştır (4,10). Bu antikorlar, gama globulin elde etmek amacıyla insan lenfoid dokuları ile immunize edilen at ve tavşanlarda oluşan serumdan elde edilmektedir. Bu moleküller hücre yüzeyini hedef alırlar. Diğer immunsupresif ajanlar gibi intrasellüler mekanizmalar üzerine etki etmezler. 1970'li yıllardan bu yana organ naklinde ALS, Anti Timosit Globulin (ATG) kullanılmaktadır. ALS'nin etki mekanizması tam olarak anlaşılmasına rağmen, belirgin olarak sirkülasyondaki T hücrelerinin proliferatif cevabını bozar ve bu etki, tedavi kesildiğinde T hücre sayısının arttığı zamanda da devam etmektedir (10,30,31).

**Muronomab-CD3(OKT3):** 1987 yılında klinikte kullanıma sunulmuştur. Bir IgG'dir. Bu monoklonal antikorlar, antikor üreten B lenfositleri ile sonsuz yaşayabilen miyeloma hücrelerinin hibridizasyonu sonucu elde edilen sonsuz çoğalma kapasitesi olan hücreler tarafından üretilmektedir. OKT3, T hücrelerinin yüzey reseptörü olan CD3 reseptörünün epsilon parçası ile etkileşime girer. Bu reseptörler T hücreleri dışındaki doku hücrelerinde bulunmaz. Antijenlerin tanınmasın da önemli rol oynayan CD3, OKT3 ile bağlanınca hücre ölümü gerçekleşir. OKT3 bir sıçan monoklonal antikorudur (4,10).

**IL-2R Blokerleri:** 1998'de insan kaynaklı anti-TAC preparatları, klinikte uygulanmaya başlanmıştır. Bu immunsupresifler, IL-2 reseptör blokajı ile immun reaksiyonların devamını bozar, kolonizasyonu engelleyerek, antijene özgü T hücre fonksiyonunu durdururlar. Lenfosit proliferasyonunda IL-2 ve IL-2 reseptörü (IL-2R)'nün etkili rolü ve aktif lenfositlerde IL-2R'nün zincirinin seçici ekspresyonu monoklonal antikor tedavisi için hedef olarak bu kısımların tanınmasına sebep olmaktadır (1,10). Antilenfosit globulinler ve monoklonal antikorlar, kliniğin tedavi protokolüne göre rejeksiyon tedavisinde ve/veya başlangıç tedavisinde uygulanabilmektedir (4,10).

### YENİ İMMUNSUPRESİFLER

**FTY 720:** Tam olarak bilinmeyen bir etki mekanizması ile periferik kandaki lenfosit trafiğini değiştiren tek immunsupresif ajandır. Hayvan modellerinde bu ajanın allograft sağkalımını uzattığı belirlenmiştir (1,4,10).

**ERL080A:** Geliştirilmiş gastrointestinal toleransı ile mikofenolik asit sodyumun yeni formülasyonudur (1,10).

**FK-778:** T ve B hücre proliferasyonunu inhibe eden isoksakzolden türemiş leflunamidin aktif metabolitinin analogu olan malonitrilamiddir (1,10).

**ISA Tx 247:** Yeni geliştirilen kalsinörin inhibitörüdür. CsA mikroemülsiyonundan üç misli etkiye sahiptir. Hayvan ve faz I insan çalışmalarında nefrotoksisite saptanmamıştır (1,10).

#### KAYNAKLAR

1. First MR. Immunosuppressive agents and their actions. *Transplant Proc.* 2002;34;1369-71.
2. Calne RY. The development of immunosuppressive therapy. *Transplant Proc.* 1981;13;44-9.
3. Kuby J. Transplantation immunology. In: Kuby J. eds. *Immunology*. 3rd ed. New York. W.H. Freeman Company, 1997.p.563-566.
4. Titiz I. Immunosuppression. In: Titiz I. eds. *Transplantation immunology*. 2nd ed. İstanbul, 2003:p. 33-53.
5. Türkmen A. Immunosuppressive therapy approach in renal transplantation. *Türkiye Klinikleri Nefroloji*. 2003;1;30-4.
6. Goodwin JS. Anti inflammatory drugs. In: Stites DP, Terr AI eds. *Basic and clinical immunology*. 7th ed.:Lebanon and California. 1991:p. 786-794.
7. Peakman M, Vergani D. Transplantation. In: Peakman M., Vergani D. eds. *Basic and clinical immunology*. 1st ed. Hurchill Livingston, 1997:p. 147-162.
8. Pitzalis C, Pipitone N, Bajocchi G, Hall M. Corticosteroids inhibit lymphocyte binding to endothelium and intercellular adhesion: an additional mechanism for their anti-inflammatory and immunosuppressive effect. *J Immunol*. 1997;158;5007-16.
9. Martín-DP, Blanes M, Fortún J. Immunosuppression and infection in transplant recipients. *Enferm Infect Microbiol Clin*. 2007;25(2);143-54.
10. Taylor AL, Watson CJE, Bradley JA. Immunosuppressive agents in solid organ transplantation: Mechanism of action and therapeutic efficacy. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2005;7:23-46.
11. Kaya SA, Çiftçi HŞ, Ayna TK, Gürtekin M, Çarın M. The assesment of different dilutions in the determination of the C2 level. *Turkish Journal of Immunology*. 2003;8(1-2):39-43.
12. Çiftçi HŞ, Kaya AS, Gürtekin M, Aydın F, Çarın M. [Combination of cyclosporine and tacrolimus effect on lymphocyte proliferation]. 8. Ulusal Tıbbi Biyoloji kongresi, 2003: 14 -17 Ekim, sayfa 135.
13. Ayna TK, Aydın F, Beşışık S, Çarın M. Effect of immunosuppressive drugs in modified MLC with activated IL-2. *İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi*. 2001;64;243-248.
14. Levy G, Burra P, Cavallari A, Duvoux C. Improved clinical outcomes for liver transplant recipients using cyclosporine monitoring based on 2-hr post-dose levels (C2). *Transplantation*. 2002;27;953-9.
15. Schütz E, Svinarov D, Shipkova M, Niedmann PD. Cyclosporin whole blood immunoassays (AxSYM, CEDIA, and Emit): a critical overview of performance characteristics and comparison with HPLC. *Clin Chem*. 1998;44;2158-64.
16. Sawada S, Suzuki G, Kawase Y, Takaku F. Novel immunosuppressive agent, FK506. In vitro effects on the cloned T cell activation. *J Immunol*. 1987;139;1797-803.
17. Tanaka H, Kuroda A, Marusawa H, Hashimoto M. Physicochemical properties of FK-506, a novel immunosuppressant isolated from *Streptomyces tsukubaensis*. *Transplant Proc*. 1987;19;11-6.
18. Inagaki K, Fukuda Y, Sumimoto K, Matsuno K. Effects of FK506 and 15-deoxyspergualin in rat orthotopic liver transplantation. *Transplant Proc*. 1989;21;1069-71.
19. Iwasaki K, Shiraga T, Matsuda H, Nagase K. Further metabolism of FK506 (Tacrolimus). Identification and biological activities of the metabolites oxidized at multiple sites of FK506. *Drug Metab Dispos*. 1995;23;28-34.
20. Ayna TK, Çiftçi HŞ, Diler AS, Tozkır H. Comparison of EMIT and MEIA assay for whole blood Tacrolimus determination. 19th European Immunogenetics & Histocompatibility Conference, İstanbul. 2005:209.
21. Beysens AJ, Wijnen RM, Beuman GH. FK 506: monitoring in plasma or in whole blood. *Transplant Proc*. 1991;23;2745-7.
22. Çiftçi HŞ, Diler AS, Ayna TK, Tozkır H. Factors effecting blood Tacrolimus levels measured by MEIA in transplant patients. 19th European Immunogenetics & Histocompatibility Conference, İstanbul. 2005:207.
23. Henry ML. Cyclosporine and Tacrolimus (Fk-506): A comparison of efficacy and safety profiles. *Clin Transpl*. 1999;24;517-20.
24. Allison AC, Eugui EM. Preferential supression of lymphocyte proliferation by mycophenolic acid and predicted long term effects of mycophenolate mofetil in transplantation. *Transplant Proc*. 1994;26;3205-10.
25. Kelly PA, Gruber SA, Behbod F, Kahan BD. Sirolimus, a new, potent immunosuppressive agent. *Pharmacotherapy*. 1997;17;1148-56.
26. Martel RR, Klicius J, Galet S. Inhibition of the immune response by rapamycin, a new antifungal antibiotic. *Can J Physiol Pharmacol*. 1977;55;48-51.

- 27.Lampen A, Zhang Y, Hackbarth I, Benet LZ. Metabolism and transport of the macrolide immunosuppressant sirolimus in the small intestine. *J Pharmacol Exp Ther.* 1998;285;1104-12.
- 28.Ayna TK, Çiftçi HŞ, Tozkır H, Diler AS, Gürtekin M, Çarın M. Whole blood sirolimus levels comperation with HPLC and MEIA methods. IX. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi, 2005; Manisa, 24-27 Kasım.
- 29.Neumayer HH. Introducing everolimus (Certican) in organ transplantation: an overview of preclinical and early clinical developments. *Transplantation.* 2005;15;72-5.
- 30.Taniguchi Y, Frickhofen N, Raghavachar A. Antilymphocyte immunoglobulins stimulate peripheral blood lymphocytes to proliferate and release lymphokines. *Eur J Haematol.* 1990;44;244-51.
- 31.Merion RM, Howell T, Bromberg JS. Partial T-cell activation and anergy induction by polyclonal antithymocyte globulin. *Transplantation.* 1998;65;1481-9.