

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
NEFROLOJİ BİLİM DALI

MEMBRANÖZ NEFROPATİLİ HASTALARDA
M-TİPİ FOSFOLİPAZ A2 RESEPTÖRLERİNE KARŞI GELİŞMİŞ
ANTİKORLARIN (ANTI-PLA2R) VARLIĞI ve KLİNİK BULGULAR İLE OLAN
İLİŞKİSİ

YAN DAL UZMANLIK TEZİ
Dr. Özgür Akın Oto

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Aydın Türkmen

İSTANBUL – 2014

TEŞEKKÜR

Yan dal uzmanlık eğitimim süresince katkılarından dolayı İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Şükrü Palandüz'e,

Yalnız tezimin değil, eğitimimin her aşamasında benden desteğini ve kolaylaştırıcı ilgisini esirgemeyen, etik ve insani duruşunu, soruna odaklı akılcı yaklaşımını kendime hep örnek alacağım, tez hocam Prof. Dr. Aydın Türkmen'e,

Modern zamanların bilimsel güncelliğini, kadim zamanlardan beri süregelen hekimlik sanatı ile buluşturabilen, daha da önemlisi bize bunun olası olduğunu gösteren; hemen her zor zamanda varlığını bizlere kimi zaman bir fener kimi zaman ise bir pusula gibi hissettiren; bize değer veren, değerli hissettiren; öğrencisi olma onurunun kişisel ve mesleki hayatımı yalnız bugün değil nefes aldığım sürece şekillendireceğinden emin olduğum değerli hocam Prof. Dr. Mehmet Şükrü Sever'e,

Yandal eğitimim süresince benden şefkatini, nezaketini, bilgisini, tecrübesini esirgemeyen, hemen her sorunumda destek aldığım, destek alacağımı bildiğim değerli hocalarım Prof. Dr. Nilgün Aysuna, Prof. Dr. Semra Bozfakıoğlu, Prof. Dr. Alaattin Yıldız ve Prof. Dr. Tevfik Ecder'e,

Kendime “usta” bellediğim; teorik donanımını, olağandışı bir beceri ile kliniğe tercüme etme yeteneğine hayran olduğum, etik, mütevazı, derin insan Doç. Dr. Halil Yazıcı'ya,

Akademik üretkenlik, paylaşımcılık, hümanistlik ve mütevazılık gibi ülkemiz akademilerinde yan yana gelmesi pek muhtemel olmayan meziyetleri kişilğinde bir arada barındırabilen; tezimin hemen her anında emeği ve desteği olan Doç. Dr. Yaşar Çalışkan'a,

Birlikte çalışmanın karşılıklı güven, dayanışma, iyi niyet ve sevgi anlamına geldiği Uzm. Dr. Ayşe Serra Artan'a,

Tezimin yazım aşamasında minnet ile anacağım katkılarından ve desteklerinden ötürü Doç. Dr. Savaş Öztürk ve Dr. Egemen Cebeci'ye,

Teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	II
İÇİNDEKİLER.....	III
TABLolar LİSTESİ	V
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VI
KISALTMALAR	VII
ÖZET.....	1
ABSTRACT	2
I. GİRİŞ VE AMAÇLAR.....	3
II. GENEL BİLGİLER.....	4
A. NEFROTİK SENDROM.....	4
1. NEFROTİK SENDROMDA GLOMERÜLER HASAR MEKANİZMALARI	5
2. NEFROTİK SENDROMUN MEMBRANÖZ NEFROPATİ DİŞİ NEDENLERİ	6
a. Minimal Değişiklik Hastalığı (MDH)	6
b. Fokal Segmental Glomerüloskleroz (FSGS):.....	7
c. Membranoproliferatif Glomerülo nefrit (MPGN)	7
d. Diyabetik Nefropati.....	7
e. Amiloidoz	8
f. Sistemik Lupus Eritematozus (SLE).....	8
3- MEMBRANÖZ NEFROPATİ	8
a. Epidemiyoloji	9
b. Klinik Bulgular.....	9
c. Patoloji.....	10
d. Patogenez	10
e. Tedavi	15
III. GEREÇ VE YÖNTEM	18
A- Anti-PLA2R ANTİKOR TAYİNİ.....	18
1. İndirekt immunfloresan yöntemi.....	18
2. Reagentların, örneklerin hazırlanması:	18
3. Örneklerin Hazırlanışı:.....	19
4. İnkübasyon	19
a. Örneklerin aktarımı	19
b. Örnek inkübasyonu	19
5. Yıkama	19
6. Floresan işaretli antihuman globulin aktarımı	19
7. Floresan işaretli antihuman globulin inkübasyonu	19

8. Yıkama.....	19
9. Slaytın lamel üzerine kapatılması	19
B- İSTATİSTİKSEL ANALİZLER	19
IV. BULGULAR.....	21
V. TARTIŞMA.....	28
VI. SONUÇLAR	33
VII. KAYNAKLAR	34
ÖZGEÇMİŞ	39

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1: Membranöz Nefropatinin sekonder sebepleri.....	9
Tablo 2: Hastaların gruplarına göre özellikleri	22
Tablo 3: Gruplara göre Anti-PLA2R pozitivitesi.....	24
Tablo 4: Primer MN’li hastaların Anti-PLA2R pozitivitesine göre genel özellikleri.....	25
Tablo 5: Araştırma esnasında remisyonda olmayan hastaların glomerüler hastalıkla ilişkili parametrelerinin karşılaştırılması.....	26
Tablo 6: Proteinüri değerine etkili faktörlerin tüm hastaları içeren çok değişkenli analizi	27

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: PLA2R ve Anti-PLA2R.....	11
Şekil 2: Primer ve Sekonder MN ile diğer proteinürik durumlarda Anti-PLA2R varlığı.....	12
Şekil 3: Ko-lokalize olan PLA2R ve IgG4.....	12
Şekil 4: IFT ile Anti-PLA2R varlığının gösterilmesi.....	13
Şekil 5: Tanılarına göre hastaların gruplandırılması	21
Şekil 6: Anti-PLA2R titrelerine göre proteinüri gruplarının dağılımı	23

KISALTMALAR

MN	Membranöz Nefropati
Anti-PLA2R	M-Tipi Fosfolipaz A2 reseptör antikoru
M-Tip fosfolipaz A2 reseptörü	PLA2R
HBV	Hepatit B Virüsü
HCV	Hepatit C virüsü
ANCA	Anti Nötrofilik Sitoplazmik Antijen
ANA	Anti Nükleer Antikor
IgA Nefropatisi	İmmunglobülin-A Nefropatisi
WB	Western Blotting
IFT	İndirekt İmmünfloresan Tekniği
RAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron
MPGN	Membranoproliferatif Glomerülonefrit
FSGS	Fokal Segmental Glomerüloskleroz
MDH	Minimal Değişiklik Hastalığı
SLE	Sistemik Lupus Eritematozus

ÖZET

Giriş: Membranöz nefropati (MN), nefrotik sendromun yetişkinlerde sık rastlanan bir sebebidir. 2009'da Beck ve arkadaşları tarafından, yetişkin idiopatik MN'li hastaların %70'inde M-Tipi fosfolipaz A2 reseptörüne karşı gelişmiş olan otoantikörlerin (Anti-PLA2R) varlığı gösterilmiştir. Bizim araştırmamız, sağlıklı gönüllüler ile IgA Nefropatili ve MN'li hastalarda Anti-PLA2R varlığını, düzeylerini ve bu düzeylerin klinik parametreler ile ilişkisini değerlendirmeyi amaçlayan retrospektif kesitsel bir çalışmadır.

Materyal Metod: İstanbul Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı Nefrotik Sendrom Polikliniğine başvuran böbrek biyopsisi ile MN ve IgA nefropatisi tanısı konulmuş 152 erişkin hasta ve 30 sağlıklı gönüllü aydınlatılmış onam formu alınarak kesitsel çalışmamıza dahil edildi. Hastaların 97'si (%63,8) primer MN, 44'ü (28,9) IgA Nefropatisi, 11'i (%7,2) sekonder MN idi. Serum Anti-PLA2R düzeyleri indirekt immünfloresan yöntemiyle (IFT) ölçüldü.

Bulgular: Çalışmaya alınan primer MN hastalarının 43'ünde (%44,3) Anti-PLA2R negatif bulunurken; sekonder MN, IgA nefropatili ve sağlıklı gönüllülerin ise tümünde Anti-PLA2R negatif saptandı. Primer MN'li hastalar Anti-PLA2R sonucuna göre 2 gruba ayrıldığında gruplar arasında albumin, proteinüri, remisyon durumu, proteinüri evresi, serum total protein düzeyleri ve LDL arasında anlamlı fark vardı. Anti-PLA2R titresi ile proteinüri arasında pozitif korelasyon saptandı. Araştırma esnasında remisyonda olmayan hastaların, glomerüler hastalıkla ilişkili parametrelerini içeren çok değişkenli analizde, Anti-PLA2R pozitif olanların daha yüksek proteinüri düzeylerine ve daha düşük GFR'ye, dolayısıyla da daha şiddetli glomerüler hastalığa sahip oldukları saptandı. Hastaların 5'inde (%4) geçirilmiş tromboz öyküsü mevcuttu. Tromboz öyküsü olan hastaların tamamı Anti-PLA2R pozitif idi.

Sonuç: Erişkindeki nefrotik sendromların önemli bir bölümünü oluşturan MN'li hastalarda primer, sekonder ayırımı için ve Anti-PLA2R varlığının araştırılması etkin ve pratik bir yöntem olarak klinik pratikte uygulanabilir.

Anahtar Kelimeler: Membranöz Nefropati, IgA Nefropatisi, Anti M-Tipi fosfolipaz A2 reseptör.

ABSTRACT

Background: Membranous nephropathy (MN) is a common cause of nephrotic syndrome in adults. The presence of autoantibody (Anti-PLA2R) developed against M-Type phospholipase A2 receptor in 70% of the MN patients was demonstrated by Beck et al in 2009. Our research is a retrospective cross sectional study aiming to evaluate the Anti-PLA2R presence, its levels and the relation of these levels with clinical parameters in patients with IgA Nephropathy and MN.

Material and Method: 152 adult patients, consulted Istanbul Faculty of Medicine Nephrotic Syndrome Polyclinic and diagnosed with MN and IgA nephropathy via renal biopsy, and 30 healthy volunteers were included in our cross sectional study upon receiving informed consent forms. 97 of the patients (63.8%) had primer MN, 44 of them (28.9%) had IgA Nephropathy and 11 of them (7.2%) had secondary MN. Serum Anti-PLA2R levels were measured with IFT method.

Findings: 43 of the primer MN patients (44.3%) included in the study were Anti-PLA2R negative, whereas all of the secondary MN, IgA nephropathy patients and healthy volunteers were Anti-PLA2R negative. When patients with Primer MN were divided into two groups, there was a significant difference between albumin, proteinuria, remission status, proteinuria stage, serum total protein levels and LDL of the groups. A positive correlation was determined between Anti-PLA2R titer and proteinuria. In the multi-variate analysis containing the parameters of patients, who were not in remission, related to glomerular disease during the research, it was determined that the Anti-PLA2R positive ones had higher proteinuria and lower GFR, therefore more severe glomerular disease. 5 of the patients (4%) had a previous history of thrombosis. All of the patients with thrombosis history were Anti-PLA2R positive.

Conclusion: In MN patients, who constitute an important part of the nephrotic syndromes in adults, research on Anti-PLA2R presence for primer and secondary differentiation can be clinically and practically applied as an effective and practical method.

Key Words: Membranous nephropathy, IgA Nephropathy, Anti M-Type phospholipase A2 receptor.

I. GİRİŞ VE AMAÇLAR

Membranöz nefropati (MN), nefrotik sendromun yetişkinlerde sık rastlanan bir sebebidir. (1)

Glomerüler kapiller duvarın epitelyal yüzünde immün birikimler ile karakterize otoimmün bir hastalıktır. (2) Uzun dönemde hastaların %40-50'sinde son dönem böbrek yetmezliği gelişir. (3) Primer (idiopatik) olabileceği gibi maligniteler, infeksiyonlar, otoimmün hastalıklar ve bazı ilaçların kullanımına sekonder olarak da gelişebilir.

Yakın zamanlara kadar hastalığın patogenezinin dair bilgilerimizin büyük kısmı, Heymann nefriti modeli olarak da bilinen deneysel bir hayvan çalışmasına dayanmaktaydı. (4-5) Bu modelde, podositlerdeki hedef antijen megalin idi. Ancak ne insan podositlerinde ne de MN'li hastaların biyopsi örneklerinde, immün depozitler içinde megalin varlığı gösterilememiştir.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda MN'li hastaların bir kısmında nötral endopeptidaz, aldoz redüktaz, katyonik bovine serum albümin ve süperoksit dismutaza karşı gelişmiş otoantikorların varlığı gösterilmiştir. (6-7-8-9-10)

2009'da Beck ve arkadaşları tarafından, yetişkin idiopatik MN'li hastaların %70'inde M-Tip fosfolipaz A2 reseptörüne karşı gelişmiş olan otoantikorların (Anti-PLA2R) varlığı gösterilmiştir. Anti-PLA2R, sağlıklı gönüllülerde, sekonder MN'li hastalarda, diğer glomerüler ve otoimmün hastalıklarda ise negatif bulunmuştur. (11)

Daha sonra yapılan bazı çalışmalarda antikor düzeyleri ile hastalık aktivitesi arasında kuvvetli bir korelasyon olduğu saptanmıştır. Antikorum kaybı ile proteinüride remisyon saptanırken antikorum yeniden saptanır hale gelmesi ile relaps arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir. (12) Bu nedenle Anti-PLA2R düzey monitorizasyonunun hastalık aktivitesinin değerlendirilmesi için faydalı olabileceği öne sürülmüştür. (13)

Bizim araştırmamız, sağlıklı gönüllüler ile IgA Nefropatili ve MN'li hastalarda Anti-PLA2R varlığını, düzeylerini ve bu düzeylerin klinik parametreler ile ilişkisini değerlendirmeyi amaçlayan retrospektif kesitsel bir çalışmadır.

II. GENEL BİLGİLER

A. NEFROTİK SENDROM

Nefrotik proteinüri idrarla günde 3.5 gram veya daha üzerindeki protein atılımı olarak tanımlanır. Bu tabloya ödem, dislipidemi, hipoalbüminemi ve lipidürinin eşlik etmesi durumunda ortaya çıkan klinik duruma nefrotik sendrom denir. Tablo, bazen infeksiyöz ve tromboembolik hadiseler ile komplike olabilir.

Nefrotik sendrom komponentleri ile hastalığın fizyopatolojisi arasında sıkı bir ilişki vardır. Altta yatan neden ne olursa olsun nefrotik sendromdaki protein kaçığından sorumlu temel mekanizma, glomerül kapiller membran ve podositlerde oluşan hasardır. Bu hasar, glomerüler geçirgenliği artırır ve plazma proteinlerinin kaybına neden olur. Ağır proteinüri, hipoalbüminemiye neden olur. Hipoalbümineminin oluşturduğu onkotik basınçtaki düşüş ve renal su ve tuz tutulumunun oluşturduğu kapiller hidrostatik basınç artışının beklenen sonucu ise ödemdir. Ödem pretibial bölgede lokalize olabileceği gibi anazarka tarzında da olabilir. Hiperlipideminin neden olduğu tam olarak netleşmemişse de karaciğerde lipoprotein sentezindeki artış suçlanmaktadır. Lipidüri artmış glomerüler geçirgenliğin göstergelerinden biridir.

Nefrotik sendrom, sistemik sebeplere ikincil olabileceği gibi primer glomerülopatilere de ikincil olabilir. Nefrotik sendromun nedenlerinin relatif sıklığı, yaşa göre değişir. Çocuklarda en sık neden minimal değişiklik hastalığıdır. Nefrotik sendroma yetişkinlerde en sık neden olan sistemik hastalıklar diyabet, amiloidoz ve sistemik lupus eritematozus (SLE) iken primer glomerüler hastalıklar ise MN, Fokal Segmental Glomerüloskleroz (FSGS) ve Membranoproliferatif Glomerülofrit (MPGN)

Filtrasyon bariyeri, kapiller endotel, lamina rara interna, lamina densa, lamina rara eksterna ve slit diyaframdan oluşur. Bu bariyer suya oldukça geçirgen iken birçok makromoleküle karşı ise geçirgen değildir. Filtrasyon bariyeri hem boyut, hem de yük selektif özelliklere sahiptir. (14-15)

Glomerül kapillerlerini döşeyen endotel hücreleri, vücuttaki diğer kapillerden daha büyük fenestralar içerirler. Bu fenestralar yaklaşık 70-100 nm çapındadır. Bu çaptaki fenestralardan plazmadaki birçok makromolekülün geçişi mümkündür. Bu nedenle endotelin boyut selektivitesine katkısı çok azdır. Bu selektiviteden esas sorumlu komponentler lamina densa ve 20-30 nm genişliğinde porları olan slit diyaframdır. Yük selektivitesi ise lamina rara

interna ve fenestralardaki anyonik makromoleküllerin (polianyonik glikozaminoglikanlar) varlığı sayesinde olur. Boyut selektif bariyer, 150 kilodaltondan daha büyük makromoleküllerin geçişini engellerken boyutu 70 kilodalton civarında olan albümin gibi makromoleküllerin geçişini engileyemez. Bu noktada devreye yük selektif bariyer girer. Bilindiği gibi albümin anyonik bir makromoleküldür. Yük selektif bariyeri oluşturan anyonik yükler nedeniyle, her ne kadar boyutu küçük olsa da albümin, glomerüler filtrata geçemez. Nefrotik sendromda makromoleküllere karşı artmış geçirgenlikten hem yük selektif, hem de boyut selektif bariyerdeki bozukluklar sorumlu olabilir. Örneğin minimal değişiklik hastalığında, yük selektif bariyerde bir defekt vardır. Muhtemelen lenfositlerden salgılanan bir lenfokin nedeniyle, bu bariyeri oluşturan polianyonların üretiminden sorumlu podositlerde bir hasar gelişir ve bariyer bozulur. Minimal değişiklik hastalığındaki proteinürinin selektif olmasının nedeni budur. Bu hastalıkta yalnızca albüminüri olur. Oysa diğer nefrotik sendrom nedenlerinde hem yük, hem de boyut spesifik bariyer hasarı vardır bu nedenle proteinüri non selektiftir.

1. NEFROTİK SENDROMDA GLOMERÜLER HASAR MEKANİZMALARI

Çoğu zaman böbrek hastalıklarının altında immün mekanizmalar yatar. Geleneksel olarak 4 farklı immünolojik hasar tablosu tanımlanmıştır. Bunlardan Tip 1, yani anafilaktik reaksiyonların böbrek hastalıkları patogeneğinde yeri olmadığı kabul edilir. Tip 2, yani antikorun direkt olarak bağlanması sonucunda ortaya çıkan hastalıklar 3 farklı grupta incelenebilir:

- 1) Antikor direk olarak enzim ya da reseptöre bağlanır ve hücre fonksiyonlarını bozar.
- 2) Antikor bağlandığı hücrede kompleman aracılı hasar oluşturur.
- 3) Antikor direk olarak sitotoksiteye neden olur.

Tip 3, yani immün kompleks birikimine bağlı hasar ise böbrek hastalıklarında sıklıkla gözlenir. Klasik örnek serum hastalığıdır. Tip 4, yani gecikmiş tipte hipersensitivite reaksiyonları ise akut interstisyel nefrit ve allograft rejeksiyonlarında gözlenen hasardan sorumludurlar.

Nefrotik sendrom esas olarak bir podosit patolojisidir. Nefrotik sendromu başlatan hasar, ya podosit düzeyinde ya da podositin tutunduğu bazal membran düzeyinde gerçekleşir. Podosit veya bazal membran hasarından sıklıkla Tip 2 veya Tip 3 reaksiyonlar sorumlu tutulur. Hasar sıklıkla diffüzdür. Protein atılımına hemen daima sodyum reabsorpsiyonu eşlik ettiğinden dolayı hastalar sıklıkla ödemlidir. Bu durum hasarın odaksal olduğu, sekel

FSGS’de neden ödem olmadığını açıklar. Çünkü tubulusların ancak bir kısmında protein atılımı olur, çoğu tubulun sodyum geri emilimi normaldir.

FSGS ve MDH, primer olarak podosit hasarı ile giden hastalıklara örnek olarak verilebilir. Her ne kadar FSGS’deki “permeabilite faktörü” ve MDH’daki olası “lenfokin” tam olarak izole edilememiş olsa da adı geçen her iki durumda da Tip 2 hasar mekanizmalarının devrede olduğu düşünülmektedir. Adı geçen hümmoral faktörlerin ya podosit üzerine direk toksik etkiyle ya da kritik reseptör/sinyal sistemlerinde disregölasyon yaratarak podosit fonksiyonlarını bozduğu kabul edilmektedir.

Membran hasarı ile giden durumlardan ise sıklıkla Tip 3 hasar mekanizmaları sorumludur. Glomerüller immünkomplekslerin oluşmasına ya da oluşmuş komplekslerin birikimine oldukça uygun yapılardır. Bunun nedenleri yüksek plazma akımı, yüksek intraglomerüler basınç ve geçirgenliktir. Ortaya çıkan tablo komplekslerin biriktiği lokalizasyona göre değişir. Nefrotik sendromda birikimler sıklıkla subepitelyal (lamina rara eksterna) bölgede olur. Subepitelyal depozitler sıklıkla lokal veya orada birikmiş antijenlerin filtre edilmiş antikorlar ile birleşmesi sayesinde (in-situ immün kompleks) oluşurlar. Çünkü dolaşımdaki immün kompleksler bazal membranı geçemeyecek kadar büyüktürler. Bu kompleksler sıklıkla mezengium ve subendotelyal bölgede de (lamina rara interna) birikirler.

Subepitelyal in-situ immün kompleksler iki türlü oluşur:

- 1) Dolaşımda bulunan küçük katyonik bir antijen subepiteyal bölgeye filtre olup birikir. Zamanla, tuzaklanmış olan bu antijenlere karşı gelişen spesifik antikorlar, glomerül bazal membranı geçerek antijenlerle birleşir. Post-streptokoksik glomerülonefritlerden sorumlu olan mekanizma budur.
- 2) Dolaşımda oluşan bir otoantikor glomerül bazal membranından geçerek endojen olarak eksprese edilen bir antijen ile birleşir. Deneysel Heymann nefritinde gözlenen hasardan bu mekanizma sorumludur.

Bu süreçler sıklıkla kompleman ile ilişkilidir. Kompleman aktivasyonunda kritik molekül ise C5b9’dur. Bu molekülün podositler üzerinde lethal ya da sublethal etkileri olur. Mekanizma ne olursa olsun, oluşan ve büyüyen kompleksler, podositin bazal membrana bağlı olduğu yerlerde membran hasarına, yeni membran sentezine, podosit ayrışmasına yol açar.

2. NEFROTİK SENDROMUN MEMBRANÖZ NEFROPATİ DIŞI NEDENLERİ

a. Minimal Değişiklik Hastalığı (MDH)

Nefrotik sendromun çocukluk çağındaki en sık nedenidir. Işık mikroskopisi ve immünfloresan boyama negatiftir. Elektron mikroskopik incelemede ayaksız çıkıntılarda diffüz

silinme olduğu görölür. Patogenezi tam olarak netleşmemiştir ancak T lenfositlerden salgılanan bir lenfokinin tablodan sorumlu olduğu düşünülmektedir. İnfeksiyonlar (viral ya da parazitik) bazı ilaçlar (altın, interferon, non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlar), malignitelere (solid ya da hematolojik) ikincil olabilir. Klinik oldukça gürültülü ve akuttur. Steroid tedavisine hızla yanıt verirler. Steroide yanıt vermeyen ya da sık relapslar gözlenen hastalarda siklosporin denenebilir.

b. Fokal Segmental Glomerüloskleroz (FSGS):

İsminden de anlaşılacağı gibi bu tabloda bazı glomerüllerin bazı segmentlerinde tutulum vardır. Genelde kötü gidişli ve tedaviye dirençli bir hastalıktır. Primer, genetik veya bazı sistemik hastalıklara ve ilaçlara bağlı olabileceği gibi düşük nefron kitlesine karşı gelişen bir adaptif yanıt olarak da karşımıza çıkabilir. Primer FSGS’de tablodan “permeabilite faktörü” adı verilen bir hümmoral faktörün sorumlu olduğu kabul edilmektedir. Son zamanlarda solübl ürokinaz plasminojen aktivator reseptörü (*suPAR*) ile FSGS arasında bir ilişki olabileceğine dair bulgular saptanmıştır. İmmünfloresan mikroskopi sıklıkla negatiftir ancak skleroze alanlarda IgM ve C3 birikimi olabilir. Tedavide steroid, siklosporin, mikofenolat mofetil (MMF) denenebilir. Ancak tedaviye yanıt kötüdür. Primer FSGS posttransplant dönemde nüks edebilir. Bu durumlarda plazmaferez etkili olabilir.

c. Membranoproliferatif Glomerülonefrit (MPGN)

MPGN, histolojik olarak glomerül hücrelerinde proliferasyon, mezengium ve bazal membran anormallikleri ile karakterizedir. Sıklıkla nefrotik sendrom ile ortaya çıkarlar ancak bazen subnefrotik proteinüri, düşük klirens ve/veya hematüri görülebilir. Tip 1, Tip2 veya Tip 3 olmak üzere başlıca üç farklı türü vardır. Tip 1 sıklıkla SLE, hepatit B ve C, endokardit gibi sistemik hastalıklara ikincil gelişirken Tip 2’nin patogenezi daha farklıdır. Son zamanlar Tip 2’nin patogenezinde kompleman disregülasyonun merkezi rol oynadığı saptanmıştır. Tedavide immünosüpressif ajanlar kullanılır. Yanıt oranları düşüktür.

d. Diyabetik Nefropati

Böbrekler diyabetin ana hedef organlarından biridir. Önemli bir son dönem böbrek yetmezliği nedenidir. Böbrekte kapiller bazal membran kalınlaşması, diffüz mezengial skleroz, nodüler glomerüloskleroz, hem afferent hem de efferent arteriyollerde hyalin skleroz görölür. Başlangıç bulgusu glomerüler hiperfiltrasyondur. Daha sonra sırasıyla

mikroalbüminüri, makroalbüminüri ve aşikar böbrek yetmezliği gelişir. Tedavide ACEI/ARB kullanımı ve glisemik kontrol, merkezi öneme sahiptir.

e. Amiloidoz

Sistemik ya da lokal olarak amiloid fibrillerinin depolanması ile oluşur. Biriktiği doku ve organda disfonksiyona neden olur. Primer ve sekonder olabilir. Tanı histopatolojik olarak konulur. Primer amiloidozda biriken fibriller, immünglobülinlerin hafif zincir rezidüleridir. Multiple Myeloma ikincil olarak gelişir. Prognozu çok kötüdür. Sekonder amiloidoz ise kronik inflamatuvar hastalıklara (Romatoid Artrit, Ailevi Akdeniz Ateşi, Bronşiektazi vb) ikincil olarak gelişir. Dokularda biriken protein Amiloid-A proteinidir. Her iki durum da sıklıkla nefrotik sendrom ile prezente olur. Tedavi primer amiloidozda altta yatan hastalığın tedavisi iken sekonder amiloidozda kolşisindir.

f. Sistemik Lupus Eritematozus (SLE)

SLE etyolojisi bilinmeyen, sıklıkla doğurganlık çağındaki kadınları etkileyen sistemik otoimmün bir hastalıktır. SLE’de böbrek tutulumu değişik histolojilerde olabilir. Buna bağlı olarak da klinik prezentasyonlar farklılaşabilir. İzole hematüriden hızlı ilerleyen glomerülonefrite kadar değişen bir klinik spektrum görülebilir. Klinikte sıklıkla nefrotik sendrom ile prezente olan tutulum Klas 5 lupus nefritidir. Bu tabloda, histoloji membranöz nefropatiye benzer.

3- MEMBRANÖZ NEFROPATİ

MN, nefrotik sendromun yetişkinlerde en sık rastlanan nedenidir. (1) Glomerüler kapiller duvarın epitelyal yüzünde immün birikimler ile karakterize olan otoimmün bir hastalıktır. (2) Uzun dönemde Hastaların %40-50’sinde son dönem böbrek yetmezliği gelişir. (3)

Etiyoloji

MN’li vakalar primer, sekonder veya post-transplant rekürrens şeklinde başlıca üç gruba ayrılabilir. Primer MN’li vakaların büyük bir kısmında (%70) M-Tipi Fosfolipaz A2 reseptörüne karşı gelişmiş oto-antikörler (Anti-PLA2R) saptanmıştır. (11) MN, SLE, Tip 1 Diyabetes Mellitus, Romatoid Artrit, Hashimoto Hastalığı, Anti-Glomerül Bazal Membran Hastalığı, ANCA-Pozitif vaskülitler, Graft-Versus-Host hastalığı gibi otoimmün hastalıklara; Hepatit B (HBV), Hepatit C (HCV), Sifiliz, Şistozoma, Malarya, Lepa gibi bazı infeksiyöz ve paraziter hastalıklara; altın, kaptopril, non-

steroidal antiinflamatuvar, penisillamin gibi bazı ilaçlara; civa, formaldehid gibi bazı toksinlere; prostat, meme, akciğer gibi solid organ tümörlerine ikincil olarak da gelişebilir. (16-17) (Tablo-1)

Tablo 1: Membranöz Nefropatinin sekonder sebepleri

Etiyoloji	Örnekler
Kanserler	Karsinomlar (akciğer, kolon, meme, böbrek) lösemiler, non-hodgkin lenfoma
İnfeksiyonlar	Malarya, hepatit B ve C, sifiliz, lepra
İlaçlar	Penisillamin, Altın
İmmünolojik Sebepler	Sistemik lupus eritematozus, miks konnektif doku hastalığı, tiroidit, dermatitis herpetiformis
Böbrek Transplantasyonu Sonrasında	Rekürrent hastalık, de novo membranöz nefropati
Çeşitli Sebepler	Orak hücreli anemi
Serum Bovine Albumin	Çocuklarda

a. Epidemiyoloji

MN, erişkin nefrotik sendromun en sık nedeni iken çocuklarda nefrotik sendrom için yapılan biyopsilerin %5’den azı MN olarak raporlanmıştır. (18) MN, Amerika Birleşik Devletleri ulusal kayıt sistemi verilerine göre, tüm son dönem böbrek yetmezlikli hastaların %0.4’ünden sorumludur ve sıklığı milyon nüfus başına 8 olarak bildirilmiştir. (19)

Bazı HLA subgruplarının varlığının MN için genetik yatkınlık yarattığı gösterilmiştir. Örneğin beyaz ırkta HLA-DR3 pozitif olan bireylerde MN sıklığının 3 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir. (20) Benzer şekilde Çin’li hasta grubunda Anti-PLA2R’yi kodlayan gende tek nükleotid polimorfizimi olan HLADQA₁ bireylerde, MN riskinin artmış olduğu gösterilmiştir. (21)

b. Klinik Bulgular

MN hemen her yaşta görülebilir. Ancak 40 yaş üstünde daha siktir. Pik görülme yaşı 40-50 yaş arasındır. Kadın:Erkek oranı 1:2’dir. Sıklıkla (%70-80) nefrotik sendrom ile prezente olur. (22-23) Kalan %20-30 hastada ise subnefrotik proteinüri saptanır. Renal fonksiyonlar

sıklıkla normaldir, klirens kaybı yalnızca %10-20 hastada görülür. Proteinüri non-selektiftir. İdrar sedimenti fakirdir ancak %30-40 hastada mikroskopik hematüri olabilir. Hipertansiyon nadirdir. (<%10) Primer MN'li hastalarda serum kompleman düzeyleri normaldir. Anti Nükleer Antikor (ANA), Anti-DNA, romatoid faktör gibi serolojik göstergeler sıklıkla negatiftir. Dislipidemi nedeniyle kardiyovasküler olay sıklığı artmıştır. Başta renal ven trombozu olmak üzere tromboembolik olayların prevalansı artmıştır. (%10-40)

c. Patoloji

Hastalığın erken dönemlerinde, ışık mikroskopik olarak glomerüller ve intertisyum normal görünümündedir. Bu evrede tanı, elektron mikroskopi ve/veya immünohistokimyasal boyamalar yardımıyla konulabilir. Işık mikroskopik olarak en erken bulgu kapiller duvarlarda ve glomerüler bazal membranlarda diffüz kalınlaşmadır. Glomerüllerde hipersellülarite ya da inflamatuvar değişiklikler yoktur. Elektron mikroskopik incelemelerde bu kalınlaşmanın sebebinin subepitelyal sahada birikmiş olan immün depozitler olduğu görülür. (Evre 1) Bu depozitler histokimyasal olarak boyanmaz. Ancak immünfloresan boyalar yardımıyla IgG ve C3 içerdiği gösterilebilir. Daha sonraki evrelerde bu depozitler yeni sentezlenen bazal membran tarafından çevrilmeye başlar. Bu depozitler arasında kalan normal glomerül bazal membran kısımları özel boyalar yardımıyla karakteristik dikensi (spike) çıkıntılar şeklinde görülür. (Evre 2) Ardından depozitler, yeni sentezlenen bazal membran tarafından çepeçevre kuşatılır ve intramembranöz karakter göstermeye başlar (Evre 3). Depozitler zamanla rezorbe edilir ve daha önce depozitlerin işgal ettiği alanlar elektron-lucent olarak görülür. (Evre 4) Tanımlanan bu evreler ile klinik ve laboratuvar bulguların korelasyonu zayıftır.

Patolojik olarak primer MN ile sekonder MN'yi birbirinden ayırmak kesin olarak mümkün değildir. Ancak mezengial ve endokapiller hipersellülarite, immünfloresan incelemede full-house patern varlığı, depozitlerin subendotelyal, tubuler bazal membran ve damar duvarlarında lokalize olması, elektron mikroskopisinde endotelyal tubuloretiküler inklüzyonların varlığı, immünfloresan yöntemlerle IgG1, IgG2 ve IgG3 birikimi olduğunun gösterilmesi gibi bazı bulgular sekonder bir sebebin varlığını düşündürür. (24)

d. Patogenezi

Son zamanlara kadar hastalığın patogenezi hakkında bilgilerimizin büyük kısmı Heymann Nefriti modeli olarak da bilinen deneysel bir sıçan çalışmasına dayanmaktaydı. (4-5) Bu modelde, podositlerdeki hedef antijen megalin idi ancak ne insan podositlerinde ne de

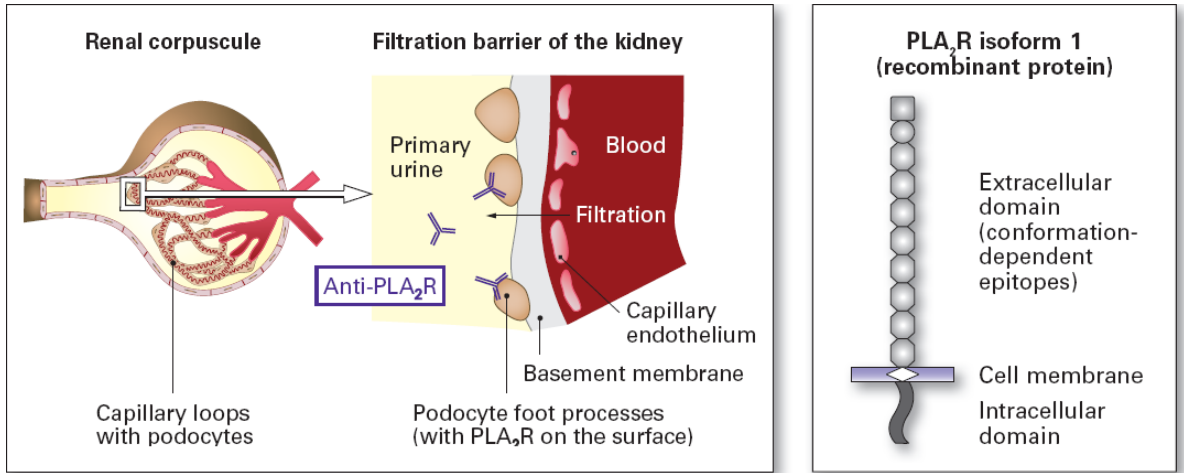
idiopatik membranöz nefropatili hastaların biyopsi örneklerindeki immün depozitlerde megalin varlığı gösterilememiştir.

Membranöz nefropatili hastaların bir kısmında katyonik bovine serum albümin, nötral endopeptidaz, aldoz redüktaz, ve süperoksit dismutaza karşı gelişmiş otoantikorların varlığı saptanmıştır. (6-7-8-9-10)

İlk olarak Beck ve arkadaşları tarafından MN'deki majör hedef antijenin M-Tipi fosfolipaz A2 reseptörü (PLA₂R) olduğu gösterilmiştir. (11)

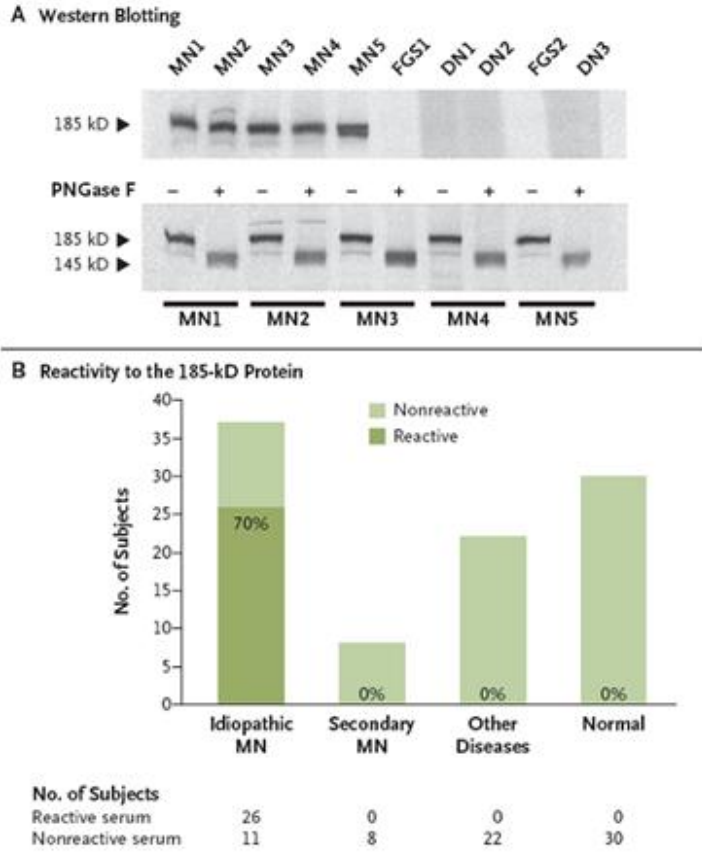
PLA₂R, 185 kD ağırlığında, mannoz reseptör ailesine ait, glikoprotein yapıda, transmembran bir reseptördür. (25-26) Normal insan glomerüllerinde podosit membranında eksprese edilir. Membran gliserofosfolipidlerine bağlı yağ asitlerini parçalayan bir enzim olan fosfolipaz A₂'nin reseptörü olarak görev yapmaktadır. Bu reseptör ailesinin temel görevi endositoz yoluyla ekstrasellüler ligandların internalizasyonuna aracılık etmektir. (27)

Beck ve arkadaşları, Western Blotting (WB) yöntemi ile primer MN'li 37 hastanın 26'sının (%70) serumunda PLA₂R'ye karşı gelişmiş IgG4 tipi otoantikorların (Anti-PLA₂R) varlığını kanıtlamıştır. (Şekil-1)

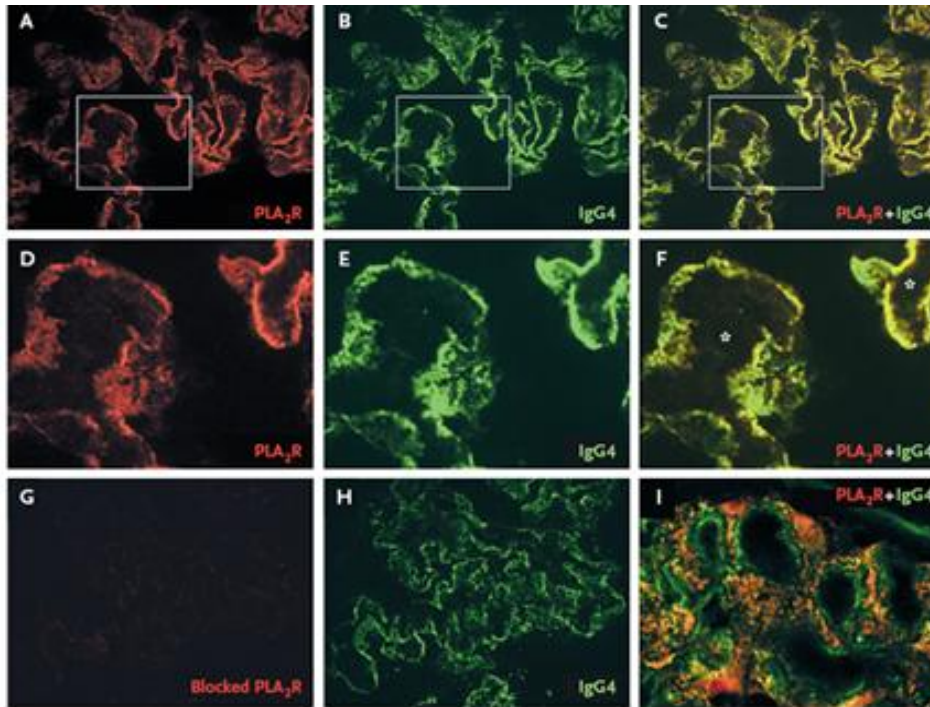


Şekil 1: PLA₂R ve Anti-PLA₂R

Bu çalışmada IgA nefropatisi, lupus nefriti gibi diğer proteinürik durumlarda Anti-PLA₂R negatif bulunmuştur. Aynı zamanda MN'li hastalara ait biopsi örneklerinde PLA₂R ile IgG4 tipi immün depozitlerin ko-lokalize olduğu gösterilmiştir. (Şekil-2 ve 3)



Şekil 2: Primer ve Sekonder MN ile diğer proteinürik durumlarda Anti-PLA2R varlığı



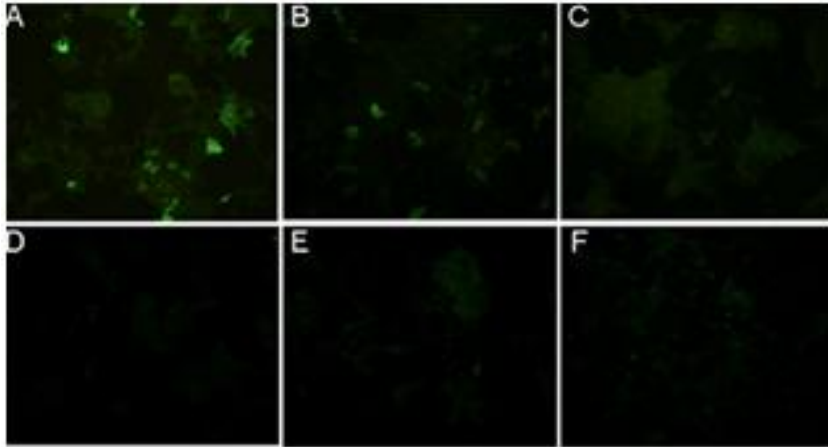
Şekil 3: Ko-lokalize olan PLA2R ve IgG4

Benzer şekilde Qin ve arkadaşlarının, 60 hastalık primer MN'li Çin'li hasta grubunda yaptığı çalışmada, vakaların 49'unda (%82) Anti-PLA2R pozitifliği saptanmıştır. Kalan 11 hastanın 10'unda ise daha hassas ölçüm teknikleri ile düşük titrede pozitiflikler saptanmıştır. Bu çalışmada sekonder MN'li (20 lupus nefriti, 16 Hepatit B, 10 malignite) olgular da Anti-PLA2R açısından taranmıştır ve Lupuslu 1, Hepatit B'li 1, maligniteli 3 hastada Anti-PLA2R pozitif bulunmuştur. (21)

Stanescu ve arkadaşları primer MN'li hastaları tek nükleotid polimorfizmi açısından taramışlar ve 6. kromozomda lokalize HLA-DQA1'daki rs2187668 ve 2. kromozomda lokalize, PLA2R'i kodlayan bölgedeki rs4664308 polimorfizmi ile primer MN arasında bir ilişki olduğu göstermişlerdir. Her iki alleli homozigot olarak taşıyan bireylerde MN gelişme riski belirgin ölçüde yüksek bulunmuştur. (odds ratio: 78.5). Bu oran HLA-DQA1 açısından homozigot olanlarda 20.2, PLA2R homozigot olanlarda 4.2 bulunmuştur. (28)

Anti-PLA2R düzeyleri ile proteinüri ve hastalık statusu arasında güçlü bir korelasyon bulunmuştur. (12)

Hoxha ve arkadaşları Anti-PLA2R ölçümleri için indirek immünfloresan (IFT) yöntemini kullanmışlardır. 153 sağlıklı gönüllü, 90 non-membranöz glomerüler hasarlı, 17 sekonder ve 100 primer MN'li hasta serumunda Anti-PLA2R ölçümleri yapmışlardır. Primer MN'li 5 hastanın ise tek doz rituximab uygulaması sonrası 18 aylık takiplerinde Anti-PLA2R düzeylerini monitorize etmişlerdir. Sağlıklı gönüllülerde ve non-membranöz hastalara ait serum örneklerinde Anti-PLA2R negatif bulunmuştur. MN'li hastaların %52'sinde Anti-PLA2R pozitif bulunmuştur. Rituximab alan hasta grubunda proteinüride azalma olduğu zaman Anti-PLA2R titrelerinin azaldığı proteinüride artış olduğunda ise antikor titresinin arttığı gösterilmiştir. Çalışmacılar, IFT ile yapılan Anti-PLA2R ölçümlerinin primer ve sekonder MN ayırımında yararlı olabileceğini savunmuşlardır. (13) (Şekil-4)



Şekil 4: IFT ile Anti-PLA2R varlığının gösterilmesi

Primer hastalığı MN olan renal transplantlı hastaların yaklaşık %40'nda hastalık nüks eder. Stalh ve arkadaşları posttransplant 3. günde proteinürisi saptanan ve biyopsi bulguları MN ile uyumlu olan bir hasta takdim etmişlerdir. Pretransplant dönemde ve posttransplant 3.gün IFT ile Anti-PLA2R pozitifliği saptanmış olan hastada rituximab sonrası Anti-PLA2R titrelerinin 1/100'den 5. ayda 1/10'a gerilediği, proteinürinin ise eş zamanlı olarak 9 gr/gün'den 3.14 gr/gün'e gerilediği saptanmıştır. (29)

Debiec ve arkadaşları nükseden ve etmeyen MN'li renal transplantlı olgular ile Anti-PLA2R ilişkisini araştırmışlardır. Nüks MN'li 10 olgunun 6'sında nativ böbrek biyopsilerindeki depozitlerde PLA2R'nin varlığı gösterilmiştir. Bu hastaların beşinde nüks sırasında serumda ve/veya graft biyopsilerinde Anti-PLA2R'nin pozitif olduğu gösterilmiştir. Nüks olan bir hastada Anti-PLA2R negatif bulunmuştur. İki hastada ise ilginç sonuçlara ulaşılmıştır. Birinde nüks öncesi Anti-PLA2R pozitif iken nüks ile eş zamanlı olarak negatifleşmiştir. Bir diğer hastada serumda Anti-PLA2R pozitif iken biyopsi materyallerinde PLA2R negatif bulunmuştur. Nüks etmeyen 6 MN'li hastanın üçünde Anti-PLA2R pozitifliği saptanmış ve dört yılı geçen takip sürelerine rağmen nüks gözlenmemiştir. Araştırmacılar Anti-PLA2R varlığının gelecekte nüks gelişeceğini göstermeyebileceğini öne sürmüşlerdir. (30)

Primer MN'de gözlenen depozitler in-situ olarak olarak gelişmiş immün komplekslerdir. (31-32)

Primer MN'de dolaşan IgG4 tipi antikorlar (Anti-PLA2R) subepitelyal sahaya geçer ve orada podosit yüzeyinde eksprese olan PLA2R ile birleşirler.

Podosit membranında eksprese olan PLA2R nasıl olup da immün yanıtı tetiklediği henüz tam olarak netleşmemiştir. Herhangi bir podosit hasarının antijenik PLA2R epitoplarının ekspresyonunu artırabileceği ya da PLA2R'de bir konformasyonel değişikliğe yol açabileceği; (33) mikroorganizmaların antijenik determinantları ile PLA2R arasındaki olası moleküler benzeşmelerin Anti-PLA2R gelişimini indükleyebileceği iddia edilmiştir. (34)

MN fizyopatolojisinde kompleman aktivasyonu kritik öneme sahiptir. Kompleman aktivasyonu sonucu oluşan membran atak kompleksi (C5b9) podositlerde sublethal bir hasarlanma oluşturur. (32) İlginç olan şudur ki, IgG4, C1q bağlamaz. Yani IgG4 ile kompleman kaskadının antikor bağımlı klasik yolu aktive edilemez. (35-36) Son zamanlarda IgG4 tipi antikorlar tarafından oluşan kompleman aktivasyonunun Mannoze Bağlayan Lektin yolağı üzerinden olduğu gösterilmiştir. (37)

e. Tedavi

MN'nin doğal seyri değişken olabilir. Hastaların %30'nda spontan remisyon gelişirken, %20-40 hastada ise uzun dönemde son dönem böbrek yetmezliği gelişir. Kalan hastalarda değişik düzeylerde proteinüri sebat eder. Ayrıca remisyona girmiş bazı hastalarda takip sırasında nüks gözlenebilir. Erkek cinsiyet, 50 yaş üstünde olma, 6 gram/gün'den daha fazla proteinüri, düşük klirens ve tubulointertisyel lezyonların varlığı kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur. Hastalığın doğal seyrindeki heterojenite nedeniyle her hastaya uygulanabilecek standart tedavi proktokolü yoktur. Bazı hastalarda antiproteinürik etki sağlayan RAS inhibitörleri yeterli olabilecekken bir grup hastada potent immünosüpressif tedaviler indikedir. MN'li hastalar olası progresyon risklerine göre 3'e ayrılır.

- 1- Düşük progresyon riski: Normal kreatinin klirensine sahip ve 6 aylık takip boyunca proteinüri düzeyleri 4 gr/gün altında olan hastalar
- 2- Orta progresyon riski: Normal ya da normale yakın kreatinin klirenslerine sahip olan ve 6 aylık takipte proteinüri düzeyleri 4-8 gr/gün'ün altında olan hastalar
- 3- Yüksek progresyon riski: Normal ya da düşük kreatinin klirensli veya 6 aylık takipte proteinürisi 8 gr/gün, idrar IgG ekskresyonu 250 mg/gün ve idrar beta-2 mikroglobülin düzeyleri 0.5 mcg/dakikanın üstünde olan hastalar.

Düşük progresyon riskine sahip hastaların prognozu çok iyidir. Bu grup hastalarda yapılan bir çalışmada uzun dönemde %8'den azında kreatinin klirens kaybı saptanmıştır. Bu nedenle bu grup hastalarda immünosüpressif tedavi önerilmez. Bu grup hastada seçkin tedavi ACEI/ARB gibi RAS inhibitörleridir.

Orta derecede progresyon riskine sahip hastalarda steroid ve sitotoksik ajan kombinasyonunun etkili olduğuna dair inandırıcı kanıtlar vardır. Bu grup hastalarda 6 aylık optimal konsevatif tedaviye rağmen 4 gr/günden daha fazla proteinüri varsa immünosüpressif tedavi indikedir.

Yüksek riskli hastalarda konservatif tedavi süresi 3 ay kadar kısa tutulabilir. Hatta hayatı tehdit eden bir komplikasyon varsa immünosüpressif tedaviye hemen başlanabilir.

Yapılan randomize kontrollü çalışmalarda steroid monoterapisinin proteinüri, hastalık progresyonu ve renal sağkalım üzerine etkisi olmadığı gösterilmiştir. Bu nedenle MN'de steroid monoterapisi önerilmez. (38-39)

Tedavide en sık kullanılan immünosüpressif protokol steroid ve alkilleyici ajan kombinasyonudur. Ponticelli ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada 6 aylık klorambusil/siklofosfamid ve steroid kombinasyonunun, plasebo, sadece steroid ve sadece

siklofosfamid kollarına göre hem komplet, hem de spontan remisyon sağlamada daha başarılı olduğu gösterilmiştir. (40)

Bu grup hastada kullanılabilecek bir diğer grup ilaç da kalsinörin inhibitörleridir. Bir çalışmada, yüksek doz steroid monoterapisine yanıt vermemiş hastalar, düşük doz siklosporin ve steroid ile düşük doz idame steroid tedavilerine randomize edilmiştir. 2 yıllık takipte renal sağkalım açısından iki grup arasında fark olmamasına karşın, siklosporin ve steroid kombinasyonu yapılan grupta parsiyel ve komplet remisyon oranları daha yüksek bulunmuştur. (41) Rutin immünosüpresif tedavilere cevapsız olan yüksek riskli hasta grubunda yapılan bir çalışmada, 2 yıllık siklosporin monoterapisinin hem daha yüksek remisyon oranları sağladığı, hem de renal sağkalım üzerine daha faydalı olduğu gösterilmiştir. (42) Yapılan başka bir çalışmada kontrol grubuna göre takrolimus ile daha yüksek remisyon oranları ve daha iyi renal sağkalım saptanmıştır. (43)

Bugüne kadar kalsinörin inhibitör bazlı rejimleri alkilleyici bazlı rejimlerle kıyaslayan randomize kontrollü çalışma yapılmamıştır. Ancak yapılan retrospektif bir analizde siklosporin bazlı rejimlerin daha yüksek remisyon oranlarına sahip olduğu buna karşın relaps oranların ise diğer gruba göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Renal sağkalım ve hastalık progresyonu üzerinde her iki grubun etkisi benzer bulunmuştur. (44)

MMF ile yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar bildirilmiştir. Asya popülasyonunda yapılan bir çalışmada MMF+steroid kombinasyonunun alkilleyici ajan+steroid kombinasyonu kadar etkili olduğu gösterilmiştir. (45) Ancak MMF monoterapisi ile plasebonun karşılaştırıldığı bir çalışmada ise her iki grup arasında remisyon oranları açısından fark bulunamamıştır. (46) Bugün için MN’de MMF monoterapisi önerilmemektedir.

Rituximab bir başka tedavi seçeneğidir. Her ne kadar randomize kontrollü olmasalar da, yapılan pilot çalışmalarda bildirilen remisyon oranları %60-70 oranında değişmektedir. (47) Bir çalışmada rituximab’ın, hastaların %68’de Anti-PLA2R kaybına neden olduğu gösterilmiştir. (48) Relaps oranları standart protokollere göre daha düşüktür. Rituximab’tan en fazla fayda gören hasta grubunun biyopside tubulointerstitial fibrozisi minimal olan hastalar olduğu gösterilmiştir. (49)

Dirençli hastalarda bir diğer tedavi seçeneği de sentetik ACTH (tetracosactrin)’dir. Alkilleyici bazlı tedavi ile intramüsküler tetracosactrin’i kıyaslayan randomize kontrollü bir çalışmada remisyon oranları benzer bulunmuştur. ACTH kolunda relapsın daha az olduğu

gösterilmiştir. (50) Ancak bu bulgular başka çalışmalar tarafından doğrulanmamıştır. Örneğin yüksek riskli hasta grubunda yapılan bir başka çalışmada remisyon oranlarının %44 olduğu, relaps oranlarının ise %43 olduğu gösterilmiştir. (51) ACTH'nın gel formülasyonu olan corticotropin ile yapılan küçük bir çalışmadan umut verici sonuçlar bildirilmiştir. Bu çalışmada remisyon oranı %82 bulunmuştur. (52)

III. GEREÇ VE YÖNTEM

İstanbul Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı Nefrotik Sendrom Polikliniği'ne başvuran böbrek biyopsisi ile MN ve IgA nefropatisi tanısı konulmuş 152 erişkin hasta ve 30 sağlıklı gönüllü aydınlatılmış onam formu alınarak kesitsel çalışmamıza dahil edildi. Hastaların takip dosyaları tek bir araştırmacı tarafından tarandı. Hastaların demografik özellikleri, kullandığı immunosüpresif tedaviler, eşlik eden hipertansiyon varlığı ve RAS blokajı kullanımı ve tromboz hikayesi hasta dosyalarından not edildi. Hastalar biyopsi sonuçlarına göre IgA nefropatisi veya MN olarak iki gruba ayrıldı. Daha sonra MN tanılı hastaların sekonder sebep saptanmayanları primer MN kabul edildi. Poliklinik kontrolleri sırasında hastalardan Anti-PLA2R için kan örneği alındı. Eş zamanlı serum üre azotu (BUN), kreatinin, ürik asit, total protein, albumin, total kolesterol, düşük dansiteli lipoprotein (LDL), yüksek dansiteli lipoprotein (HDL), trigliserid, laktat dehidrogenaz (LDH), glukoz, kalsiyum, potasyum, fosfor, sodyum, alanin transaminaz (ALT), lökosit, hemoglobin, hematokrit, trombosit değerleri not edildi. Ayrıca spot idrarda protein/kreatinin oranı bakılarak proteinüri miktarı kaydedildi. Biyokimyasal ve hematolojik parametreler İstanbul Tıp Fakültesi Merkez Biyokimya Laboratuvarında çalışıldı. GFR CKD-EPI formülü kullanılarak “ $eGFR = 141 \times \min(Scr/\kappa, 1)^\alpha \times \max(Scr/\kappa, 1)^{-1.209} \times 0.993^{\text{yaş}} \times 1.018$ [eğer kadınsa] (κ kadınlar için 0.7, erkekler için 0.9, α kadınlar için -0.329, erkekler için -0.411)” hesaplandı. (53) MN’de proteinüri <300 mg/gün tam remisyonda olarak kabul edildi. MN’li hastalar proteinüri miktarlarına göre <1 gr/gün, 1-3 gr/gün ve >3 gr/gün olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Serum Anti-PLA2R düzeyleri IFT yöntemiyle ölçüldü. (13)

A- Anti-PLA2R ANTİKOR TAYİNİ

1. İndirekt immunfloresan yöntemi

IFT, serumda dolaşan antikorların saptanması için kullanılan bir yöntemdir. Bu test için öncelikle antikoagülan kullanılmadan 10 cc kan bir tüpe alındı ve santrifüj edilerek serumu ayrıldı.

2. Reagentların, örneklerin hazırlanması:

PBS-Tween Hazırlanışı: 1 lt distile su içine 1 paket PBS katılarak çözündürüldü. Üzerine 2ml.Tween20 eklendi. Tween20 eklendiğinde solüsyon yavaşça karıştırıldı. Hazırlanmış olan PBS-Tween; serumların dilüsyonunda ve yıkama aşamalarında kullanıldı.

3. Örneklerin Hazırlanışı:

Hasta örnekleri 1:10, 1:50, 1:100 ve 1:1000 oranında PBS-Tween ile dilüe edilerek hazırlandı.

4. İnkübasyon

a. Örneklerin aktarımı

Reagent tray (IFA inkübasyon tepsisi) üzerine sırayla 30µl dilüe edilmiş örnekler pipetlendi.

b. Örnek inkübasyonu

Oda sıcaklığında (+18°C - +25°C) 30 dakika inkübe edildi.

5. Yıkama

İnkübasyon sonrasında slaytlar kaldırılıp üzerlerinden PBS-Tween geçirildi. 5 dakika küvette bekletildi. Küvetin içindeki PBS-Tween yenilenerek 2 defa daha, 5'er dakika aynı şekilde yıkandı

6. Floresan işaretli antihuman globulin aktarımı

Reagent tray üzerine sulandırılmış örneklerle birlikte pozitif kontrol ve negatif kontroller ve 25µl FITC-işaretli antihuman IgG solüsyonu pipetlendi.

7. Floresan işaretli antihuman globulin inkübasyonu

Pipetleme işleminden sonra yıkama süresi dolan slaytlar küvetten çıkartıldı ve 5sn içinde slaytların arka alanı kağıt havlu ile silinerek derhal reagent tray üzerine kapatıldı. Oda sıcaklığında (+18°C - +25°C) 30dk inkübe edildi.

8. Yıkama

İnkübasyon sonrasında slaytlar kaldırılıp üzerlerinden PBS-Tween geçirildi. 5 dakika küvette bekletildi. içinde PBS Tween 20 olan şale içine alındı. 5 dakika beklendi. Daha sonra PBS dökülüp yeni PBS ilave edildi. Bu işlem toplam 3 kez yapıldı.

9. Slaytın lamel üzerine kapatılması

Yıkama küvetinden çıkartılan slaytlar yine hızlıca kağıt mendil ile arka yüzeyi ve köşeleri kurularak hazırlanmış lamel üzerine kapatıldı. Lamelin slaytın iç yüzeyine tam oturup oturmadığı kontrol edildi.

Slaytlar mikroskopta değerlendirildi.

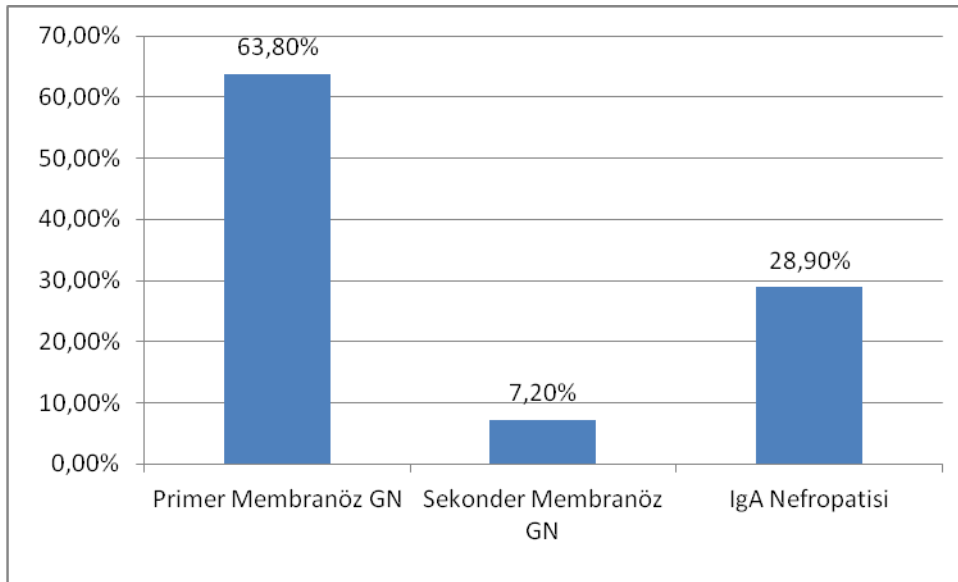
B- İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

İstatistiksel analiz için SPSS 15.0 for Windows programı kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler; kategorik değişkenler için sayı ve yüzde, sayısal değişkenler için ortalama, standart sapma olarak verildi. Sayısal değişkenlerin ikiden çok grup karşılaştırmaları normal dağılım koşulu sağlandığında one-way ANOVA, sağlanmadığında Kruskal Wallis test ile yapıldı. Alt grup analizleri parametrik testte Tukey, nonparametrik testte Mann Whitney U test ile yapıldı ve

Bonferroni düzeltmesine göre yorumlandı. Dağılımı normal olan parametrelerde bağımlı gruplar t testi, anormal olan parametrelerde ise Wilcoxon testi kullanıldı. İki grup karşılaştırmaları sayısal değişken normal dağılım koşulunu sağlamadığından Mann Whitney U testi ile analiz edildi. Sayısal değişkenlerin ilişkileri normal dağılım koşulu sağlandığında Pearson, sağlanmadığında Spearman' rho korelasyon analizi ile yapıldı. Kategorik değişkenlerin gruplar arasındaki farkları Ki-kare analizi ile değerlendirildi. Koşulların sağlanmadığı durumlarda çok gözlü tablolarda Monte Carlo simülasyonu uygulandı. Çok değişkenli analizi, lineer regresyon analizi (enter metodu) ile yapıldı. İstatistiksel alfa anlamlılık düzeyi p değerinin 0,05'ten küçük olması durumu olarak kabul edildi.

IV. BULGULAR

Çalışmamıza İstanbul Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı Nefrotik Sendrom Polikliniğine başvuran biyopsi ile glomerülonefrit tanısı konulmuş 152 erişkin hasta ve 30 sağlıklı erişkin gönüllü dahil edildi. Hastaların ortalama yaşı $45,0 \pm 14,5$ (18-76) idi. Hastaların 63'ü (%41,4) kadın, 89'u (%58,6) erkek idi. Hastaların 97'si (%63,8) primer MN, 44'ü (28,9) IgA nefropatisi, 11'i (%7,2) sekonder MN idi. Tanılarına göre hastaların gruplandırılması Şekil-5'de gösterilmiştir. Hastaların 63'ünde (%41,4) hipertansiyon mevcuttu.



Şekil 5: Tanılarına göre hastaların gruplandırılması

Hastaların gruplarına göre özellikleri Tablo-2'da verilmiştir.

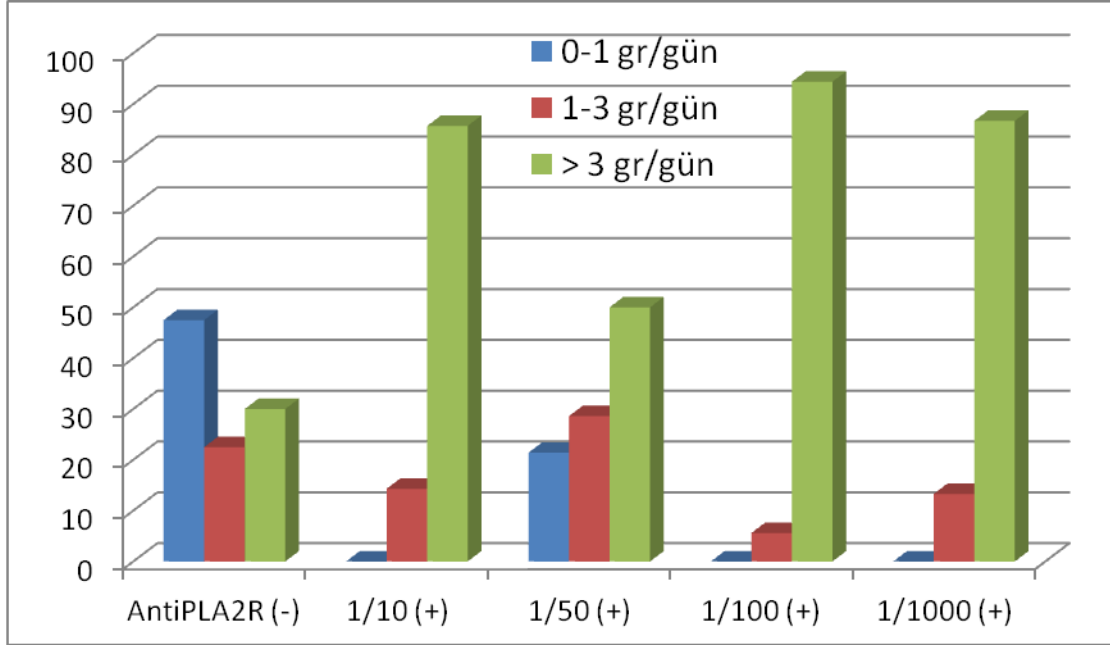
Tablo 2: Hastaların gruplarına göre özellikleri

	Primer MN	Sekonder MN	IgA Nefropatisi	p
GFR (ml/min/1.73 m²)	74,5±36,3	100,6±58,4	64,8±39,2	0,025 ^c
Albumin (gr/dl)	3,2±0,9	2,9±0,9	4,0±0,6	<0,001 ^b 0,001 ^c
Proteinüri (gr/gün)	5,02±4,05*	6,37±5,95	1,99±2,20	<0,001 ^b 0,002 ^c
BUN (mg/dl)	24,2±15,2	25,6±28,9	28,7±22,0	0,465
Kreatinin (mg/dl)	1,39±1,33	1,58±2,52	1,88±1,74	0,226
Ürik Asit (mg/dl)	5,7±1,6	4,2±1,7	6,4±1,8	0,001 ^c 0,02 ^a
Yaş (yıl)	50,2±14,6	40,0±15,6	37,1±8,7	0,043 ^a 0,001 ^b
Total protein (gr/dl)	5,7±1,0	5,9±0,8	6,7±0,8	<0,001 ^b 0,035 ^c
Glukoz (mg/dl)	100±36	119±91	98±38	0,334
Hemoglobin (gr/dl)	12,3±1,8	11,5±1,7	11,6±1,8	0,06
Hemotokrit (%)	338,2±8,3	35,8±3,28	36,2±6,4	0,255
Kalsiyum (mg/dl)	9,2±0,4	9,4±0,4	9,3±0,4	0,222
HDL (mg/dl)	55±17	59±16	45±15	0,197
Potasyum (mEq/L)	4,3±0,4	4,3±0,3	4,5±0,7	0,067
LDH (U/L)	343±113	484±352	348±76	0,130
LDL (mg/dl)	158±70	161±72	125±65	0,400
Fosfor (gr/dl)	4,0±1,2	4,7±1,7	3,9±0,9	0,177
Trigliserid (mg/dl)	185±112	160±121	182±109	0,847
ALT (U/L)	20±9	22±13	17±6	0,165

^a = Primer MN ile Sekonder MN, ^b = Primer MN ile IgA Nefropatisi, ^c = Sekonder MN ile IgA Nefropatisi

Primer ve sekonder MN'li hastaların 96'sı RAS blokeri kullanmıştı. İmmunosupressif tedavi alan primer ve sekonder MN'li hastalarının 64'ü (%61) kortikosteroid, 35'i (%33)

siklosporin, 15'i (%14) mikofenolat mofetil, 10'u (%9) azatiopürin, 5'i (%4) takrolimus, 4'ü (%3) rituximab, 3'ü (%2) siklofosfamid almıştı. Hastaların 5'inde (%4) geçirilmiş tromboz öyküsü mevcuttu. Tromboz öyküsü olan hastaların tamamı Anti-PLA2R pozitif idi. Primer ve sekonder MN hastalarının 24'ü (%23,4) Anti-PLA2R ölçümü yapıldığında remisyundaydı. Anti-PLA2R titrelerine göre proteinüri gruplarının dağılımı Şekil-6'de gösterilmiştir.



Şekil 6: Anti-PLA2R titrelerine göre proteinüri gruplarının dağılımı

Çalışmaya alınan primer MN hastalarının 43'ünde (%44,3) Anti-PLA2R negatif bulunurken; sekonder MN, IgA nefropatili ve sağlıklı gönüllülerin ise tümünde Anti-PLA2R negatif saptandı. ($p<0,001$) (Tablo 3)

Tablo 3: Gruplara göre Anti-PLA2R pozitivitesi

	Anti-PLA2R		Toplam
	Negatif	Pozitif	
Primer MN	43 (44,3%)	54 (55,7%)	97
IgA Nefropatisi	44 (100,0%)	0 (0%)	44
Sekonder MN	11 (100,0%)	0 (0%)	11
Toplam	98	54	152

Primer MN’li hastaların Anti-PLA2R (+) saptananlarının 7’sinde 1/10 titrede, 14’ünde 1/50 titrede, 18’inde 1/100 titrede, 15’inde 1/1000 titrede pozitiflik bulundu. Primer MN’li hastalar Anti-PLA2R sonucuna göre 2 gruba ayrıldığında gruplar arasında albumin, proteinüri, remisyon durumu, proteinüri evresi, serum total protein düzeyleri ve LDL arasında anlamlı fark varken diğer biyokimyasal parametrelerde her iki grup arasında anlamlı fark yoktu (Tablo 4).

Tablo 4: Primer MN’li hastaların Anti-PLA2R pozitivitesine göre genel özellikleri

	Anti-PLA2R(+)	Anti-PLA2R(-)	P
eGFR (ml/dk/1.73m²)	71,1±33,2	78,9±39,9	0,301
Albumin (gr/dl)	2,8±0,8	3,7±0,8	<0,001
Proteinüri (gr/gün)	6,9±3,7	2,4±2,7	<0,001
Kreatinin (mg/dl)	1,49±1,46	1,26±1,13	0,403
Ürik asit (mg/dl)	5,8±1,3	5,5±1,9	0,507
Yaş (yıl)	51,7±13,9	48,4±15,4	0,277
Total Protein (gr/dl)	5,2±0,9	6,2±0,8	<0,001
LDL (mg/dl)	174±70	140±66	0,04
ALT (U/L)	18,5±9,4	21,8±10,4	0,114
Kalsiyum (mg/dl)	9,1±0,4	9,2±0,5	0,273
Glukoz (mg/dl)	101±29	99±43	0,847
Total Kolesterol (mg/dl)	266±92	230±77	0,081
Hemoglobin (gr/dl)	12,3±2,0	12,4±1,6	0,805
Hematokrit (%)	38,7±10,2	37,7±4,9	0,566
HDL (mg/dl)	53,9±16,6	57,7±19,2	0,370
Potasyum (mEq/L)	4,3±0,5	4,2±0,4	0,530
Sodyum (mEq/L)	140±3	138±20	0,428
Fosfor (mg/dl)	4,2±1,2	3,8±1,1	0,148
Lökosit (x10³/mm³)	9,0±3,0	8,8±3,0	0,781
Trombosit (x10³/mm³)	276±74	264±65	0,417
Trigliserid (mg/dl)	197±106	170±118	0,319
Cinsiyet (E/K)	38/16	25/18	0,210
	(%70,4/%29,6)	(%58,1/%41,9)	
Remisyon (+/-)	4/50	19/20	<0,001
	(%7,4/%92,6)	(%48,7/%51,3)	
Proteinüri evresi	3/8/43	19/9/12	<0,001
(<1 gr/gün,1-3 g/gün,>3 g/gün)	(%5,6,%14,8,%79,6)	(%47,5,%22,5,%30)	
Kortikosteroid (-/+)	13/31	11/24	0,857
	(%29,5,%70,5)	(%31,4,%68,6)	
Siklosporin-A (-/+)	22/20	20/13	0,476

MMF (-/+)	(%52,4/%47,6)	(%60,6/%39,4)	0,883
	37/6	28/5	
Takrolimus(-/+)	(%86,%14)	(%84,8,%15,2)	0,126
	38/4	33/0	
Azatiyopürin (-/+)	(%90,5,%9,5)	(%100,%0)	0,069
	34/8	32/1	
Rituximab (-/+)	(%81,%19)	(%97,%3)	0,118
	33/4	32/0	
	(%89,2/%10,8)	(%100,%0)	

Anti-PLA2R titresi ile proteinüri arasında pozitif korelasyon saptandı ($r=0,363$; $p=0,007$) ancak eGFR, yaş, serum albumin ve serum total protein ile korelasyon saptanmadı.

Araştırma esnasında remisyonda olmayan hastaların, glomerüler hastalıkla ilişkili parametrelerini içeren çok değişkenli analizde, Anti-PLA2R pozitif olanların daha yüksek proteinüri düzeylerine ve daha düşük GFR'ye, dolayısıyla da daha şiddetli glomerüler hastalığa sahip oldukları saptandı. (Tablo 5)

Tablo 5: Araştırma esnasında remisyonda olmayan hastaların glomerüler hastalıkla ilişkili parametrelerinin karşılaştırılması

	Anti-PLA2R	n	Ortalama	P
Kreatinin (mg/dl)	Pozitif	50	1,53±1,50	0,681
	Negatif	29	1,38±1,68	
eGFR (ml/dk/1.73m²)	Pozitif	50	69,1±31,6	0,026
	Negatif	29	90,8±53,1	
BUN (mg/dl)	Pozitif	44	27,1±17,8	0,587
	Negatif	26	24,6±18,6	
Proteinüri (gr/gün)	Pozitif	50	7,2±3,7	0,034
	Negatif	29	5,3±4,1	
Albumin (mg/dl)	Pozitif	49	2,8±0,8	0,192
	Negatif	29	3,0±0,8	

Proteinüri düzeyine etkili faktörlerin tüm hastaları içeren çok değişkenli analizinde proteinüri düzeyine etkili temel faktörün Anti-PLA2R düzeyi ve MN varlığı olduğu saptandı. BUN, cinsiyet, yaş, kreatinin, hemoglobin düzeyleri ile steroid kullanımının etkili olmadığı bulundu. (Tablo-6)

Tablo 6: Proteinüri değerine etkili faktörlerin tüm hastaları içeren çok değişkenli analizi

	Standardize Katsayılar	olmayan Standard sapma	Standardize Katsayılar	T	
	B		Beta		
(Constant)	,432	4,042		,107	
Anti-PLA2R(+/-)	4,493	,956	,494	4,701	
BUN (mg/dl)	,060	,037	,199	1,604	
GN türü (MN/IgA)	2,300	,763	,311	3,013	
Cinsiyet	,059	1,080	,006	,055	
Kreatinin (mg/dl)	-,325	,436	-,082	-,747	
Yaş (yıl)	,002	,034	,008	,073	
Hb (gr/dl)	-,218	,299	-,083	-,731	
Steroid kullanımı	1,284	,974	,129	1,319	

V. TARTIŞMA

Tanı ve tedavideki modern zaman gelişmelerine rağmen glomerülonefritler, halen önemli bir son dönem böbrek yetmezliği nedenidir. MN’de Anti-PLA2R pozitifliğinin saptanması ve insan podositlerinin yüzeyinde PLA2R varlığının gösterilmesi ile MN fizyopatolojisine dair bilgi birikiminde çarpıcı değişimler ortaya çıkmıştır. Ayrıca bu antitenin keşfi ile hem hastalık aktivitesinin ve tedaviye yanıtın monitorizasyonunda hem de primer ile sekonder MN ayırımında önemli ilerlemeler kaydedilmiştir.

Antikoru ilk tanımlayan araştırmacılar antikor tayini için Western Blotting (WB) yöntemini kullanmışlardır. (11-21) Ancak daha sonraları IFT yöntemi ile de bu antikorun ölçülebildiği gösterilmiştir. (13-54-55)

Rutin pratikte, yöntemin pahalı olması ve karmaşıklığı, deneyimli personel ve donanımın kolay ulaşılır olmaması nedeniyle WB tekniğini yaygın olarak kullanmak güçtür. IFT ise WB’a göre daha kolay bir testtir ve son zamanlarda bu test için kullanılmak üzere ticari bir kit geliştirilmiştir.

Yakın zamanda yapılan çalışmalarda ELISA yöntemi ile de antikor ölçümünün yapılabileceği, ölçüm sonuçlarının prediktif değeri olduğu (56) ve IFT sonuçları ile korele olduğu gösterilmiştir. (54)

Hoxha ve arkadaşları 153 sağlıklı gönüllü, 90 non-membranöz glomerüler hasarlı, 17 sekonder ve 100 primer MN’li hasta serumunda IFT yöntemiyle Anti-PLA2R ölçümleri yapmışlardır. Primer MN’li hastaların %52’sinde 1/10’dan 1/3200’e kadar değişen dilüsyonlarda antikor pozitifliği saptamışlardır. Nefrotik düzeyde proteinürisi olan hastaların % 65.7’de, subnefrotik düzeyde proteinürisi olan hastaların %15.5’da antikor pozitifliği bulmuşlardır. (13)

MN’li hastalarda Anti-PLA2R prevalansına dair literatürde birbirinden farklı rakamlar da bildirilmiştir. Örneğin Hofstra ve arkadaşları Anti-PLA2R pozitiflik oranlarını %78, (12) Beck ve arkadaşları %70, (48) Debiec ve arkadaşları %57, (55) Qin ve arkadaşları %82 , (21) Kanigicherla ve arkadaşları %73 olarak bildirmişlerdir. (56)

Biz de çalışmamızda IFT yöntemini kullandık. Primer MN’li hastaların % 55.7’sinde Anti-PLA2R pozitifliği saptadık. Hem kullanmış olduğumuz yöntem, hem de Anti-PLA2R prevalansı Hoxha ve Debiec’in yukarıda refere edilen çalışmaları ile uyumlu idi.

Bir çok çalışmada Anti-PLA2R titreleri ile hastalık aktivitesi arasında güçlü bir korelasyon olduğu gösterilmiştir.

Örneğin Hofstra ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, 18 hastadan, hastalığın çeşitli evrelerinde 54 serum örneği alınmıştır. Hastaların %77.8’de Anti-PLA2R pozitif bulunmuştur. Anti-PLA2R düzeyleri ile proteinüri, serum beta-2 mikroglobülin, üriner IgG ve beta-2 mikroglobülin ekskresyonu ve serum kreatinin düzeyleri arasında belirgin pozitif korelasyon, hesaplanan GFR ile ise negatif korelasyon saptanmıştır. Bu çalışmada hastalık statusu ile Anti-PLA2R titreleri arasında da bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Nefrotik düzeyde proteinüri varlığında yüksek titrelerde Anti-PLA2R pozitifliği saptanırken hastalık remisyona girdiğinde antikor titrelerin azaldığı, nüks durumlarında ise antikor titrelerin tekrar arttığı gösterilmiştir. (12)

Beck ve arkadaşları rituximab tedavisi uyguladıkları 35 hastanın tedavi öncesi ve tedavi sonrası Anti-PLA2R düzeylerini monitörize etmişlerdir. 25 hastada (%71) Anti-PLA2R pozitifliği saptanmış ve bu hastaların 17’sinde (%68) tedaviden 12 ay sonra antikor negatifleşmiştir. İmmünolojik cevap saptanan hastalarda tedavi sonrası 12. ayda %59, 24. ayda %88 oranında komplet ya da parsiyel remisyona saptanırken bu oranlar Anti-PLA2R pozitifliği sebat eden hastalarda %0 ve %33 olarak bulunmuştur. (48)

Bizim çalışmamızda Anti-PLA2R, ölçüm anında remisyonda olmayan hastaların %71.4’de pozitif iken remisyonda olan hastaların sadece %17.3’de pozitif idi. Anti-PLA2R pozitif saptananlarının, 7’sinde 1/10 titrede, 14’ünde 1/50 titrede, 18’inde 1/100 titrede, 15’inde 1/1000 titrede pozitiflik bulundu. Biz de çalışmamızda yukarıda refere edilen çalışmalarla uyumlu olarak Anti-PLA2R titresi ile proteinüri arasında pozitif korelasyon saptadık. ($r=0,363$; $p=0,007$)

Benzer şekilde primer MN’li hastaların Anti-PLA2R pozitif olanlarında, negatif olanlara göre, hastalık aktivitesinin önemli parametrelerinden sayılabilecek serum albümin ve total protein düzeyleri düzeylerini daha düşük; proteinüri ve serum LDL düzeylerini ise daha yüksek bulduk.

Hastalarımız proteinürilerine göre <1 gr/gün, 1-3 gr/gün ve >3 gr/gün olmak üzere 3 gruba ayrıldığında Anti-PLA2R pozitif hastaların %79’u >3 gr/gün, %5.6’sı <1 gr/gün proteinüriye sahipken; Anti-PLA2R negatif hastaların %47.5’u <1 gr/gün, %30’u 3 gr/gün proteinüriye sahipti. İki grup arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi. ($p<0,001$) Yani

nefrotik düzeyde proteinüri olan hastaların büyük kısmı Anti-PLA2R pozitif; Anti-PLA2R negatif hastaların büyük kısmı ise subnefrotik idi.

Çalışma kesitsel bir çalışma olduğu için ölçüm yapıldığı anda hastalar farklı hastalık aktivitelere sahipti. Bu nedenle remisyonda olmayan primer MN'li hasta grubunun glomerüler hastalıkla ilişkili parametrelerini içeren çok değişkenli bir analizini yaptık. Bu hasta grubunda Anti-PLA2R pozitif olanların daha yüksek proteinüri ve daha düşük GFR'ye dolayısıyla daha şiddetli glomerüler hastalığa sahip olduklarını saptadık.

Proteinüri düzeyine etkili faktörlerin tüm hastaları içeren çok değişkenli analizinde ise proteinüri düzeyine etkili temel faktörün Anti-PLA2R pozitifliği ($p<0,001$) ve MN varlığı olduğu bulduk. ($p=0,003$)

Primer MN'li hastalarımızın 4 tanesinde tromboembolik olay saptanmıştı. Bu 4 hasta da Anti-PLA2R pozitif hastalardı. Tromboembolik olay olduğu sıradaki antikor statuslarını bilemediğimiz için tromboz ile Anti-PLA2R varlığı arasında neden sonuç ilişkisi kuramadık.

Tüm bu bulgular hastalık aktivitesi ile Anti-PLA2R arasında ilişki saptayan literatürdeki diğer çalışmalar ile uyumludur.

Çalışma kesitsel ve retrospektif olarak dizayn edildiği için antikor varlığı ve antikor titreleri ile spontan remisyon, son dönem böbrek yetmezliğine ilerleme, tedaviye yanıt gibi parametreler arasındaki olası ilişkiler hakkında ileri bir yorum yapamadık.

MN'li hastaların böbrek biyopsi materyallerinde en sık biriken IgG subgrubu IgG4'tür. Beck ve Qin'nin çalışmalarında da saptanan Anti-PLA2R'ler arasında IgG4 dominansı olduğu gösterilmiştir. (11-21)

Çalışmamızda IgG türü antikorların varlığını taradık ancak IgG subgruplarını ölçemedik. Bu nedenle hasta grubumuzda saptanan antikorlardaki subgrupların varlığı ve oranları hakkında bilgi sahibi olamadık.

Bilindiği gibi MN sekonder sebeplere bağlı olabilir. Klinik pratikte MN tanısı konulduğu andan itibaren hastalığın olası sekonder nedenlerine yönelik kapsamlı bir araştırma yapılır. Anti-PLA2R ölçümlerinin bu ayırım konusunda yardımcı olabileceği bildirilmektedir.

Anti-PLA2R pozitifliği hastalığın primer olduğunun önemli bir göstergesi olabilir, birçok çalışmada da sekonder MN'li hastalarda Anti-PLA2R negatif bulunmuştur. (11-13) Ancak literatürde bu konu ile ilgili çelişkili sonuçlar da bildirilmiştir. Örneğin Qin ve arkadaşları SLE'li 20 hastanın 1'inde, viral hepatitli 16 hastanın 1'inde ve malignitesi olan 10 hastanın 3'ünde Anti-PLA2R pozitifliği olduğunu saptamışlardır. (21)

Bizim sekonder MN hasta grubumuzda hasta sayısı nisbeten az idi. Toplam 11 hastamızın 7'si SLE, 1 Hodgkin lenfoma, 1'i sarkom, 1'i HBV tanılı idi. Bir hastamıza ise tanıdan 12 ay önce akut miyeloblastik lösemi nedeniyle allogeneik kemik iliği transplantasyonu yapılmıştı. Bu hastaların tümünde Anti-PLA2R negatif bulundu. Hasta sayısı az olmasına rağmen bu bilgi literatür ile uyumlu bulunmuştur. Anti-PLA2R ölçümleri primer ve sekonder MN ayırımında değerli bir yol gösterici olabilir.

Literatürde MN dışı diğer glomerüler hastalıklarda (IgA nefropatisi, minimal değişiklik hastalığı, fokal segmental glomerüloskleroz, diabetik nefropati, vaskülitler) Anti-PLA2R saptanmadığını bildiren çok sayıda çalışma vardır. Örneğin Beck ve arkadaşları membranöz nefropati dışı proteinürik böbrek hastalığına sahip 15 hastanın tümünde Anti-PLA2R'yi negatif bulmuştur. (11) Benzer şekilde Hoxha ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada non membranöz glomerüler hasarlı 90 hastanın tümünün Anti-PLA2R negatif olduğu bulunmuştur. (13)

Çalışmamıza dahil olan 44 IgA nefropatili hastanın tümünde Anti-PLA2R negatif bulundu. Bu bulgular literatür ile uyumludur.

Literatürde bu güne kadar sağlıklı kontrollerde Anti-PLA2R pozitifliği bildirilmemiştir. (11-13) Çalışmamıza dahil olan 30 sağlıklı kontrolün tümünde Anti-PLA2R negatif bulundu. Bu bulgu da literatür ile uyumludur.

Çalışmamızın bazı eksik yönleri vardı. Kesitsel retrospektif bir analiz olduğu için, çok sayıda karıştırıcı faktör, sonuçların ileri yorumlarını engelledi. Hastaların kullanmış oldukları immünosüpresif ilaçların, ilaç doz ve sürelerinin, antikor varlığı ve titreleri üzerine olan etkilerini yorumlayamadık. Spontan remisyon olasılığı ve uzun dönemdeki hastalık aktivasyonu ile antikorun varlığı ve titreleri arasındaki olası ilişkileri test edemedik. Dokuda PLA2R ekspresyonunun varlığını, bu ekspresyonun serum antikor düzeyleri ve klinik parametreler ile olan ilişkilerini inceleyemedik. IgA nefropatisi dışındaki diğer glomerüler

hastalıklarda Anti-PLA2R varlığını araştıramadık. MN'ye eğilim yaratan HLA subgrupları ve PLA2R polimorfizmlerini tarayamadık.

Sonuç olarak, erişkindeki nefrotik sendromların önemli bir bölümünü oluşturan MN'li hastalarda primer, sekonder ayırımı için Anti-PLA2R varlığının araştırılması etkin ve pratik bir yöntem olarak klinik pratikte uygulanabilir. Tedavi etkinliği ve sürecinin belirlenmesinde bu laboratuvar yönteminin kullanılabilmesi için daha uzun süreli çalışmalara ihtiyaç vardır.

VI. SONUÇLAR

- 1- IFT ile Anti-PLA2R ölçümü yapılabilir.
- 2- Anti-PLA2R pozitifliği sadece primer MN hastalarında saptanmaktadır.
- 3- Anti-PLA2R sağlıklı kontrollerde, sekonder MN veya IgA nefropatili hastalarda negatif bulunmaktadır.
- 4- Anti-PLA2R titreleri ile proteinüri arasında pozitif korelasyon vardır.
- 5- Anti PLA2R pozitif MN'li hastalarda negatif olanlara göre proteinüri daha fazla ve trombotik komplikasyonlar daha sıktır.
- 6- Remisyonda olmayan Anti-PLA2R pozitif hastalarda negatiflere göre proteinüri daha şiddetli, böbrek fonksiyonları daha kötüdür.

VII. KAYNAKLAR

- 1- Tiebosch AT, Wolters J, Frederik PF, et al. Epidemiology of idiopathic glomerular disease: a prospective study. *Kidney Int.* 1987; 32(1):112-6.
- 2- Herrmann SM, Sethi S, Fervenza FC. Membranous nephropathy: The start of a paradigm shift *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2012; Mar;21(2):203-10.
- 3- Glassock RJ. Diagnosis and natural course of membranous nephropathy. *Semin Nephrol* 2003; 23: 324–332.
- 4- Kerjaschki D, Farquhar MG. The pathogenic antigen of Heymann nephritis is a membrane glycoprotein of the renal proximal tubule brush border. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1982; 79: 5557–5561.
- 5- Kerjaschki D, Farquhar MG. Immunocytochemical localization of the Heymann nephritis antigen (GP330) in glomerular epithelial cells of normal Lewis rats. *J Exp Med* 1983; 157:667–686.
- 6- Border, W. A., Ward, H. J., Kamil, E. S. & Cohen, A. H. Induction of membranous nephropathy in rabbits by administration of an exogenous cationic antigen. *J. Clin. Invest.* 1982; 69, 451–461.
- 7- Adler, S. G., Wang, H., Ward, H. J., Cohen, A. H. & Border, W. A. Electrical charge. Its role in the pathogenesis and prevention of experimental membranous nephropathy in the rabbit. *J. Clin. Invest.* 1983;71, 487–499.
- 8- Debiec, H. et al. Antenatal membranous glomerulonephritis due to anti-neutral endopeptidase antibodies. 2002; *N. Engl. J. Med.* 346, 2053–2060.
- 9- Debiec, H. et al. Role of truncating mutations in MME gene in fetomaternal alloimmunisation and antenatal glomerulopathies. *Lancet* 2004; 364, 1252–1259.
- 10- Bruschi, M. et al. Direct characterization of target podocyte antigens and auto-antibodies in human membranous glomerulonephritis: Alfa-enolase and
1. borderline antigens. *J. Proteomics* 2011;74, 2008–2017.
- 11- Beck LH Jr, Bonegio RG, Lambeau G, et al. M-type phospholipase A2 receptor as target antigen in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med* 2009; 361:11–21.
- 12- Hofstra JM, Beck LH Jr, Beck DM, et al. Antiphospholipase A receptor antibodies correlate with clinical status in idiopathic membranous nephropathy. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011; 6:1286–1291.

- 13- Hoxha E, Harendza S, Zahner G, et al. An immunofluorescence test for phospholipase-A2-receptor antibodies and its clinical usefulness in patients with membranous glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26:2526–2532.
- 14- Comper WD, Glasgow EF. Charge selectivity in kidney ultrafiltration. *Kidney Int* 1995; 47:1242-51.
- 15- Goode NP, Shires M, Davison AM. The glomerular basement membrane charge-selectivity barrier: an oversimplified concept? *Nephrol Dial Transplant*. 1996; 11:1714-6.
- 16- Glassock, R. J. The pathogenesis of idiopathic membranous nephropathy: a 50-year odyssey. *Am. J. Kidney Dis.* 2010; 56,157–167.
- 17- Kerjaschki, D. Pathogenetic concepts of membranous glomerulopathy (MGN). *J. Nephrol.* 2000; 13(Suppl. 3), 96–100.
2. 18- Jefferson AJ, Couser WG: Membranous nephropathy in the pediatric population. In: Avner E, Harmon W, Niaudet P, Yoshikawa N, ed. *Pediatric Nephrology*, 6th ed. Philadelphia: Springer; 2009:799-814.
- 18- USRDS 2008 Annual Data Report. Atlas of End-Stage Renal Disease in the United States. 2008.
- 19- Fervenza FC, Sethi S, Specks U: Idiopathic membranous nephropathy. Diagnosis and treatment. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3: 905-919.
- 20- Qin W, Beck LH, Jr., Zeng C, et al. Anti-phospholipase A2 receptor antibody in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2011; 22(6):1137-43.
- 21- Erwin DT, Donadio JV Jr, Holley KE: The clinical course of idiopathic membranous nephropathy. *Mayo Clin Proc.* 1973,48:697-712.
- 22- Gluck MC, Gallo G, Lowenstein J, Baldwin DS: Membranous glomerulonephritis. Evolution of clinical and pathologic features. *Ann Intern Med.* 78:1-12.
- 23- Claudio Ponticelli, Richard J. Glassock. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2013; doi: 10.2215/CJN.04160413.
- 24- East L, Isacke CM. The mannose receptor family. *Biochim Biophys Acta* 2002;1572:364-86.
- 25- Lambeau G, Lazdunski M. Receptors for a growing family of secreted phospholipases A2. *Trends Pharmacol Sci* 1999;20:162-70.
- 26- Zvaritch E, Lambeau G, Lazdunski M. Endocytic properties of the M-type 180-kDa receptor for secretory phospholipases A2. *J Biol Chem* 1996; 271:250-7.
- 27- Stanescu HC, Arcos-Burgos M, Medlar A, et al. Risk HLA-DQA1 and PLA(2)R1 alleles in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med* 2011; 364:616–626.

- 28-Stahl R, Hoxha E, Fechner K. PLA2R autoantibodies and recurrent membranous nephropathy after transplantation. *N Engl J Med.* 2010; 363(5):496-8.
- 29-Debiec H, Martin L, Jouanneau C, et al. Autoantibodies specific for the phospholipase A(2) receptor in recurrent and de novo membranous nephropathy. *Am J Transplant* 2011; 11:2144–2152.
- 30-Cybulsky, A. V., Quigg, R. J. & Salant, D. J. Experimental membranous nephropathy redux. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2005; 289, 660–671.
- 31-Cunningham, P. N. & Quigg, R. J. Contrasting roles of complement activation and its regulation in membranous nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2005; 16, 1214–1222.
- 32-Pedchenko, V., Vanacore, R. & Hudson, B. Goodpasture's disease: molecular architecture of the autoantigen provides clues to etiology and pathogenesis. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2011; 20, 290–296.
- 33-Kain, R. et al. Molecular mimicry in pauci-immune focal necrotizing glomerulonephritis. *Nat. Med.* 2008; 14, 1088–1096.
- 34- Van der Zee, J. S., van Swieten, P. & Aalberse, R. C. Inhibition of complement activation by IgG4 antibodies. *Clin. Exp. Immunol.* 1986; 64, 415–422.
- 35-Aalberse, R. C. & Schuurman, J. IgG4 breaking the rules. *Immunology* 2002; 105, 9–19.
- 36-Lhotta, K., Würzner, R. & König, P. Glomerular deposition of mannose-binding lectin in human glomerulonephritis. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1999;14, 881–886.
- 37-Cameron JS, Healy MJ, Adu D: The Medical Research Council trial of short-term high-dose alternate day prednisolone in idiopathic membranous nephropathy with nephrotic syndrome in adults. The MRC Glomerulonephritis Working Party. *Q J Medicine.* 1990; 74:133-156.
- 38-Cattran DC, Delmore T, Roscoe J, et al.: A randomized controlled trial of prednisone in patients with idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med.* 1989; 320:210-215;.
- 39-Ponticelli C, Zucchelli P, Imbasciati E: Controlled trial of methylprednisolone and chlorambucil in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med.* 1984; 310: 946–950.
- 40-Cattran, D. C. et al. Cyclosporine in patients with steroid-resistant membranous nephropathy: a randomized trial. *Kidney Int.* 2001; 59: 1484–1490.
- 41-Naumovic R, Jovanovic D, Pavlovic S: Cyclosporine versus azathioprine therapy in high-risk idiopathic membranous nephropathy patients: A 3-year prospective study. *Biomed Pharmacother.* 2011; 65: 105–110.

- 42-Praga M, Barrio V, Jua' rez GF, Lun~o J. Tacrolimus monotherapy in membranous nephropathy: A randomized controlled trial. *Kidney Int.* 2007; 71: 924–930.
- 43-Goumenos DS, Katopodis KP, Passadakis P: Corticosteroids and ciclosporin A in idiopathic membranous nephropathy: Higher remission rates of nephrotic syndrome and less adverse reactions than after traditional treatment with cytotoxic drugs. *Am J Nephrol.* 2007; 27:226–231.
- 44-Chan, T. M. et al. Prospective controlled study on mycophenolate mofetil and prednisolone in the treatment of membranous nephropathy with nephrotic syndrome. *Nephrology.* 2007; 12, 576–581.
- 45-Dussol, B. et al. Mycophenolate mofetil monotherapy in membranous nephropathy: a 1 year randomized controlled trial. *Am. J. Kidney Dis.* 2008; 52, 699–705.
- 46-Ruggenenti P, Chiurciu C, Brusegan V, et al.:Rituximab in idiopathic membranous nephropathy: A one-year prospective study. *J Am Soc Nephrol.* 2003;14:1851-1857.
- 47-Beck LH Jr, Fervenza FC, Beck DM, et al. Rituximab-induced depletion of Anti-PLA2Rautoantibodies predicts response in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2011; 22:1543–1550.
- 48-Ruggenenti P, Chiurciu C, Abbate M, et al.: Rituximab for idiopathic membranous nephropathy: Who can benefit? *Clin. J Am Soc Nephrol.* 2006; 1:738-748.
- 49-Ponticelli C, Passerini P, Salvadori M, et al.: A randomized pilot trial comparing methylprednisolone plus a cytotoxic agent versus synthetic adrenocorticotrophic hormone in idiopathic membranous nephropathy. *Am J Kidney Dis.* 2006; 47:233-240.
- 50-Hofstra J, BrinkH, Van de Kerkhof J,WetzelsJ: Synthetic ACTH is less effective than cyclophosphamide in patients with idiopathic membranous nephropathy [Abstract]. *J Am Soc Nephrol.* 2011; 22: A773.
- 51-Bomback, A. S. et al. Treatment of nephrotic syndrome with adrenocorticotrophic hormone (ACTH) gel. *Drug Des. Devel. Ther.* 2011; 5, 147–153.
- 52-www.mdrd.com (Eriřim tarihi 1.3.2014)
- 53-Hofstra JM, Debiec H, Short CD et al. Anti-Phospholipase A2 Receptor antibody titre and subclass in idiopathic membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2012; 23: 1735–1743.
- 54-Debiec H, Ronco P. PLA2R autoantibodies and PLA2R glomerular deposits in membranous nephropathy. *N Engl J Med.* 2011; 364: 689–690.

55- Kanigicherla DKA, Brenchley PE, Venning M, et al. Association of Anti-PLA2R with Disease Activity and Outcome in Idiopathic Membranous Nephropathy [Abstract]. J Am Soc Nephrol. 2011;22:33A.

ÖZGEÇMİŞ

ADI: Uzm. Dr. Özgür Akın Oto

DOĞUM YERİ/DOĞUM TARİHİ: DİYARBAKIR- 07/08/1975

UZMANLIK ALANI VE GÖREVİ:

İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Nefroloji Bilim Dalı Yan Dal Uzmanlık Öğrencisi

DÜZENLEME TARİHİ:		15/08/2012	
T.C. KİMLİK NO:		37441237900	
UNVANI ADI SOYADI:		Uzman Dr. Özgür Akın Oto	
YAZIŞMA ADRESİ:		İ.Ü İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları ABD Nefroloji BD Fatih/İSTANBUL	
DOĞUM TARİHİ ve YERİ:		07/08/1975 Diyarbakır	
TEL:		GSM: 0505 4576389	
E-posta:	maviozgurluk@gmail.com	Fax:	212 4142028

EĞİTİM

ÖĞRENİM DÖNEMİ	DERECE (*)	ÜNİVERSİTE	ÖĞRENİM ALANI
2010	Yandal Uzmanlık	İÜ İstanbul Tıp Fakültesi	Nefroloji
1999-2005	Tıpta Uzmanlık	Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi	İç Hastalıkları Uzmanlık
1992-1998	Lisans	Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıp

(*) Diploma Türü (Lisans, Y.Lisans, vb)

1-AKADEMİK ve MESLEKİ DENEYİM

GÖREV DÖNEMİ	ÜNVAN	ÜNİVERSİTE	BÖLÜM
2010-	Yandal Uzm. Öğ.	İÜ İstanbul Tıp Fakültesi	Nefroloji BD
1999-2005	Tıpta Uzm. Öğr.	Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi	İç Hastalıkları AD

2-YAYIN BİLGİLERİ:

- 1- Kurtaran B, Oto OA, Candevir A, Inal AS, Sirin Y. A Case of HIV Infection with Thrombocytopenia: Assosiation of HIV, Thrombotic Thrombocytopenic Purpura and Brucellosis. Indian J Hematol Blood Transfus. 2011 March; 27(1): 35–38.
- 2- Kurtaran B, Oto OA, Candevir A, Saltoğlu, Aksu HSZ. "PAN"dora'nın Kutusu: Nedeni Bilinmeyen Ateş ile Seyreden Bir Poliarteritis Nodosa Olgusu. FLORA Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi 2008;13(1): 47-51
- 3- Oto OA, Paydas S, Tanriverdi K, Seydaoglu G, Yavuz S, Disel U. Survivin and EPR-1 expression in acute leukemias: prognostic significance and review of the literature. Leuk Res. 2007 Nov;31(11):1495-501.
- 4- Oto OA, Paydas S, Disel U, Yavuz S, Seydaoglu G. Amphotericin B deoxycholate (d-AMB) use in cases with febrile neutropenia and fungal infections: lower toxicity with suitable premedication. Mycoses. 2007 Mar; 50(2):135-9.
- 5- Oto OA, Paydas S, Baslamisli F, Tuncer I, Ergin M, Kalakoc E, Disel U, Yavuz S, Köse F, Tasova Y. Transfusion-associated graft-versus-host disease. Eur J Intern Med. 2006 May; 17(3):151-6.
- 6- Paydaş S, Balal M, Paydaş S, Oto O, Gonlusen G. Glomerular disease in patients with malignant disease: four cases and review of literature. Ren Fail. 2005; 27(1):1-6. Review.