



T.C.

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**HIZLI İLERLEYEN (KRESENTİK)
GLOMERULONEFRİT BÖBREK BİYOPSİ
ÖRNEKLERİNDE KI-67 MONOKLONAL
ANTİKORUN DEĞERLENDİRİLMESİ VE
PROGNOZLA İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. MUSTAFA ZEYBEK

DANIŞMAN

Yard. Doç. Dr. Hakan AKDAM

AYDIN-2016

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**HIZLI İLERLEYEN (KRESENTİK)
GLOMERULONEFRİT BÖBREK BİYOPSİ
ÖRNEKLERİNDE KI-67 MONOKLONAL
ANTİKORUN DEĞERLENDİRİLMESİ VE
PROGNOZLA İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. MUSTAFA ZEYBEK

DANIŞMAN

Yard. Doç. Dr. Hakan AKDAM

AYDIN-2016

Bu Araştırma Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
Taraından TPF 15043 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

ÖN SÖZ

İç Hastalıkları uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan onur duyduğum, meslek hayatıma çok önemli katkıları olan tez danışmanı hocam Yard. Doç. Dr. Hakan AKDAM'a ve Anabilim Dalı Başkanımız Nefroloji Bilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Yavuz YENİÇERİOĞLU'na, ayrıca uzmanlık eğitimim boyunca üzerimde emeği olan hocalarım, Prof. Dr. M. Hadi YAŞA, Prof. Dr. Abdulvahit YÜKSELEN, Prof. Dr. Engin GÜNEY, Prof. Dr. Nezih MEYDAN, Prof. Dr. Sabri BARUTCA, Prof. Dr. A. Zahit BOLAMAN, Prof. Dr. Hulki M. SÖNMEZ, Prof. Dr. V. Gürhan KADIKÖYLÜ, Prof. Dr. A. Önder KARAOĞLU, Doç. Dr. İrfan YAVAŞOĞLU, Yard. Doç. Dr. Adil COŞKUN, Yard. Doç. Dr. Mediha AYHAN, Yard. Doç. Dr. Mustafa ÜNÜBOL, Yard. Doç. Dr. Hilal BEKTAŞ UYSAL, Yard. Doç. Dr. Songül ÇILDAĞ ve Yard. Doç. Dr. Altay KANDEMİR'e en içten teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tez konumla ilgili verilerin istatistiksel değerlendirilmesi aşamasında yardımlarını esirgemeyen Halk Sağlığı Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Pınar OKYAY ve Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. İbrahim METEOĞLU'na,

Berber çalışmaktan ve tanımaktan mutluluk duyduğum İç Hastalıkları yan dal araştırma görevlisi meslektaşlarıma ve zorlukları birlikte aştığımız araştırma görevlisi arkadaşlarıma, Maddi ve manevi destekleriyle her zaman yanımda olan ve bu günlere gelmemi sağlayan aileme sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Mustafa ZEYBEK

Aydın, 2016

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 Glomerülonefritler	2
2.2.1. Hızlı İlerleyen (Kresantik) Glomerülonefritler	4
2.2.2. Sınıflandırma	4
2.2.2.1 TİP I; Anti-glomerüler bazal membran (Anti-GBM) Antikor Hastalığı	5
2.2.2.2. TİP-II; İmmün Kompleks Glomerülonefriti	7
2.2.2.3. TİP-III; Pauci-immün Tip Kresantik Glomerülonefrit	8
2.2.3. Epidemiyoloji	9
2.2.4. Patogenez	10
2.2.5. Teşhis ve Tanı	12
2.2.6. Tedavi	14
2.2.7. Prognoz	17
2.3 Kronik Böbrek Hastalığı	18
2.3.1. Kronik Böbrek Hastalığının Klinik Özellikleri	20
2.3.2. Kronik Böbrek Hastalığı Epidemiyolojisi	20
2.3.3. Kronik Böbrek Hastalığında Hasta Yaşamı ve Mortaliteyi Etkileyen Faktörler	21
2.3.4. Kronik Böbrek Hastalığının Doğal Seyri	22
2.4. Ki-67	22
2.5. CD-68 (Cluster of Differentiation-68)	23
2.6. Bcl-2 (B cell lymphoma 2)	23
3. GEREÇ ve YÖNTEM	25
3.1. Hasta Seçimi	25
3.2. Patolojik blokların hazırlanması ve değerlendirilmesi	25
3.3. İstatiksel yöntemler	26
3.4. Etik Kurul	26
4. BULGULAR	27
5. TARTIŞMA	40

6. SONUÇ	44
7. ÖZET	45
8. ABSTRACT	47
9. KAYNAKLAR	48

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No	Tablo Adı	Sayfa
Tablo I.	Nefritik ve nefrotik sendromun genel özellikleri	3
Tablo II.	Nefritik ve nefrotik sendrom nedenleri	3
Tablo III.	Hızlı ilerleyen (kresantik) glomerülo nefritlerin sınıflandırılması	5
Tablo IV.	ANCA + Görülen Hastalıklarda ANCA Sıklığı	9
Tablo V.	Kresantik glomerülo nefrit vakalarının bazı özellikleri	9
Tablo VI.	Kresantik glomerulonefrit tipleri, ışık ve immünfloresan mikroskopi bulguları	12
Tablo VII.	Hızlı İlerleyen GN'lerin Özellikleri	13
Tablo VIII.	Glomerulonefrit eşlik eden ANCA vaskülitte önerilen tedavi rejimleri	16
Tablo IX.	Kronik böbrek hastalığı evreleri	19
Tablo X.	2013 yıl sonu itibarıyla kronik HD programında izlemde olan hastaların etiyolojik nedenlere göre dağılımı	21
Tablo XI.	Hastaların Bazı Demografik Verilerinin Karşılaştırılması	27
Tablo XII.	Hastaların Patolojik Tanı Dağılımı	28
Tablo XIII.	Hastaların Bcl-2, CD-68 ve Ki-67 İmmünohistokimyasal Boyanma Oranları	29
Tablo XIV.	Ki-67 İmmünohistokimyasal Boyanma Oranına Göre Kreatinin Değerlerindeki Değişim	34
Tablo XV.	Bcl-2 İmmünohistokimyasal Boyanma Oranına Göre Kreatinin Değerlerindeki Değişim	35
Tablo XVI.	CD-68 İmmünohistokimyasal Boyanma Oranına Göre Kreatinin Değerlerindeki Değişim	36
Tablo XVII.	Hastaların Renal Biyopsideki Kresantik Oranına göre Bcl-2, CD-68, Ki-67 İmmünohistokimyasal Boyanma Oranlarının Karşılaştırılması	37
Tablo XVIII.	Ki-67, Bcl-2 ve CD-68 İmmünohistokimyasal Boyanma Oranlarına Göre Kreatinin Değerlerindeki Değişim	38
Tablo XIX.	Hastaların 24 Saatlik İdrarlarında Birinci ve Üçüncü Ay'da Ölçülen Proteinüri ve Mikroalbuminüri Sonuçlarındaki Değişim	38
Tablo XX.	Hastaların ANCA (p-ANCA, c-ANCA) ve ANA Sonuçları	39

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa
Şekil 1.	Hızlı ilerleyen glomerülonefritlerde etiyopatogenetik faktörler ve bunlara örnek oluşturan klinik tablolar	11
Şekil 2.	Hastaların Patolojik Tanı Dağılımı	28
Şekil 3.	Ki-67 İmmünohistokimyasal Boyanma Oranına Göre Kreatinin Değişimi	34
Şekil 4.	Bcl-2 İmmünohistokimyasal Boyanma Oranına Göre Kreatinin Değişimi	35
Şekil 5.	CD-68 İmmünohistokimyasal Boyanma Oranına Göre Kreatinin Değişimi	36

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AAV	ANCA-İlişkili Vaskülit
Ab	Antikor
ANA	Antinükleer Antikor
ANCA	Anti Nötrofil Sitoplazmik Antikor
Anti GBM	Anti Glomeruler Bazal Membran
C ANCA	Sitoplazmik Anti Nötrofil Sitoplazmik Antikor
DM	Diyabetes Mellitus
GBM	Glomeruler Bazal Membran
GFH	Glomeruler Filtrasyon Hızı
GN	Glomerulo Nefrit
HSP	Henoch Schönlein Purpurası
Ig	İmmün Globulin
IVIG	İntravenöz İmmün Globulin
KBH	Kronik Böbrek Hastalığı
KDIGO	Kidney Disease Improving Global Outcomes (Böbrek Hastalıkları Küresel Sonuçların İyileştirilmesi)
KDOQI	Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (Böbrek Hastalığı Sonuçlarının Kalite Önceliği)
MMF	Mikofenolat Mofetil
MPGN	Membrano Proliferatif Glomerulo Nefrit
PAN	Poli Arteritis Nodoza
P ANCA	Perinükleer Anti Nötrofil Sitoplazmik Antikor
PSGN	Post-Streptokokkal Glomerulo Nefrit
SLE	Sistemik Lupus Eritematozus

RESİMLER DİZİNİ

Resim No	Resim Adı	Sayfa
Resim 1.	Sellüler, fibrosellüler, fibröz kresentler	30
Resim 2.	Bcl-2 ile immünhistokimyasal boyanma	31
Resim 3.	Ki-67 ile immünhistokimyasal boyanma	32
Resim 4.	CD-68 ile immünhistokimyasal boyanma	33

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Glomerulonefrit (GN) terimi, böbrekte glomerullar ve diğer kompartmanlar içerisinde inflamasyona sebep olan bir dizi immün aracılıklı bozuklukları kapsamaktadır. Glomerulonefritler etiyolojik nedenlere göre primer ve sekonder GN'ler olarak sınıflandırılır. Primer GN'ler bilinen bir sistemik hastalık veya etken (lupus, vaskülit, enfeksiyon, malignansi, metabolik hastalık, ilaçlar gibi) olmaksızın sadece glomerulların veya ağırlıklı olarak glomerulların tutulduğu hastalıklar şeklinde tanımlanmaktadır. Sistemik hastalığın veya etkenin bir organ tutulumu olarak, glomeruler tutulumun olduğu hastalıklar sekonder glomeruler hastalıklar şeklinde tanımlanmaktadır (1).

Sistemik hastalık bulgularının olmadığı GN olgularında ayırıcı tanıda post-streptokokkal GN, Ig A nefropati, Hızlı ilerleyen GN ve membranoproliferatif GN düşünülebilir (2).

Kresentik GN spesifik bir hastalık değil fakat farklı etiyolojilerin ve patojenik mekanizmaların neden olduğu glomeruler hasarın morfolojik sonucudur (3).

"Kresentik glomerulonefrit" glomerüler Bowman kapsülündeki epitelyal hücrelerin proliferasyonu ve özellikle monosit-makrofajlar olmak üzere T lenfositlerin infiltrasyonu ile birlikte görülür. Glomeruler nekroz, renal vaskülit, endokapiller lezyonlar birlikte bulunabilir (4). Klinik olarak genellikle renal fonksiyonlarda hızlı bir bozulma izlenir; bu durumda, tablo "hızlı ilerleyen glomerulonefrit" olarak isimlendirilir. Tedavi edilmezse çoğu kez günler, haftalar ya da aylar içinde son dönem böbrek hastalığına yol açar (5). Kresentik GN primer-idiyopatik olabildiği gibi, çeşitli glomerül hastalıklarına (membranoproliferatif GN, Ig A nefropatisi, membranöz GN) veya sistemik hastalıklara (enfeksiyonlar, sistemik lupus eritematozus, çeşitli vaskülitler) ikincil de olabilir (4).

Çalışmamızda hızlı ilerleyen (kresentik) GN hastalarının renal biyopsi örneklerinde proliferasyon indeksi olarak kullanılan Ki-67 monoklonal antikoru, apoptotik aktiviteyi belirleyen Bcl-2'nin ve makrofaj hücre belirleyicisi olan CD-68'in immünohistokimyasal boyaması kullanılarak hücresel proliferasyonun, apoptozisinin değerlendirilmesi ve bu boyanma özelliklerinin hastalık prognozu ile ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Glomerülonefritler

Glomerülonefrit, genel olarak glomerüler nefrit; glomerülleri veya böbrekler içinde yer alan küçük kan damarlarının inflamasyonu ile karakterize bir böbrek hastalığıdır. İzole hematüri ve/veya proteinüri ile sınırlı kalabileceği gibi nefrotik sendrom, nefritik sendrom, akut böbrek yetmezliği veya kronik böbrek hastalığı gibi sonuçlara doğru gidebilen türüne göre ilerleyici-kronik veya tedavi sonrası iyileşip tam kürün sağlanabildiği bir hastalık ailesidir. Ayrıca geniş proliferatif olmayan ya da proliferatif türleri gruplandırılmıştır. Fizyopatolojileri farklı oluşan ve farklı gelişen GN'lerin teşhis ve tedavi sonuçları da farklıdır. Bu yüzden doğru bir şekilde teşhisi ve tedavisi gereklidir. Aksi takdirde uzun yıllar boyunca devamlı tedavisi gereken kronik böbrek hastalığı geliştiği takdirde sürekli diyaliz ihtiyacının karşılanma zorunda kalındığı ve hatta böbrek transplantasyonu gerektirebileceği de önemli gerçekleri arasında yer almaktadır (3-9).

Glomerülonefrit kendiliğinden oluşursa bu tip hastalıklar primer GN olarak adlandırılmaktadır. Primer GN'lerde sadece böbrek tutulumu vardır glomerüler filtrasyon bariyerinde oluşan hasarlanmaya bağlı gelişir. Sekonder nedenleri arasında bazı bakteriyel, viral veya paraziter enfeksiyonlar, uyuşturucu kullanımı yer almaktadır. Bazı sistemik hastalıkların böbrek tutulumu olması sebebiyle gelişirse bu tip hastalıklar sekonder GN olarak adlandırılmaktadır. Sekonder nedenler arasında sistemik lupus eritmatosis (SLE), vaskülitler, diyabet, hipertansiyon gibi hastalıkların böbrek tutulumu ile ilişkili olabilmektedir. Uzamış ve ciddi inflamasyon böbreklerde kalıcı zararlar vererek böbrek yetmezliğine neden olabilir (10-11).

Başlıca bulgu ve belirtileri de yine akut-kronik olmasına veya sebeplerine bağlıdır. Hasta genel olarak bazı rahatsızlıkları hissediyor olsada sadece rutin idrar tahlili sırasında da ortaya çıkabilmektedir.

Glomerülonefritlerin başlıca bulgu ve belirtileri (12-13):

- Pembe veya kahverengi idrar (idrardan kan gelmesi-hematüri)
- İdrarda köpük olması (proteinüri)
- Yüksek kan basıncı (hipertansiyon)
- Yüz, eller, ayaklar, bacaklar ve karında sıvı retansiyonu (ödem)
- Anemi veya böbrek yetmezliğine bağlı olarak anemi

Glomerülonefritler genellikle nefritik sendrom veya nefrotik sendrom bulgularını taşırlar. Nefritik sendrom ve nefrotik sendromun genel özellikleri Tablo-I’de özetlenmiştir (14).

Tablo I. Nefritik ve nefrotik sendromun genel özellikleri (14).

Nefritik Sendrom	Nefrotik Sendrom
Oligüri, azotemi	3,5 gr/gün proteinüri
Hematüri (dismorfik, eritrosit silendir)	Hipoalbuminemi
Proteinüri (3 gr/gün’den az)	Hiperlipidemi
Hipertansiyon	Ödem
Ödem	Hiperkoagulabilite (antitrombin III kaybı)

Nefritik sendromda ortak patolojik bulgu glomerüler filtrasyon bariyerinde endotel hücre hasarının oluşmasıdır. Nefrotik sendromda ise epitel ayaksı çıkıntılarında silinme vardır, inflamasyon bulgusu, sellülarite artışı gözlenmez. Nefritik sendrom nedenleri, nefrotik sendrom nedenleri Tablo-II’de gösterilmiştir (15).

Tablo II. Nefritik ve nefrotik sendrom nedenleri (15).

Nefritik Sendrom	Primer Nefrotik Sendrom	Sekonder Nefrotik Sendrom
Membranoproliferatif glomerulonefrit	Minimal lezyon hastalığı	Diabetes mellitus
IgA nefropatisi	Membranöz glomerülonefrit	Amiloidozis
Akut post-streptokoksik glomerülonefrit	Fokal segmental glomerülskleroz	Sistemik lupus eritematozis
Subakut bakteriyel endokardit	Membranoproliferatif glomerülonefrit	İlaçlar (Non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlar, Altın)
ANCA ilişkili vaskülit (granülomatozis polianjiitis, mikroskopik polianjit, churg-strauss sendromu)		Enfeksiyonlar (Hepatit B ve C virüs enfeksiyonu, sifiliz, bakteriyel endokardit)
Antiglomerüler bazal membran hastalığı		Malignite (Hodgkin ve diğer lenfomalar)
Lupus nefriti		

2.2.1. Hızlı İlerleyen (Kresentik) Glomerülonefritler

Hızlı ilerleyen GN denilen kresentik GN belirli bir hastalık değildir fakat çoğalan ve dediferansiye olan visseral ve paryetal hücreler tarafından türetilen hücrelerin bowman boşluğunda birikimi ile karakterize ciddi glomerüler histolojik hasarı tanımlamaktadır (3, 8-11). Klinik tabloyu oluşturan renal belirtiler idrarda hematüri ve eritrosit silendirleri, seyrek olarak nefrotik düzeye ulaşan orta derecede proteinüri, değişken derecelerde hipertansiyon ve ödemdir. Glomerüler hasarın hafif formlarının spontan olarak gerileyebilmesine rağmen, renal tutulum genellikle haftalar içinde progressif olarak ilerler ve sonunda şiddetli oligüri ortaya çıkar. Günümüzde hızlı ilerleyen GN'lerin bazı tiplerinde prognozun iyileşmiş olmasına rağmen, son dönem böbrek yetmezliğine progresyon hala sıktır. Bu nedenle, böbrek işlevini koruma adına erken tanı ve agresif tedavi son derece önemlidir (16).

Nedenden bağımsız olarak, klinik sendroma eşlik eden klasik histopatolojik lezyon glomerüllerin % 50'sinden fazlasını etkileyen aşırı ekstrakapiller proliferasyon, yani kresent oluşumudur. Kresentler glomerüler bazal membranda ortaya çıkan şiddetli hasar sonucu bowman boşluğuna doğru parietal hücrelerin proliferasyonu, monosit ve makrofajların migrasyonu ile oluşur. Bowman boşluğuna fibrin kaçıışı da kresent oluşumuna önemli katkıda bulunmaktadır. Kresentler sonunda bowman boşluğunu doldurur ve glomerüler yumağa baskı yaparlar. Tedavi kısa zamanda başlatılmaz ise hücresel kresentler hızla fibröz kresentlere dönüşür ve glomerüler kapiller yumakta kollaps ortaya çıkar (16-19).

Kliniğinde kresentik GN genellikle makroskopik ya da mikroskopik hematüri, eritrosit atılımı ile proteinüri gibi değişken derecelerde ilişkili ve klinik başlangıcından itibaren 3 ay içinde böbrek fonksiyon kaybına neden olan bir klinik durumdur. Kresentik GN etyolojisi nedeni ne olursa olsun, nihai sonucu glomerüler bazal membranda hasar oluşumudur. Üriner boşlukta fibrin ve fibronektin birikimi parietal epitel hücrelerinin aktive olarak çoğalmasına ve böylece bowman kapsülünde çatlaklar oluşmasına ve burada makrofaj ve fibrinin büyük bir ölçüde göçüne neden olmaktadır (3, 8-11).

Klinik olarak gelişimi böbrek fonksiyonlarında hızlı bir bozulma ile başlangıç gösterir. Tedavi edilmediği takdirde gün, hafta ya da aylar içinde son dönem böbrek hastalığına yol açar (18, 19).

2.2.2. Sınıflandırma

Hızlı ilerleyen GN nedenleri, patogenezi ve klinik belirtileri belirgin olarak farklılık gösterebilen bir kısmı sadece böbreğe sınırlı, diğerleri sistemik olan çeşitli

hastalıkları kapsar (3). Gerçekte tüm nefritik glomerüler hastalıklar, şiddetli oldukları zaman hızlı ilerleyen GN'ye yol açabilirler. Kresentik GN'nin primer nedeni de tam olarak bilinemesi de membranoproliferatif GN, IgA nefropatisi, membranöz GN gibi glomerül hastalıklarına veya genel GN sebeplerine ikincil olabilir. Primer hızlı ilerleyen GN'ler temel olarak immün patogeneze (serolojik ve immünfloresan mikroskopi bulgularına) göre üç tipe ayrılmıştır (Tablo III).

Tip I; Anti-glomerüler bazal membran (GBM) antikor hastalığı, Tip II; İmmün kompleks aracılı kresentik GN ve Tip III; Pauci-immün tip kresentik GN. Tip III olguların büyük kısmı anti-nötrofil sitoplazmik antikor (ANCA) pozitif GN'ler kategorisine girer (3, 6-9).

Tablo III. Hızlı ilerleyen (kresentik) glomerülonefritlerin sınıflandırılması (20).

PRİMER

Tip I: Anti-glomerüler bazal membran antikor hastalığı (Goodpasture sendromu)

Tip II: İmmün kompleks hastalığı

Tip III: Pauci-immün tip (genellikle ANCA pozitif)

SEKONDER

Membranoproliferatif glomerülonefrit

IgA nefropatisi – Henoch-Schönlein purpurası

Post-streptokoksik glomerülonefrit

Sistemik lupus eritematozis

Poliarteritis nodoza, hipersensitivite anjiitis

Wegener granülomatozu

İlaçlar

2.2.2.1. TİP I; Anti-glomerüler bazal membran (Anti-GBM) Antikor Hastalığı

Kresentik GN'lerin yaklaşık %10-20'sinden sorumludur. Oldukça seyrek görülen bir hastalık olup, Avrupa'daki insidansının yılda milyon popülasyon başına 0.5 olgu olduğu tahmin edilmektedir. Glomerüler bazal membranın yapısındaki tip 4 kollajenin $\alpha 3$ zincirinin non-kollajenöz bölgesine karşı oluşan IgG yapısında dolaşan antikorların yol açtığı bir hastalıktır (3). Normal Glomerüler bazal membranda $\alpha 3$, $\alpha 4$ ve $\alpha 5$ tip IV kollajenler non-kollajen-1 başlarından dimerleşme gerçekleştirerek hexamer yapısı oluştururken, bu sendromda Ig G'lerin $\alpha 3$ zinciri non-kollajen-1 direk bağlantı oluşturmaktadır. Ayrıca $\alpha 5$ zincirine karşı gelişen antikorlar (Ab) anti-GBM hastalığına yol açar. Bu Ab'ler ile oluşturulan hasarlar glomerüler kapillerde boşluklar oluşturur ve bu boşluklarda koagülasyon

faktörleri ve inflamatuvar hücrelerin birikimine neden olur. Böylece kresent oluşumu gerçekleşir. Ayrıca kompleman sistemi aktivasyonu ve polimorfonükleer cevap gelişimi, paryetal hücrelerin proliferasyonunun ana sebebi olduğu ve yine bu sistemde T hücrelerinin etkin olduğunu düşündürmektedir (3, 8-11). Bu antikorlar GBM’da inflamatuvar bir hasara yol açar, GBM parçalanır ve kresentik bir GN oluşur. Anti-GBM antikorları pulmoner kapiller bazal membran ile çapraz reaksiyona girer ve orada hasara yol açarsa pulmoner hemoraji ve hemoptizi gelişir ve bu birliktelik goodpasture sendromu olarak adlandırılır. Pulmoner hemoraji olguların yaklaşık % 60’ında görülür. Sigara içme ve uzun süre uçucu hidrokarbonlara maruz kalma pulmoner hemoraji riskini arttırır. Patogenezi kesin olarak bilinmemekle beraber, temel sorunun T hücre aktivasyonu olduğu düşünülmektedir. HLA-DR2 ile ilişkisi, hastalığın gelişiminde genetik faktörlerin de rolü olduğunu desteklemektedir (3, 6, 8).

Hastalığın sıklığı iki pik yapar. Birinci pik ikinci-üçüncü dekattaki erkeklerde görülür, bu olgularda goodpasture sendromu olasılığı daha yüksektir. Böbreğe sınırlı hastalık ise daha çok 60 yaşın üstündeki kadınlarda görülür. Hastalık tipik olarak idrar miktarında azalmanın eşlik ettiği nefritik bir tablo ile başlar. Artralji, miyalji, ateş ve karın ağrısı tabloya eşlik edebilir. Böbrek işlevi günler-haftalar içinde normalden diyaliz gerektiren düzeylere kadar bozulabilir. Pulmoner tutulumlu olgularda dispne ile birlikte yaşamı tehdit edici hemoptizi bulunabilir ve akciğer grafisinde diffüz alveoler infiltratlar saptanır. Ayrıca, alveolar hemorajiye bağlı mikrositik anemi gelişebilir. Hastaların yaklaşık % 90’ında serumda anti-GBM antikorları saptanır. Antikor düzeyi ile hastalığın klinik seyri arasında bir ilişki yoktur (3-9). Yaklaşık % 10-38 hastada p-ANCA veya c-ANCA varlığı ortaya konulabilir. Nadir olarak böbrek transplantı olmuş Alport sendromu hastalarında gelişebilir. Bu durumda tranplante edilmiş böbrekteki antijenik epitoplara Ab oluşumunu tetikler ve bir çok hastada lineer IgG oluşumu gözlenir. % 3-12 hastada ciddi kresentik GN gelişir (3, 8-11).

Işık mikroskopik incelemede sıklıkla Bowman boşluğunda şiddetli kresentik proliferasyon ve kresentlere komşu glomerüller segmentlerde fibrinoid nekroz saptanır. Etkilenmemiş glomerüller normal görülür. İmmünfloresan mikroskopide glomerüller kapiller bazal membran boyunca lineer bir şekilde IgG birikimi saptanır, fakat elektron mikroskopide elektron yoğun depozitler gösterilemez. Nadiren IgA birikimi de olabilir (3-9).

Primer kresentik GN’ler içinde prognoz en kötü olduğu gruptur. Nisbeten nadir görülmesi nedeniyle büyük kontrollü çalışmaların bulunmamasına rağmen, ana tedavi

stratejisini dolaşımdaki anti-GBM antikorlarını temizlemek için plazmaferez ve antikor yapımını azaltmak için siklofosfamid ve kortikosteroidler ile yoğun immünsüpresif tedavi kombinasyonu oluşturur (3). İrreversibl renal hasar ve pulmoner hemoraji gelişimini önlemek için hızlı tedavi gereklidir. Tedaviye başlandığı sırada serum kreatinin düzeyi 7 mg/dl'nin üzerinde olan veya biyopside kresentlerin çoğu fibrotik hale gelen hastalarda böbrek işlevinin düzelme olasılığı düşüktür. Plazmaferez dolaşımdaki antikorlar kayboluncaya kadar günlük olarak uygulanmalı ve her defasında 2-4 litrelik bir plazmanın değişimi sağlanmalıdır. Sıklıkla 2-3 haftalık bir uygulama gerekir. İmmünsüpresif tedavi olarak ise her ne kadar etkinliği tam olarak kanıtlanamamış olsa da, 3 gün süreyle 7 mg/kg/gün dozunda metilprednizolon intravenöz olarak uygulanır. Takiben 1 mg/kg/gün dozunda oral prednizon tedavisi başlanır, doz giderek azaltılarak 2-3. aylarda gınaşırı tedaviye geçilir. Siklofosfamid ise 2 mg/kg/gün dozunda oral olarak veya aylık 0,5 gr/m² dozunda intravenöz olarak uygulanabilir. Bazı olgularda 3-4. aydan sonra siklofosfamid kesilip, azathioprine geçilebilir. Tedavi süresi 6-12 aydır. Tedavi edilmeyen veya yanıt alınamayan hastalarda erken dönemde yapılacak böbrek transplantasyonunda greft böbrekte nüks olasılığı yüksek olduğundan, anti-GBM antikor titresi negatifleşinceye kadar, tercihen en az 6 ay transplantasyon ertelenmelidir (3, 6, 9).

2.2.2.2. TİP-II; İmmün Kompleks Glomerülonefriti

Primer kresentik GN'lerin yaklaşık % 25'ini oluşturmaktadır ve özellikle çocuklarda sık görülür. Glomerüllerde immün kompleks aracılı hasar ile birlikte dir. Olguların çoğunda başlatıcı antijen bilinmemektedir; ancak, bazı bireylerde altta yatan SLE veya post-streptokoksik GN gibi bir immün kompleks hastalığı bulunabilir. Bazen de membranoproliferatif GN veya IgA nefropatisi gibi primer glomerüler hastalıkların zemininde gelişebilir (3, 6, 9).

Bu hastalıklarda kanda dolaşan immün kompleksler glomerüler kapillerde inflamatuvar cevabı oluşturur ve GBM'da hasara neden olur. Bu hasar makrofajların, doğal öldürücü hücrelerin, granülositlerin ve dendritik hücrelerin aktivasyonuna, böylece Th1 ve Th17 hücre yanıtının gelişimine neden olur. Bunların sonucu olarak kresent oluşumu gerçekleşir. Deneysel hayvan modellerinde bir dizi T lenfositlerin hilal oluşumunda önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Bu durumda, T lenfositlerin GBM hasarlaması için doğrudan ya da dolaylı bir mekanizma olmalıdır. T lenfositleri doğrudan matriks metalloproteinaz üretimi ile kollajeni etkileyebilir. T lenfositler tarafından salınan granzimler sitotoksik etki ve proteoglikanları lisize edebilir. Aktif T lenfositler aynı zamanda endojen

glomeruler hücrelerin matriks metalloproteinaz üretimini uyarak ve nötrofiller ve monositler tarafından serin proteinaz ve matriks metalloproteinazların salgılanmasını sağlayarak dolaylı olarak GBM hasarlanmasına neden olabilir (3, 8-11). Hasara aracılık eden en önemli mediatörün kompleman aktivasyonu olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, patogeneizde Fc reseptörlerin önemine ilişkin kanıtlar vardır. Hastalarda serolojik olarak hipokomplementemi saptanabilir (3, 6, 9).

Diğer tiplere göre kresent oluşumu daha azdır ve etkilenmemiş glomerüllerde kapiller duvarda kalınlaşma ve endokapiller proliferasyon görülür. Bowman kapsülündeki hasarın daha az olması ile uyumlu olarak kresentlerde epitelyal hücrelerin makrofajlara oranı daha yüksektir. İmmünflöresan incelemede ise glomerüler bazal membran boyunca granüler tarzda immün kompleks birikimi saptanır (3-9).

Tedaviye yüksek doz metilprednizolon ile başlanır ve takiben 1 mg/kg/gün dozunda oral prednizona geçilir. Yaklaşık 3-4 haftadan sonra doz giderek azaltılarak 2-3. aylarda gūnaşırı uygulamaya geçilir. Böbrek fonksiyonunda hızlı azalma olan olgularda tedaviye sitotoksik ajanlar eklenebilir. Plazmaferezin yararı yoktur. Post-infeksiyöz olanlar altta yatan infeksiyonun tedavisi ile düzelebilir (3-9).

2.2.2.3. TİP-III; Pauci-immün Tip Kresentik Glomerülonefrit

Erişkinlerde hızlı ilerleyen GN'lerin en yaygın formudur, kresentik olguların % 60-80'ni oluşturur. Özellikle yaşlılarda ve beyazlarda sık görölmektedir. Hastalığın karakteristik lezyonu fokal nekrotizan ve kresentik GN'dir. Pauci-immün tip kresentik GN sistemik küçük damar vaskülitinin bir komponenti veya böbreğe sınırlı (primer) hastalık olabilir. Olguların yaklaşık 2/3'ünde hastalık sistemik vasküitle beraberdir. Sistemik vaskülit böbrek dışında akciğer, üst solunum yolları, paranazal sinüsler, kulak, göz, deri, gastrointestinal sistem, periferik sinirler, eklemler ve santral sinir sistemini etkileyebilir (3-9). Bu kresentik GN glomerüler birikimin yokluğu ve renal küçük-damar vaskülit ile ilişkilendirilmiştir. Çoğu hastada ANCA pozitifliği ve sistemik vaskülit belirtileri vardır. Son zamanlarda konsensus tip 3'ü ANCA-ilişkili vaskülitler olarak sınıflandırılmasını önermiştir (Chapell-Hill 2012 sınıflaması). Bu terim granulomatoz polianjitis ile mikroskobik polianjitis, ve eozinofilik granülomatozuslu polianjitisi içerir (3, 8-11). En sık görülen sistemik olgular granulomatoz polianjitis ve mikroskobik polianjitisdir. Ayrıca, eozinofilik granülomatoz sendrom ve propiltiourasil, allopurinol ve hidralazin gibi bazı ilaçlar da sorumlu olabilir.

Retrospektif çalışmalarda, sistemik ve böbreğe sınırlı olgular arasında prognoz bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır (6-9).

Pauci-immün tip kresentik GN'lerin en tipik özelliği olguların yaklaşık % 80-90'ında saptanan ANCA pozitifliğidir. ANCA, miyeloperoksidaza (MPO-ANCA veya sıklıkla P-ANCA) veya proteinaz-3'e karşı (PR3-ANCA veya sıklıkla C-ANCA) oluşmuş antikorlardır. Böbreğe sınırlı olguların yaklaşık 2/3'ünde MPO-ANCA ve % 30'unda PR3-ANCA pozitif'tir. Sistemik olgularda ise PR3-ANCA pozitifliği olasılığı daha yüksektir (3-9) (Tablo IV).

Tablo IV. ANCA + Görülen Hastalıklarda ANCA Sıklığı (21)

	P-ANCA	C-ANCA
Granülomatöz Polianjitis	% 10	% 80-90
Mikroskopik Polianjitis	% 50	% 20-40
Eozinofilik granülomatozuslu polianjitis	% 50	% 35
Primer Pauci-immün Kresentik Glomerulonefrit (sadece renal tutulum olan form)	% 50	% 20-40
Kistik Fibrozis		% 80 (Atipik)

Kuzey Karolina Üniversitesi nefroloji laboratuvarı sonuçlarına göre, Anti-GBM Kresentik GN hastalarının yaş ortalaması 52, erkek kadın oranı 1/1,04, ortalama kreatinin değeri 9,7 ve 24 saatlik idrarda proteinüri ortalama değeri 1,67 olarak bulunmuştur. Aynı değerler Pauci-immün kresentik GN vakalarında sırasıyla 56, 1/1,09, 6,5 ve 1,94 iken, immün kompleks kresentik GN vakalarında ise sırasıyla 33, 1/1,6, 4,9 ve 4,39 olarak bulunmuştur (3) (Tablo V).

Tablo V. Kresentik glomerulonefrit vakalarının bazı özellikleri (3).

TİP	Yaş (yıl)	♂/♀	Kreatinin (mg/dL)	Proteinüri (g/24 saat)
Anti-GBM Kresentik GN	52 ± 21	1.0/1.0 4	9.7 ± 7.1	1.67 ± 3.35
Pauci-immün Kresentik GN	56 ± 20	1.0/0.9	6.5 ± 4.0	1.94 ± 2.95
İmmün-Kompleks Kresentik GN	33 ± 17	1.0/1.6	4.9 ± 3.8	4.39 ± 4.77

2.2.3. Epidemiyoloji

Kresentik GN'ler oldukça nadir görülen bir hastalıktır. İtalya'da 7 yılda yapılan 13835 böbrek biyopsisinde % 13 olarak saptanmıştır. Ayrıca immün kompleks kresentik GN'ler her yaşta özellikle doğurganlık çağında lupuslu kadınlarda, Henoch-Schönlein

vaskülitü çocuk ve adölesanlarda görülebilir. Miks kriyoglobulinemi daha çok 50-60'lı yaşlarda görülebilir. GoodPasture hastalığı 20-30'lu yaşlarda özellikle erkekleri etkilerken, 60'lı yaşlarda kadınları etkilemektedir (6-11). Genelde ırk dağılımı olmasa da Tip I ve III beyaz ırkta çok görülür. GoodPasture hastalığı Kuzey kutbuna yakın ülkelerde ve Birleşik Krallık'ta sıklığı artmış görülür. Post-enfeksiyöz GN genelde az-gelişmiş ülkelerde rastlanır. Lupus nefriti beyaz ırkta, Asya topluluklarından daha az görülür (9-11).

Sistemik ve renal vaskülit prevalansı Avrupa ülkelerinde farklılık göstermektedir. Fransa asıllı bir çalışmada 1 milyon kişide 30,7 Poliarteritis nodoza (PAN), 25,1 Mikroskopik polianjitis, 23,7 Granulomatoz polianjitis ve 10,7 Eozinofilik granülomatozuslu polianjitis sıklığı bulunmuştur. Avrupa'lılarda genel prevalans Avrupa'lı olmayanlara göre 2 kat fazladır. İsveç'te yapılan başka bir çalışmada milyonda 160 kişi granulomatoz polianjitis, 94 kişi Mikroskopik polianjitis, 31 kişi PAN, 14 kişide de eozinofilik granülomatozuslu polianjitis sıklığı bulunmuştur. Bir İngiliz çalışmasında ANCA ilişkili vaskülit (AAV) 18/milyon, granulomatoz polianjitis 7.9/milyon, mikroskopik polianjitis 7.5/milyon, PAN 7/milyon, eozinofilik granülomatozuslu polianjitis 1.3/milyon bulunmuştur (22-24).

2.2.4. Patogenez

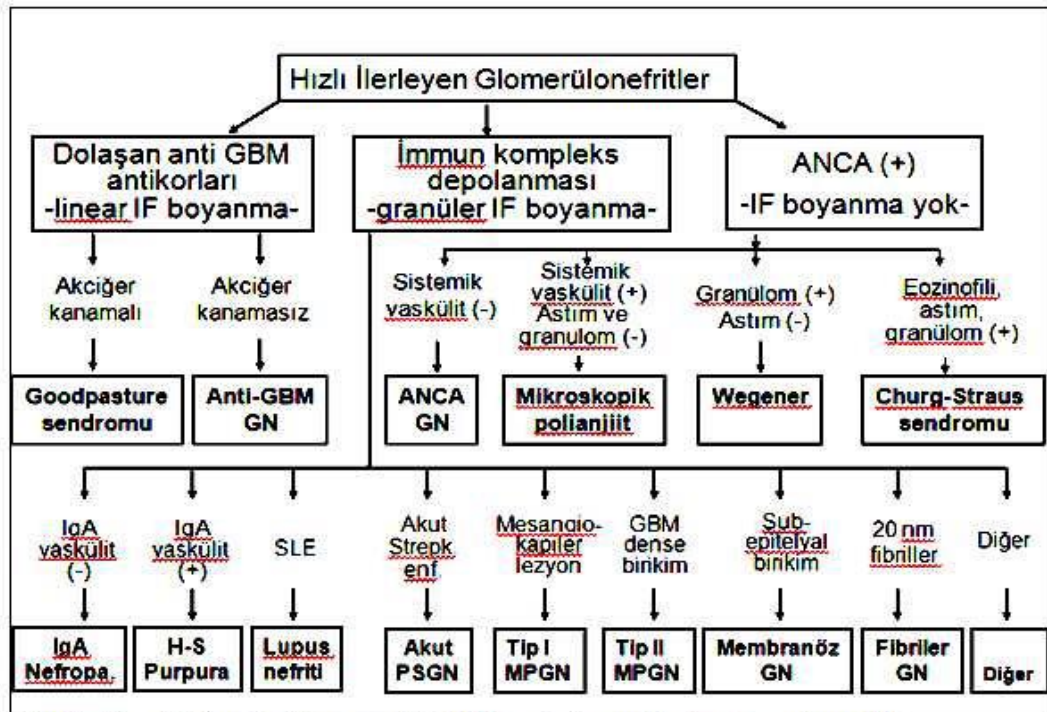
Hilal oluşumuna neden olan hücresel ve moleküler mekanizmalar tam olarak bilinmemektedir. Anti-GBM antikorlar, T hücreleri ve ANCA gibi immün komplekslerin de dahil olduğu çeşitli hastalıklarla ve patogenetik mekanizmalar kresent oluşumunu başlatabilir. Bütün bu mekanizmalar glomerüler damarlardan genişleme ile ilintili ve nihai ortak bir yol olarak damar zedelenmesine yol açar. Işık mikroskopik görünüm, kresentlerin biraz daha az yaygın olması dışında anti-GBM antikor hastalığından ayırt edilemez. İmmünflöresan incelemede ise glomerüllerde anlamlı bir immün depolanma saptanamaz. Primer olgular ile sistemik vaskülitin eşlik ettiği olguların histopatolojisi anlamlı olarak farklı değildir (25).

İmmün kompleks GN'inde genellikle kresent oluşumunda subendotelyal bölgede immün kompleksler var olduğunda normal dolaşımda humoral immünite ve hücre inflamatuvar aracı sistemleri tespit edilebilir. Örneğin, elektron mikroskobu kresent oluşmadan önce hafif glomerüler inflamasyonu olan hastalarda immün kompleksler mevcuttur (25).

Kresent oluşumunu başlatan en etkili görünen mekanizma Bowman kapsülünde glomerüler yaralanma sonrası plazma ve inflamatuvar mediatörlerin burada bulunması ve buradaki kılcık temel zarların rüptürüdür. Bowman kapsülüne bu akış sadece GBM lizis varlığında oluşabilir. Tip IV kollajen, laminin, fibronektin, proteoglikanlar ve GBM ile bir

araya gelir. Bowman kapsülünde bu proteinlerin parçalanması ve glomerüler inflamasyon gerçekleşmesi kresantik GN indüksiyonunda muhtemel önemli etkisi vardır. Nötrofil aktivasyonunun ve ANCA'nın direkt patogenetik rolü olabilir. Günümüzde geçerli hipoteze göre ANCA nötrofillerde prematüre degranülasyona yol açmakta ve salınan litik enzimler ve toksik oksijen metabolitleri endotelde nekrotizan inflamatuvar hasara neden olmaktadır. Ayrıca, nötrofil ve monositlerden salınan ANCA antijenleri endotel hücreleri içine girerek de hücre hasarına yol açabilmektedir (11). Hastaların çoğunda başlangıçta hematüri, proteinüri ve hipertansiyon ile birlikte hızlı bir böbrek fonksiyon kaybı gözlenirken, bazı hastalarda nisbeten benign bir idrar sedimenti ile birlikte daha yavaş seyir gözlenebilir. Başlangıçtaki serum kreatinin düzeyi renal prognozun en önemli belirleyicisi olmakla beraber, glomerüler filtrasyon hızı 10 ml/dk'nın altında olan hastaların yarısından fazlasında remisyon elde edildiğinden, agresif immünsüpresif tedaviden kaçınılmamalıdır.

Patogenezin saptanmasında, hem de hastalığın sınıflanmasında glomerüllerdeki antikorların immunofloresan ile boyanma paternleri önemlidir. Buna göre hızlı ilerleyen GN'ler 3 ana gruba ayrılır (Şekil 1) (3).



Kısaltmalar: IF: İmmüno Floresan; Anti-GBM: anti-glomerüler bazal membran; GN: glomerülonefrit; ANCA: anti-nötrofilik stoplazmik antikor; SLE: sistemik lupus eritematozis; H-S: Henoch-Schönlein; PSGN: poststreptokoksik glomerülonefrit; MPGN: membranoproliferatif glomerülonefrit

Şekil 1. Hızlı ilerleyen glomerülonefritlerde etiyopatogenetik faktörler ve bunlara örnek oluşturan klinik tablolar (3)

Kresentik glomerulonefritlerin patolojik bulguları Tablo VI’da özetlenmiştir.

Tablo VI. Kresentik glomerulonefrit tipleri, ışık ve immünfloresan mikroskopi bulguları (20).

Tip	Işık mikroskopi	İmmün floresan mikroskopi	Örnek hastalık
Tip I	Sıklıkla Bowman boşluğunda şiddetli kresentik proliferasyon ve kresentlere komşu glomerüler segmentlerde fibrinoid nekroz, Etkilenmemiş glomerüller normal görülür.	Glomerüler kapiller bazal membran boyunca lineer bir şekilde IgG birikimi	Anti-glomerüler bazal membran antikor hastalığı (Goodpasture sendromu)
Tip II	Diğer tiplere göre kresent oluşumu daha azdır ve etkilenmemiş glomerüllerde kapiller duvarda kalınlaşma ve endokapiller proliferasyon	Glomerüler bazal membran boyunca granüler tarzda immün kompleks birikimi	İmmün kompleks hastalığı (SLE, IgA nefropatisi veya membranoproliferatif GN gibi primer glomerüler hastalıkların zemininde gelişebilir)
Tip III	Kresentlerin biraz daha az yaygın olması dışında anti-GBM antikor hastalığından ayırt edilemez	Glomerüllerde anlamlı bir immün depolanma saptanamaz	Pauci-immün tip (genellikle ANCA pozitif, granülomatoz polianjiitis mikroskobik polianjiitis, ve eozinofilik granülomatozuslu polianjiitis)

2.2.5. Teşhis ve Tanı

Nefritik sendrom ve hızlı ilerleyen GN kresentik GN’in ana unsurlarıdır. Pauci-immün GN haricinde sistemik başka bulgu ve semptomlar bulunabilir. Pulmoner hemoraji ve anemi Good-Pasture’da yaygındır. Artralji, deri lekeleri, plörezi, perikardit ve daha nadiren serebrit lupus nefritis ile ilişkili olabilir. Purpura, artralji ve karında kolik ağrıları Henoch-Schonlein vaskülitini karakterize eder. Purpura, yorgunluk, eklem ağrısı, hepato-splenomegali ve periferik nöropati, nötralize kriyoglobulinemik nefritin sık bulgularıdır. Küçük damar vaskülitlerinde klinik tablo son derece değişkendir. Granülomatoz polianjiitis’de akciğer

kaviteleşme ve nodulleşmesi sıktır. Multiplex mononöritis, rinit, sinüzit, otitis media ve episklerit de sık görülür. Mikroskopik polianjitis'te pulmoner infiltrasyonlar, cilt ülserleri ve nodüller ve eklem ağrıları sıklıkla mevcuttur. Eozinofilik granülomatozuslu polianjitis astım, sinüzit, cilt ve akciğer tutulumu ve periferik nöropati ile karakterizedir. Kan testleri ile farklı hastalıkları ayırt etmek mümkün olur. Dolaşımdaki anti-GBM antikorları Goodpasture sendromunun tipik örnekleridir. Vakaların yaklaşık % 30'unda p-ANCA pozitifliği klinik başlangıçtan önce olabilir. Düşük C3 düzeyleri post-enfeksiyöz GN'te sık bulunmaktadır. Anti-nükleer antikorlar, anti-DNA antikorları ve düşük C3 ve C4 düzeyleri lupus nefritini karakterize eder. Dolaşımdaki kriyoglobülinler ve hipokomplementemi kriyoglobulinemik nefrit göstergeleridir. IgA yüksek seviyeleri Berger hastalığı bulunan veya Henoch-Schönlein purpuralı birçok hastada mevcuttur. ANCA test olguların %90'ında mevcut AAV'nin immünolojik işaretleyicisidir. Ancak; ANCA, lupus hastalarının yaklaşık %20'sinde ve Henoch-Schönlein purpurası ve kriyoglobulinemi ender vakalarda görülebilir (22-24). Renal biyopsi yardımcıdır. Ayrıca ışık mikroskopisi ile gruplar birbirinden ayrılabilir. İntrakapiller proliferasyon Tip II'de görülürken diğerlerinde görülmez. Fibrinoid nekroz lupus nefritinde ve AAV'de sıklıkla bulunur. Granülom granülomatoz polianjitis'te, eozinofil infiltrasyonu eozinofilik granülomatozuslu polianjitis'te görülür. Önemli bir nokta immünfloresanların görülmesidir. GBM'de lineer IgG GoodPasture hastalığı için tipik iken, Ig granüler depositleri ve kompleman sistemi Tip II kresentik GN ile karakteristiktir (3, 8-11) (Tablo VII).

Tablo VII. Hızlı İlerleyen GN'lerin Özellikleri (3).

Kriter	MPO-ANCA +, anti-GBM -	PR3-ANCA +, anti-GBM -	ANCA +, anti-GBM +	ANCA -, anti-GBM +
>50% Kresent	44	38	62	93
Ortalama % Kresent (a)	48±29	46±30	67±32	84±21
Glomeruler Nekroz (b)	1.2+	1.8+	2.1+	2.1+
Glomeruler Skleroz (b)	1.7+	1.3+	1.2+	1.1+
Yaş	62±15	54±18	68±13	41±21
Erkek: Dişi	1.0:0.9	1.0:0.7	1.0:1.1	1.0:0.9
Kreatinin	6.9±7.7	5.6±4.6	9.6±5.3	10.0±9.1
Anti-GBM titresi	<20	<20	350.5	579.7
ANCA titresi	86.0±22	92.9±39	72.3±25	<20

a : Ortalama kresent oranı

b : Ortalama Skorlar 0: Yok 4+:Ciddi

2.2.6. Tedavi

Ana eğilim kortikosteroidlerle sitotoksik ilaçların kombine edilmesi ile aktif inflamasyonu, hücresel cevap ve antikor oluşumunu azaltmaktır. Tedavi genelde intravenöz metilprednizolon verilmesini takiben (üç gün süreyle 7 mg/kg/gün dozunda intravenöz metilprednizolon uygulanır), oral olarak 1 mg/kg/gün dozunda devam edilir ve sonrasında doz azaltılır. Prednizon ilk ay 1 mg/kg/gün dozunda verildikten sonra doz azaltılarak gūnaşırı uygulamaya geçilir ve üç-dört aydan sonra kesilebilir veya gūnaşırı idame dozunda daha uzun süre verilebilir. Siklofosfamid için tedavi protokolü intravenöz siklofosfamid'in 0,5-1 mg/m² ve oral olarak 2-3 mg/kg/gün devam etmesi şeklindedir. Siklofosfamid oral olarak 2 mg/kg/gün, intravenöz olarak ise ayda bir 0,5-1,0 gr/m² dozunda uygulanır. Alternatif olarak, indüksiyon tedavisi aylık pulse siklofosfamid ve oral prednizon kombinasyonu ile de yapılabilir. Siklofosfamid tedavisinin optimal süresi belli değildir (3-9).

Siklofosfamid tedavisinde özellikle genç olmayanlarda 6-12 ay süreyle kullanılabilirse de, önerilen üçüncü aydan sonra 2 mg/kg/gün dozunda oral azathioprine geçilip, tedaviye 12-18 ay devam edilmesidir. İdame tedavide kullanılabilecek ajanlardan birisi de mikofenolat mofetil'dir (MMF) (1,5-3,0 gr/gün) (3-9). Bir çalışmada farklı tanıları olan hastaların oluşturduğu grupların olduğu ve ilk altı ay steroidle kombine olarak 2 gr/gün sonrasında 18 ay süreyle 1,5 gr/gün MMF uygulanan ve iki yıl boyunca takip edilen hastalarda kresentik GN tanılı dört hastada istatistiksel olarak anlamlı olarak kreatinin değerinde düşme izlenmiş. Mikofenolat mofetil'in endotelial ve mezengial hücreler üzerine antiproliferatif etkilerinin olduğu ve kresentik GN'li hastalar ile ilgili sonuçların tedavi açısından umut verici olduğu değerlendirilmiş (26). Mikofenolat mofetil (1,5-2 gr/gün) ile siklofosfamid (0,75-1 gr/m² iv pulse/ay) tedavisinin karşılaştırıldığı Çin'de yapılan kontrollü bir çalışmada iki grup arasında hastalık aktivitesi, remisyon oranı, renal fonksiyon ve yan etkiler karşılaştırılmış. Çalışma sonucunda geniş ölçekli çok merkezli prospektif randomize çalışmalara ihtiyaç olmakla birlikte MMF'in hastalık aktivitesini etkili şekilde iyileştirdiği ve renal fonksiyonu oldukça geliştirdiği belirlenmiş (27).

Plazmaferez dolaşımdaki Ab'lerin ve immün komplekslerin uzaklaştırılması için kullanılabilir. Böbreğe sınırlı ve hafif-orta düzeyde böbrek yetmezlikli olgulara plazmaferez önerilmez. Ancak, diyaliz gerektiren ileri böbrek yetmezliği olan hastalarda plazmaferez yararlı olabilir (22-24). Böbrek hastalığından bağımsız olarak pulmoner hemorajili tüm hastalara, renal replasman tedavisi gerektirmeyen ancak böbrek tutulumu olan tüm hastalara

ve hemoptizisi olmayan ancak ANCA pozitif olan diyalize giren seçilmiş hastalara plazmaferez tedavisi önerilmektedir (28). Hemoptizi yokluğunda yüksek kresent oranlı diyalize giren hastalarda plazmaferez veya immünosüpresyonun riskleri, faydalarından fazla olabilir. Fakat akut teşhis edilen hastalarda iki-üç haftalık kısa süreli deneme tedavisi düşünülebilir. Bu hastalarda renal iyileşme ihtimalinin % 10'nun altında olmaktadır. Klinik durum ve anti-GBM antikoru titreleri seri olarak ölçülerek tedavi devamı kararı verilir. Üç haftanın sonunda hastada hala hemoptizi varsa veya anti-GBM antikorları titresi yüksekse hemoptizi kayboluncaya veya titre anlamlı olarak düşünceye veya negatifleşinceye kadar plazmafereze devam edilir. Plazmaferez tedavisi sırasında enfeksiyon gelişen hastalara intravenöz immünoglobulin (IVIG) (100-400 mg/kg) infüzyonun antibiyoterapiye ek olarak verilmesi uygun olacaktır (29).

GoodPasture hastalığında tedaviye erken başlanırsa kortikosteroidler ve siklofosfamid ile tedaviye yanıt verebilir. Masif alveolar hemorajisi olan hastalarda plazma değişimi gereklidir. Buna rağmen prognoz tedavi haricinde oluşmuş kresent oranına ve serum kreatinin düzeyine bağlıdır. GoodPasture hastalığında tedavi 3 ayda dolaşan Ab'lerin kaybolması ile tamamlanır ve geç rekürrens nadir olup tedaviye iyi cevap verir. Bir çalışmada, Goodpasture sendromlu dokuz hastaya sadece immünosupresyon, sekiz hastaya ise immünosupresyon ile birlikte plazmaferez tedavisi uygulanmıştır. Çalışmada plazmaferez grubunda hem anti GBM antikoru titreleri hem de serum kreatininini, sadece immünosupressif alan gruba göre daha hızlı regrese olmuştur. Ancak başlangıçtaki renal biyopsideki kresent oranı ve bazal serum kreatinin düzeyi sonuçlarla tedavi modalitelerinden daha iyi korelasyon göstermiştir. Sonuç olarak; %30'dan daha düşük kresenti olanlar daha yüksek oranda kresenti olanlara göre, renal fonksiyonları daha iyi korumuşlardır (30).

Tip II kresentik GN'te yüksek doz kortikosteroidler ve siklofosfamid tedavisine yanıt verir. Dirençli olgularda plazma değişimi IgA nefriti veya kriyoglobülinemik nefritlilerde yararlı olurken; kortikosteroidler ve siklofosfamid tedavisi alan lupus nefritli hastalarda tedaviye katkısı çok yoktur. Rituksimab lupus kresentik GN'li veya kriyoglobülinemik nefritli hastalarda kurtarma tedavisi olarak kullanılabilir. Buna rağmen ciddi böbrek fonksiyon kaybı olan son dönem böbrek yetmezlikli hastalarda Rituksimabın progresyonu geri döndüremediği gösterilmiştir (31). RITUXVAS çalışmasında rituksimab (375 mg/m²/hafta x 4), siklofosfamid (15 mg/kg 2 hafta ara ile) ve kortikosteroidle (1000 mg x3) kombine edilerek uygulanmış ve %76 oranında remisyon görülmüştür. Buna karşılık

siklofosfamid (15 mg/kg/2 hafta x 3, sonra 3 haftada bir toplam 10 kez) kortikosteroidle (1000 mg x 3) kombinasyonunda %82 remisyon bulunmuştur ve yan etki oranları benzerdir (32).

Kreatinin 4'ün üzerinde ve diffuz alveoler hemorajisi olanlar dahil edilmediği RAVE çalışmasında ise rituksimab (375 mg/m² /hafta x 4), kortikosteroid (1000 mg x 3) ve siklofosfamid (2 mg/kg po, 1-3. ay) tedavisi ile azatiyoprin (2 mg/kg po, 4-6. ay) ve kombine kortikosteroid (1000 mg x 3, idameli azaltma) tedavisi uygulanmış remisyon ve yan etki oranları benzer bulunmuştur (33).

ANCA-ilişkili vaskülit ve hızlı ilerleyen ekstrakapiller GN bulunan hastalarda yüksek doz kortikosteroid ve siklofosfamid ile erken agresif tedavi zorunludur. Akciğer kanaması olan ve şiddetli ANCA-ilişkili böbrek vaskülit olan hastalarda plazma değişimi önerilmektedir. Yüksek doz kortikosteroid, intravenöz siklofosfamid ve plazma değişimi birleşimine dayalı bir tedavi protokolü ile, diyaliz bağımlı ANCA ilişkili vaskülit olan 41 hastanın % 65'inin bir yıl sonra diyalizsiz böbrek fonksiyonu sağkalımı sağlandığı belirtilmiştir. Fakat akciğer ve üst solunum yolu olmak üzere sistemik tutulumlu olgularda ve PR3-ANCA pozitif olanlarda relaps riski nisbeten yüksektir (16-19, 22). KDIGO kılavuzuna göre idame tedavide azatiyopurin (1-2 mg/kg/gün) oral tedavide önerilmektedir. Azatiyopurin tedavisini tolere edemeyen ya da alerjik hastalarda idame tedavide MMF 1 gr günde iki kez tavsiye edilmektedir. Üst solunum yolu enfeksiyonu durumunda idame tedaviye trimetoprim-sulfometoksazol eklenebilir. Azatiyopurin ve MMF'e intoleran hastalarda GFR<60 ml/dk/1.73 m² değil ise idame tedavide metotreksat (başlangıçta 0.3 mg/kg/hafta; maksimum 25 mg/hafta) tavsiye edilmektedir. Birleşik tedavi olarak etanercept önerilmemektedir (Tablo VIII) (24).

Tablo VIII. Glomerulonefrit eşlik eden ANCA vaskülitte önerilen tedavi rejimleri (24).

Ajan	Uygulama Yolu	Toplam Doz
Siklofosfamid	intravenöz	0,75 mg/m ² 3-4 hafta
		Son doz 0,5 mg/m ² doza inilmeli (60 yaş üstü ve GFR<20 ml/dk- 1,73 m ² için)
		Eğer Lökosit sayısı > 3000/mm ³ ise doz 2 haftada bir ayarlanmalıdır.
Siklofosfamid	peroral	1,5-2 mg/kg/gün (60 yaş üstü ve GFR<20 ml/dk- 1,73 m ² için dozu azaltılmalı)
		Lökosit sayısı > 3000/mm ³ olacak şekilde doz ayarlanmalıdır.
Kortikosteroidler	intravenöz	Puls olarak metilprednizolon: 500 mg x 3 gün
Kortikosteroidler	peroral	Prednizon: 1 mg/kg/gün 4 haftalık, günlük 60 mg 1 geçmeyecek şekilde (60 yaş

		üstü ve GFR<20 ml/dk- 1,73 m2 için dozu azaltılmalı)
		3-4 ayda azaltarak kesilmeli
Rituksimab	intravenöz	375 mg/m2 haftalık x 4
Plazmaferez		60 ml/kg hacim değişimi
		Vaskülit: Eğer diffüz pulmoner hemoraji varsa 14 günde 7 kez olacak şekilde uygulanmalıdır.
		Kanama durduktan sonra gün aşırı 7-10 kez
		Anti-GBM antikorlarına eşlik eden vaskülitte karakterize: 14 gün için, günde 1 defa veya anti-GBM antikorların tanımlanamayacağı zamana kadar

2.2.7. Prognoz

Son birkaç yıla kadar kresentik GN'in prognozu orijinal hastalıktan bağımsız olarak kaygı verici bir durumda iken tedavi perspektifinin gelişmesi ile daha iyi bir durum kazanmıştır. Prognoz şu anda temel olarak serum kreatinin düzeyine dayanmaktadır. 71 hastanın dahil edildiği bir seride anti-GBM kresentik GN'de kreatinin seviyesi 5,7 mg/dl'nin altında olan hasta grubunda plazma değişimi ve agresif immünsüpresif tedavi uygulandığında; bir yıl içinde hastalar % 100 oranında, böbrekler % 95 oranında normale dönmüşlerdir. 5,7 mg/dl'nin üzerinde ama diyaliz ihtiyacı olmayanlarda ise bu oran hasta için % 83; böbrek için % 82'e gerilemiştir. Acil diyaliz ihtiyacı olan hastalarda ise bu oran hastalar % 65 oranında böbrekler % 3 oranında normale dönmüşlerdir. Acil diyaliz ihtiyacı olan ve böbreklerde % 100 kresent oluşumu bulunan hastalar diyalize bağımlı hale gelmişlerdir (8, 9).

Prognozda belirleyici olabilen faktörler yakınmaların başlamasından tanı anına kadar geçen süre, oligo-anüri varlığı, başvuru anında serum kreatinin düzeyinin 5.65 mg/dl'nin üzerinde olması, başvuru sırasında hemodiyaliz ihtiyacı, glomeruler kresent oranının % 80'in üzerinde olması, fibrinoid nekroz varlığı, GBM'da anti-GBM antikorları, tübüler atrofi, interstisyel fibrozis'dir (3, 6).

Tip II kresentik GN'i olanlarda ise yüksek kreatinin düzeyleri kötü prognoz için bir göstergedir. Ayrıca oligo-anürik olan hastalarda kısmi olarak böbrek fonksiyonunun geri döndüğü rapor edilmiştir (18).

Bazı çalışmalarda yaş ve pulmoner kanama ölüm riskine sebep olurken; çok değişkenli analizlerde ayrıca küçük çaplı damar vaskülitlerinde de serum kreatinin düzeyinin tek başına bağımsız bir böbrek sağkalımı parametresi olduğu ortaya konmuştur (16).

Avrupa’da yapılan bir sağkalım çalışmasında, beklenen glomerüler filtrasyon hızı (GFH) 15 ml/dk’nın altında olması, ilerleyen yaş, Birmingham Vaskülit Etkinlik Skorunun yüksek olması, düşük hemoglobin ve yüksek beyaz küre sayısı uzun vade de hasta hayatta kalmak için önemli negatif prognostik faktörler olarak belirlenmiştir. Diğer taraftan, tedavi her zaman etkisiz olduğu mutlak bir serum kreatinin seviye bulunmadığı da vurgulanmıştır (16, 22).

Ayrıca serum kreatinin düzeyinin yanısıra böbrek biyopsisi de prognoza işaret edebilir. Glomerüllerin % 80’inden fazla kresent oluşumu genellikle Tip II kresentik GN’in kötü prognozu ile ilişkilidir (8, 9).

Anti nötrofilik sitoplazmik antikor ilişkili vaskülit’li hastalardan alınan 100 böbrek biyopsisi üzerine bir validasyon çalışması beş yıllık olgularda normal glomerülün % 50’den fazla olduğu hastalarda % 93 oranında böbrek sağkalımı olduğu bildirilirken; % 50’den fazla glomerüler skleroz bulunan hastalarda % 50 sağkalım; % 50’den fazla glomerüler kresent varsa % 76 sağkalım rapor edilmiştir.

ANCA’sı çift pozitif olan hastalar ve anti-GBM antikorları olan hastalar renal bulgular klinik ve histolojik anti-GBM hastalarında görülenlere benzerken; vaskülit olan hastalara benzer şekilde ekstrarenal belirtileri taşımaktadırlar. Bu hastaların tedaviye karşın böbrek prognozu kötüdür (16, 18, 19).

Prolifere makrofaj hücreleri ve parietal epitel hücreleri kresent oluşumuna katkıda bulunan ana hücrelerdir. Selüler kresentlerde makrofaj hücreleri baskın olarak bulunur ve fibrozise ilerlemeye yatkınlık sağlarlar. Bu nedenle makrofajlar kresent oluşumu ve fibrozise ilerlemede önemli bir rol oynayabilir. İnflamasyon düzeyinin belirlenmesi uygulanacak tedavinin yoğunluğu konusunda yol göstericidir (7, 11, 19). Kresentik GN’de tübüler atrofi, interstiyel fibrosis, kresent yüzdesi, sklerotik glomerül yüzdesi, damar vaskülit varlığı, kresentlerin fibröz olması, ileri yaş, yüksek kreatinin değerleri kötü prognostik faktörler olarak tanımlanmıştır. Normal glomerül oranı ve kresentlerin selüler olması iyi prognozu göstermektedir (17, 18).

2.3. Kronik Böbrek Hastalığı

Kronik böbrek hastalığı, glomerüler filtrasyon değerinde azalmanın sonucu böbreğin sıvı-solüt dengesini ayarlama ve metabolik-endokrin fonksiyonlarında kronik ve ilerleyici bozulma hali olarak tanımlanabilir. Üremi; kronik böbrek hastalığının neden olduğu tüm klinik ve biyokimyasal anormallikleri içeren bir deyimdir ve birçok kaynakta kronik böbrek hastalığı ile eş anlamda kullanılmaktadır (21, 34).

Ulusal Böbrek Vakfı (The National Kidney Foundation [NKF]) – Böbrek Hastalığı Sonuçlarının Kalite Önceliği (Kidney Disease Outcomes Quality Initiative [KDOQI]) çalışma grubu tarafından 2002 yılında yayımlanan kılavuzda böbrek hasarının başlangıcından itibaren tüm hastalık spektrumunu tanımlamak ve terminoloji birliğinin sağlanması için kronik böbrek yetmezliği yerine kronik böbrek hastalığı ifadesi önerilmiştir (35).

Ulusal Böbrek Vakfı – Böbrek Hastalığı Sonuçlarının Kalite Önceliği 2002 yılındaki kılavuzunda KBH GFH düzeyine göre beş evreye ayrılmıştır. Bu beş evre 2008 yılında Birleşik Krallık Ulusal Sağlık ve Klinik Mükemmellik Enstitüsü (The U.K. National Institute of Health and Clinical Excellence [NICE]) tarafından modifiye edilmiş ve Evre 3 KBH 3A ve 3B olarak ikiye ayrılmıştır (Tablo IX) (36).

Tablo IX. Kronik böbrek hastalığı evreleri (36).

Evre	Glomeruler Filtrasyon Hızı (GFR) (ml/dk/1,73 m²)	Tanım
1	≥ 90	Normal veya artmış GFH, böbrek hasarının diğer kanıtları ile beraber
2	60 - 89	GFH’da hafif düşme, böbrek hasarının diğer kanıtları ile beraber
3A	45 - 59	GFH’da orta derecede düşme
3B	30 - 44	
4	15 - 29	GFH’da ağır derecede düşme
5	< 15	Son dönem böbrek yetmezliği

Glomerüler filtrasyon hızı 10 ml/dk ve altına düşen son dönem böbrek yetmezliği evresindeki olgularda gelişen pek çok belirti ve bulgu birlikteliği üremi olarak tanımlanır. Üremi varlığında ön plandaki gelişmeler iştahsızlık, bulantı, kusma, halsizlik, kilo kaybı, bilinç düzeyindeki değişiklikler, kaşıntı, nefes darlığı, bacaklarda huzursuzluk hissi, perikardit, kanama gibi çeşitli doku ve organ sisteminin üremik havuzdan etkilenmeleri sonucu ortaya çıkan belirtilerdir. Bu belirtilerin gelişmesiyle plazma üre ve kreatinin düzeyleri arasında direkt bir korelasyon yoktur (21, 34).

2.3.1. Kronik Böbrek Hastalığının Klinik Özellikleri

Kronik böbrek hastalığının klinik belirtileri aşağıda bildirilmiştir (21, 34).

1- Sıvı-Elektrolit Bozuklukları: Hipovolemi, hipervolemi, hipernatremi, hiponatremi, hipokalsemi, hiperpotasemi, hipopotasemi, hiperfosfatemi, metabolik asidoz, hipermagnezemi.

2- Sinir Sistemi: Koma, konuşma bozuklukları, demans, konvülsiyon, polinöropati, baş ağrısı, sersemlik, kramp, konsantrasyon bozuklukları, yorgunluk, tik, tremor, ter fonksiyonlarında bozulma, ruhsal bozukluklar.

3- Gastrointestinal Sistem: Hıçkık, parotit, gastrit, iştahsızlık, stomatit, pankreatit, ülser, bulantı, kusma, gastrointestinal kanama, kronik hepatit, özafajit.

4- Hematoloji-immünoloji: Normokrom normositer anemi, lenfopeni, infeksiyonlara yatkınlık, immün hastalıkların yatışması, kanser, mikrositik anemi .

5- Kardiyovasküler Sistem: Perikardit, ödem, hipertansiyon, kardiyomyopati, aritmi, kapak hastalığı.

6- Pulmoner Sistem: Üremik akciğer, pulmoner ödem.

7- Cilt: Kaşıntı, gecikmiş yara iyileşmesi, solukluk, tırnak atrofi, hiperpigmentasyon, üremik döküntü, ülser, nekroz.

8- Metabolik-Endokrin Sistem: Hiperlipidemi, hiperparatiroidi, büyüme geriliği, libido azalması.

9- Kemik: Üremik kemik hastalığı, hiperparatiroidi, amiloidoz, D vitamini metabolizması bozuklukları, artrit.

10- Diğer: Susuzluk, kilo kaybı, hipotermi, üremik ağız kokusu, miyopati.

2.3.2 Kronik Böbrek Hastalığı Epidemiyolojisi

Ülkemizde 2006-2008 yılları arasında yapılan “Türkiye Kronik Böbrek Hastalığı Prevalansı Araştırması” (Chronic Renal Disease In Turkey - CREDIT) ülkemizde yapılan ilk prevalans çalışmasıdır. Bu araştırmaya göre ülkemizdeki genel popülasyondaki KBH oranı %15,7’dir. Evrelere göre dağılımı ise Evre 1 – 4 arası sırasıyla

% 5,4, % 5,2, %4,7, %0,3 iken SDBY oranı, %0,2'dir. Glomerüler filtrasyon hızı < 60 ml/dk/1,73 m2 olan (Düşük GFH) hasta oranı % 5,2'dir.

Türk Nefroloji Derneği Türkiye 2013 yılı Ulusal Hemodiyaliz, Transplantasyon ve Nefroloji Kayıt Sistemi Raporu'na göre Türkiye'de Son dönem böbrek yetmezliği etiyojisinde diabetes mellitus en sık rastlanan nedendir (Tablo X).

Tablo X. 2013 yıl sonu itibarıyla kronik HD programında izlemde olan hastaların etiyojik nedenlere göre dağılımı (37).

ETİYOLOJİ	Yüzde (%)
Diabetes Mellitus (DM)	%33,83
Tip 1 DM	%4,51
Tip 2 DM	%29,32
Hipertansiyon*	%28,47
Glomerulonefrit	%7,37
Polikistik Böbrek Hastalığı	%4,41
Amiloidoz	%1,91
Tubulointestisyel Nefrit	%1,58
Renal Vasküler Hastalık	%0,92
Diğer	%7,39
Etiyoloji Bilinmiyor	%14,12
TOPLAM	%100,00

* Hipertansiyonun primer değil, kronik böbrek yetmezliğine bağlı oluşan sekonder hipertansiyon olduğuna dair kuvvetli şüpheler vardır.

2.3.3. Kronik Böbrek Hastalığında Hasta Yaşamı ve Mortaliteyi Etkileyen Faktörler

Hemodiyaliz tedavisi ile hasta yaşam hızı altta yatan hastalık, hasta yaşı, merkeze ve ülkeye göre değişkenlik göstermektedir; bir yıllık yaşam hızı %80-90, Beş yıllık yaşam hızı % 60-75 ve sekiz yıllık yaşam hızı %50-70 arasında değişmektedir (38, 39).

Son dönem böbrek yetmezliği olan hastalarda yaşam süresi birçok kanserden daha düşüktür. Mortaliteyi etkileyen başlıca faktörler; hastanın yaşı (yaş arttıkça prognoz kötüleşmektedir), kalp ve damar hastalığı varlığı, diabetes mellitus varlığı, hastalığın akut bir başlangıç göstermesi, yetersiz diyaliz ve altta yatan böbrek hastalığıdır. Amiloidoz

hastanın yaşamını olumsuz etkilerken, GN olumlu etkileyebilir. Bu hastalarda en sık ölüm nedeni kardiyovasküler nedenlerdir (38, 39).

Böbrek yetmezliği belirlenen bir olguda anamnez, muayene, biyokimyasal, radyolojik ve immunolojik inceleme yöntemleriyle olayın akut veya kronikliği yanında, hangi nedenle ortaya çıktığı araştırması da yapılır. Günlük uygulamalarda GFH ve serum kreatinin değerleriyle hastalığın progresyonu izlenir (38, 39).

2.3.4. Kronik Böbrek Hastalığının Doğal Seyri

Böbrekte hastalığa, hasarlanmaya neden olan ilk olay asemptomatik hematüri ve/veya proteinüriden diyaliz gerektirecek düzeyde böbrek yetmezliğine kadar değişebilen farklı klinik tablolarla karşımıza çıkabilir. İlk olayı takiben olguların bir kısmı minimal bir hasarla tam iyileşme gösterirken bir kısmında hastalık ve hasarlanma sessiz ve ataklar halinde devam eder. Bazı olgularda ise eğer hasar kritik düzeyde nefron kaybına neden olmuşsa hastalık etkeni tamamen ortadan kaldırılmış olsa bile nefron kaybıyla karakterize patolojik süreç varlığını sürdürür (21).

2.4. Ki-67

Ki-67 MKI67 geni tarafından kodlanmış bir proteindir. Sadece proliferen olan hücrelerde bulunan nükleer antijene karşı geliştirilmiş monoklonal bir antikordur. İnterfaz safhasında hücre çekirdeği içinde saptanabilir. Hücre bölünmesinin tüm safhalarında (G₁, S, G₂ ve mitoz) saptanırken dinlenim (G₀) durumunda iken saptanamaz (34). İlk olarak Kiel (Almanya) şehrinde yapılan bir çalışmada tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan kültür örnekleri içinden 67. örnekte tespit edilen bu proteine şehrin adı ve tespit edildiği örnek numarasının adı verilmiştir. Ki-67'nin iki izoform proteini bulunur ve bu iki izoform protein de dahil olmak üzere en az altı farklı mRNA dizilimi olduğu kabul edilir. cDNA'ların her iki izoformunun da merkez parçası 6845 baz çiftinden oluşan ekzon 13 tarafından kodlanır ve zincir şeklinde 16 tekrardan oluşur. Bu tekrarlara “Ki-67 tekrarları” denir. Bu tekrarlarda 66 baz çifti yüksek oranda korunur bunlara “Ki-67 motifi” denir ve bu motifler antikorun bağlandığı epitoplara kodlar. MacCallum ve ark. ise Ki-67 ve diğer çekirdek proteinlerinin hücre döngüsü sırasındaki dağılımlarını incelemişler ve Ki-67'nin hücrenin metabolik ihtiyaçlarının arttığı hücre bölünmesi sırasında, ribozom biyogenezinde verimliliği arttıran faktör olarak etki ediyor olabileceğini iddia etmişlerdir (40).

Gerdes ve ark. yaptıkları çalışmada Ki-67 proteininin sadece çoğalan hücrelerin çekirdeklerinde bulunan bir antijene bağlandığını ve dinlenme fazında (G0) olan hücrelerde bu antijenin bulunmadığını rapor etmişlerdir. Ki-67 hücre proliferasyonunun mükemmel bir belirteci olarak kabul edilmektedir ve onkolojik hastalıkların aktivitesinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Özellikle de prostat kanseri beyin tümörü, meme kanseri ve nefroblastoma ile ilişkilendirilmiştir (41-43). Ribozomal RNA transkripsiyonu ile ilişkili olarak görev yapar. Bu antijenin inaktivasyonu Ribozomal RNA sentezinin inhibe olmasına neden olur. Neoplastik olmayan patolojilerde Ki-67 oluşumu sınırlıdır. Ki-67'nin SLE'li hastalarda ikincil olarak gelişen kresentik GN'de proliferasyon belirteci olarak kullanılabileceği bir çalışmada gösterilmiştir (41-43).

2.5. CD-68 (Cluster of Differentiation-68)

CD-68 düşük dansiteli lipoproteine bağlanan glikoprotein olup monosit ve makrofajların sitoplazmasında bulunur. CD-68 dokularda yerleşim gösteren makrofajların belirlenmesinde kullanılan bir belirteçtir. Bir çalışmada IgA'ya ve poststreptokoksik GN'e bağlı kresentik GN'lerin akut döneminde CD-68 (+) makrofaj hücrelerin kresent yapısında anlamlı arttığı tespit edilmiştir (44, 45). Başka bir çalışmada kresentik GN'li hastalarda kemokin ekspresyonunun CD-68 (+) immünohistokimyasal boyanma ile korele olduğu ve kemokin ekspresyonunun olduğu hücrelerde inflamatuvar sürecin daha ciddi seyrettiği, ve bu durumun kötü prognoz ile birlikteliği gösterilmiştir. Diffüz proliferatif lupus glomerulonefritli hastalarda prognostik faktörlerin değerlendirildiği bir çalışmada intraglomeruler monosit infiltrasyonunun koruyucu etkisinin olduğu ve hastalık aktivite indeksinin hastalık prognozu ile kuvvetli ilişkili olduğu gösterilmiştir (46, 47).

CD-68 yüksek insan monositleri ve doku makrofajları ile ifade fonksiyonu bilinmeyen bir 110-kd transmembran glikoproteindir. CD-68 transkripti ile KG1, CEM ve K562 dahil olmak üzere birçok hematopoietik hücre gruplarında, çok düşük seviyelerde mevcuttur. Hücre dışı bir alanı uzun bir prolin aa ile ayrılmış iki ayrı bölgelerden oluşur: kısa peptid tekrarlarını ihtiva eden ve % 54 serin ve threonin aa'lerinden oluşur. CD-68 lökosit / CD-43, kök hücre antijenini CD-34 dahil olmak üzere hematopoetik münasib benzeri moleküller, büyüyen bir ailesinin bir üyesidir ve L-selektin GlyCAM-1 lenf nodu yüksek endotelial ligandır (44-47).

2.6. Bcl-2 (B cell lymphoma 2)

Hücre apoptotik yolağında bulunan ve hem apoptotik hem de anti-apoptotik üyelere sahip olan temel bir mediatör ailesidir. Bcl-2 proteini mitokondrinin hem iç hem de dış membranında lokalize olduğu gibi endoplazmik retikulum nükleus membranı periferinde ve sitoplazmada az miktarda bulunabilir (48). Bcl-2 proteinleri mitokondri dış membranına bağlanırlar ve mitokondriden sitokrom c'nin serbestleşmesini önleyerek apoptozu engellerler. Bir çalışmada lupus nefritli hastalarda ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) yöntemiyle serum Bcl-2 seviyesi değerlendirilmiş ve normal olan kontrol gruba göre istatistiksel olarak anlamlı serum Bcl-2 seviyeleri tespit edilmiş. Aynı çalışmada lupus nefritli hastalarda serum Bcl-2 seviyesinin hastalık kronisite indeksi ile korele olduğu gösterilmiş ve bu bulgular ışığında Bcl-2'nin lupus nefritli hastalarda glomeruler hasarda muhtemel rolü olduğu değerlendirilmiştir (49).

Bcl-2 protein farklı aile üyeleri apoptoz pozitif veya negatif modulatorleri ya da hareket ile hücre ölümü ve hücre çoğalması arasındaki dengeyi, bakımı için gerekli olan ilgili protein ailesini oluştururlar. Bu protein yapısal Bcl-2 homoloji varlığına dayanarak, üç ayrı grup halinde bölünmektedir (48, 49).

- 1: Proapoptotik BH3-tek alt grup; Bad, Bik, Bid, Bim, HRK, BMF, noxa, Puma, bNIP3
- 2: Proapoptotik 'efektörler'; Bak, Bok ve Bax
- 3: Antiapoptotik alt grubu; Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w Mcl-1 ve Bcl2-A1.

BH aracılığıyla apoptotik ve anti-apoptotik üyeleri arasında bağlanan hücreler ölümü veya hayatta kalmasını belirler. BH3-tek alt grup bireyi, hücre hasara yanıt olarak apoptosise başlatır. Bu aynı sinyallere yanıt olarak mitokondriyal lümende depolanır (örneğin sitokrom C gibi). Etkenleri apoptogenik mitokondriyal membran geçirgenliğini artırmak için hareket eden BH1-3 (Bax ve Bak) mitokondriyal membran üzerinde oligomerize içeren proapoptotik alt grubudur. Serbest bırakıldığında, bu faktörlerin hücre öldürme kaspazları etkinleştirir (48, 49).

Antiapoptotik Bcl-2 proteinlerinin aşırı tanımlanması, anormal ve disregüle hücre çoğalmasına yol açan normal apoptotik yolu inhibe edildiği, birçok kanser ile ilişkilidir. Hayatta kalma Bcl-2 ailesi proteinleri dolayısıyla izlenebilir ilacın yeni anti-kanser terapisi için hedef gelişimi, hem de immünoterapiler bulunmaktadır. Antiapoptotik Bcl-2 protein küçük molekül antagonistlerinin düzenleyebildiği proapoptotik Bcl-2 protein aktivitesini tümör hücrelerinde normal apoptotik sinyali beklenir (48, 49).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamızda hızlı ilerleyen (kresantik) GN hastalarının renal biyopsi örneklerinde proliferasyon indeksi olarak kullanılan Ki-67 monoklonal antikorun, apoptotik aktiviteyi belirleyen Bcl-2'nin ve makrofaj hücre belirleyicisi olan CD-68'in immünohistokimyasal boyaması kullanılarak hücresel proliferasyonun, apoptozisinin değerlendirilmesi ve bu boyanma özelliklerinin hastalık prognozu ile ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Ek olarak hasta dosyalarının retrospektif olarak incelenerek hastaların üre-kreatinin düzeylerinin progresyonu, hastalık progresyon hızı, diyaliz tedavisine başlanıp başlanılmadığının, morbidite ve mortalite gibi benzeri bulguların değerlendirilerek, başlangıç biyopsilerindeki Ki-67, CD-68, ve Bcl-2 immünohistokimyasal boyanma özellikleri ile ilişkinin belirlenmesi planlanmıştır.

3.1. Hasta Seçimi

Çalışmaya 18 yaşından büyük, 2008 yılından itibaren kayıtlarına ulaşılabilen Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Nefroloji Polikliniğinde takip edilen böbrek biyopsi örneklerinde kresant saptanan hastalar dahil edildi. Klinikte takip edilmekte olan hastaların rutin tıbbi değerlendirme ve izlem amaçlı yapılmış temel laboratuvar incelemeleri hasta dosyasından temin edilerek hasta formuna kayıt edildi. Araştırma nedeniyle ek tahlil istenmedi. Çalışmamızda daha önce böbrek biyopsisi yapılmış ve biyopsi örneklerinde kresant saptanan hastalar retrospektif olarak taranarak tespit edildi.

3.2. Patolojik blokların hazırlanması ve değerlendirilmesi

Hastaların böbrek biyopsisi parafin bloklarda Ki-67, CD-68 ve Bcl-2 immünohistokimyasal boyanmaları ve değerlendirmesi yapıldı. Olgulara ait patoloji blok ve preparatları arşivden çıkarıldı. Patolojik incelemede; %10'luk nötral tamponlu formalinde tespit edilerek, rutin doku takibi sonrası parafin bloklara gömülü bloklardan hazırlanan 4µm kalınlığında ve hematoksilin eozin boyalı preparatlar tekrar incelendi. İmmünohistokimyasal boyama DAKO Autostainer Universal Staining System (Autostainer Link 48 DAKO, Glostrup, Denmark) kullanılarak yapıldı. İlk önce 4µm kalınlığındaki kesitler pozitif yüklü lamlara alındı. Daha sonra ksilol ile deparafinize edilen kesitler etil alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi. Sonrasında 96°C'de (10 mM/L citrate buffer, pH 6) 40 dakika termostatik banyoda (PT Link) antijen retrieval yapıldı. Kesitler Ki-67 (DAKO, Denmark, code no: MS-1844-R7), Bcl-2 (DAKO, Denmark code no: RTU-1953DO7) ve CD-68 (DAKO, Denmark, code no:RTU1544-M7) primer antikorları ile 60 dakika inkübe edildi.

Streptavidin-biotin immüno-peroksidaz teknik ile (K8000 Envision Flex, DAKO, Glostrup, Denmark) otomatize sistem kullanıldı. Renk verecek görüntüyü sağlamak için Diaminobenzidin tetraklorid, (DAB) ile immüno-reaksiyonlar gösterildi. Zemin boyanması için kesitlere hematoksin ile zıt boyama yapıldı. Dehidratasyon için kesitler sırası ile yükselen oranlarda alkol serilerinden geçirildi ve ksilolde saydamlaştırma sonrası balsam ile kaplandı. Boyanma aşamasından sonra kesitler ışık mikroskobu (Olympus BX51, Tokyo, Japan) altında 4, 10, 20 ve 40'lık büyütmelelerde, tek bir patolog tarafından, klinik bilgilere kör olarak incelendi. En yoğun sitoplazmik ve nükleer boyanma gözlenen alanlarda (hot spots) en az 200 hücre sayıldı. %5'in altında boyanma: 0, %5-10 boyanma: "+1", %11-20 boyanma: "+2", %20 üstü boyanma: "+3" olarak skorlandı.

3.3. İstatistiksel yöntemler

Veriler SPSS (Statistical Package for Social Sciences for Windows version) 17 [SPSS Inc; Chicago, IL, USA] paket programı ile değerlendirilmiştir. Tanımlayıcı istatistiklerde yüzde (sayı), ortalama±standart sapma, gruplararası karşılaştırmalarda ki kare testi, ölçüm verilerini değerlendirmek için Student t (ve/veyaMann Whitney U) testi, bağımlı değişkenleri değerlendirmek için; bağımlı gruplarda t testi, Friedman testi, tekrarlı ölçümler varyans analizi yapılmıştır. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0,05$ anlamlı kabul edildi.

3.4. Etik Kurul

Çalışma için Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Etik Kurulundan 2014/414 protokol no'lu ve 14.08.2014 tarihli etik kurul onayı alınmıştır.

4. BULGULAR

Böbrek biyopsisinde kresent saptanan toplam 60 hastanın preparatları çalışmada değerlendirildi. Hastaların 39'u erkek (% 65), 21'i (%35) kadın idi. Kadınların yaş ortalaması $56,9 \pm 14,8$, erkeklerin ise $53,7 \pm 15,2$ saptandı, fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Kadınların başlangıç kreatinin değerleri $2,8 \pm 1,6$ mg/dl, erkeklerin $4,5 \pm 3,0$ mg/dl saptandı, fark istatistiksel olarak anlamlı düşük saptandı ($p=0,022$). Kadın ve erkeklerin başlangıç üre, albümin, hemoglobin, 24 saatlik idrarda proteinüri ve 24 saatlik idrarda mikroalbüminüri değerleri arasında herhangi bir istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi (Tablo XI). Toplam 29 hastada hemodiyaliz tedavisi uygulanmış, 12 hasta ise bir yıllık takipte farklı nedenler ile exitus olmuştu.

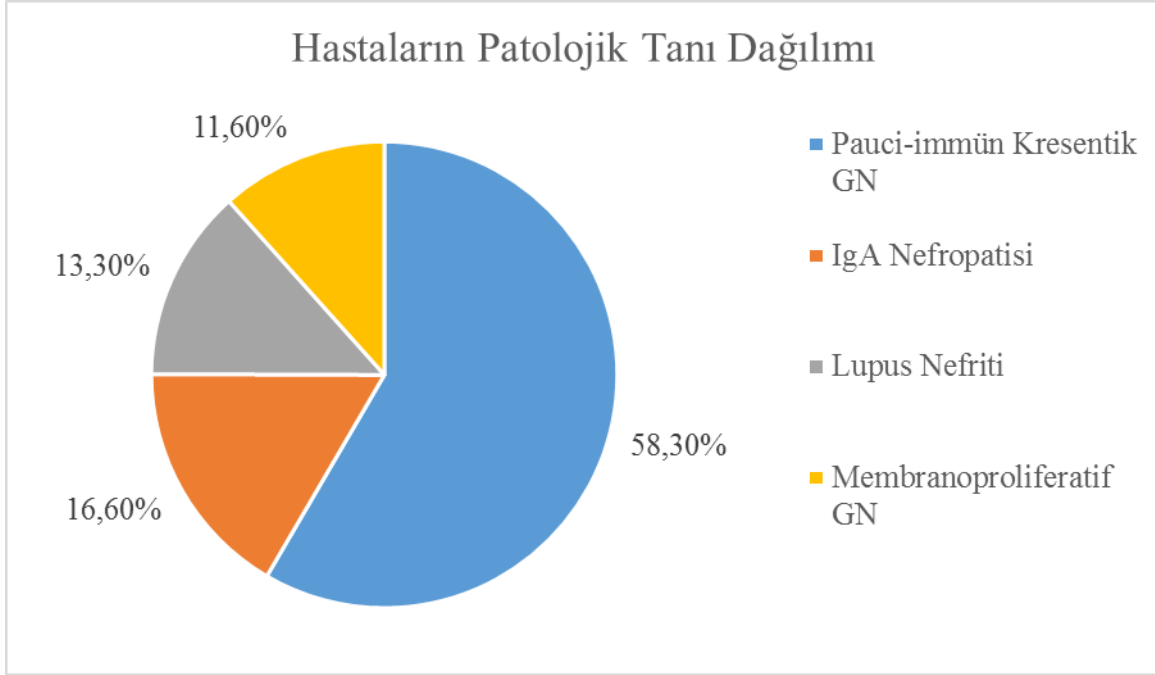
Tablo XI. Hastaların Bazı Demografik Verilerinin Karşılaştırılması

	Kadın (n:21)	Erkek (n:39)	Toplam (n:60)	P Değeri
Yaş (yıl)	$56,9 \pm 14,8$	$53,7 \pm 15,2$	$54,8 \pm 15,0$	0,480
Kreatinin (mg/dL)	$2,8 \pm 1,6$	$4,5 \pm 3,0$	$3,9 \pm 2,7$	0,022
Üre (mg/dL)	$89,5 \pm 45,1$	$122,2 \pm 62,9$	$111,3 \pm 59,2$	0,057
Albumin (gr/dL)	$3,4 \pm 0,4$	$3,2 \pm 0,7$	$3,2 \pm 0,6$	0,335
Hemoglobin (gr/dL)	$9,9 \pm 1,6$	$10,0 \pm 1,7$	$10,0 \pm 1,6$	0,855
24 Saat İdrar Proteinüri (mg/gün)	$2873,6 \pm 3325,7$	$2867,3 \pm 2545,0$	$2859,3 \pm 2790,7$	0,501
24 Saat İdrar Mikroalbüminüri (mg/gün)	$1824,0 \pm 1984,8$	$1827,3 \pm 1842,1$	$1826,2 \pm 1868,5$	0,950

Çalışmaya alınan hastalarda en sık tespit edilen patolojik tanı beklenildiği şekilde Pauci-immün kresentik GN'ler oluşturmaktaydı, ikinci sıklıkta IgA nefropatisi saptandı. Pauci-immün kresentik GN saptanan hastaların 15'inde (%42,8) p-ANCA pozitif, üç (%8,5) hastada ise c-ANCA pozitif, 17 (%48,5) hastada ise ANCA pozitifliği saptanmadı. Hastaların patolojik tanı dağılımları Tablo-XII'de gösterilmiştir.

Tablo XII. Hastaların Patolojik Tanı Dağılımı

Hastalık Tanıları	Sayı	Yüzde (%)
Pauci-immün kresentik glomerulonefrit	35	58,3
IgA Nefropatisi	10	16,6
Lupus Nefriti	8	13,3
Membranoproliferatif Glomerulonefrit	7	11,6
Toplam	60	100



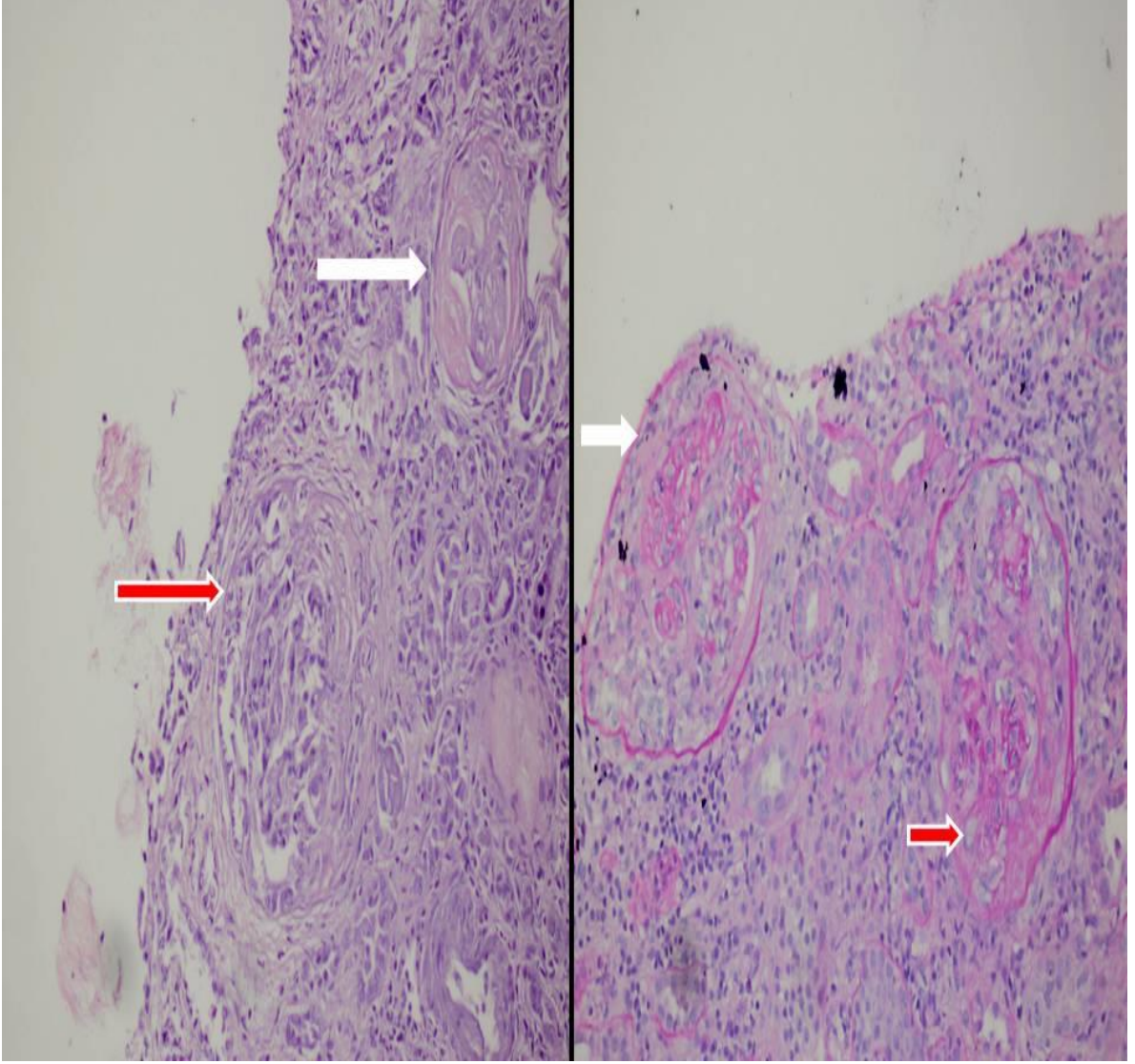
Şekil 2. Hastaların Patolojik Tanı Dağılımı

Hastaların patoloji preparatlarının immünhistokimyasal boyanma oranlarının değerlendirilmesinde 46 hastada Bcl-2 +1 pozitif (%82,1), bir hastada +3 pozitif saptandı. CD-68 35 hastada +1 pozitif (%62,5), beş hastada +3 pozitif (%8,9) saptandı. Ki-67 44 hastada +1 pozitif (%78,6), 12 hastada +2 pozitif saptandı (%21,4). Hiçbir hastada Ki-67 immünhistokimyasal boyanma +3 pozitif saptanmadı. Hastaların %82,1'inde Bcl-2, %62,5'inde CD-68 ve %78,6'sında Ki-67 immünhistokimyasal boyanma oranları +1 pozitif olarak bulunmuştur (Tablo-XIII).

Tablo XIII. Hastaların Bcl-2, CD-68 ve Ki-67 İmmünohistokimyasal Boyanma Oranları

Özellik	Sayı	Yüzde
Bcl-2		
+1 Pozitif	46	82,1
+2 Pozitif	9	16,1
+3 Pozitif	1	1,8
CD-68		
+1 Pozitif	35	62,5
+2 Pozitif	16	28,6
+3 Pozitif	5	8,9
Ki-67		
+1 Pozitif	44	78,6
+2 Pozitif	12	21,4

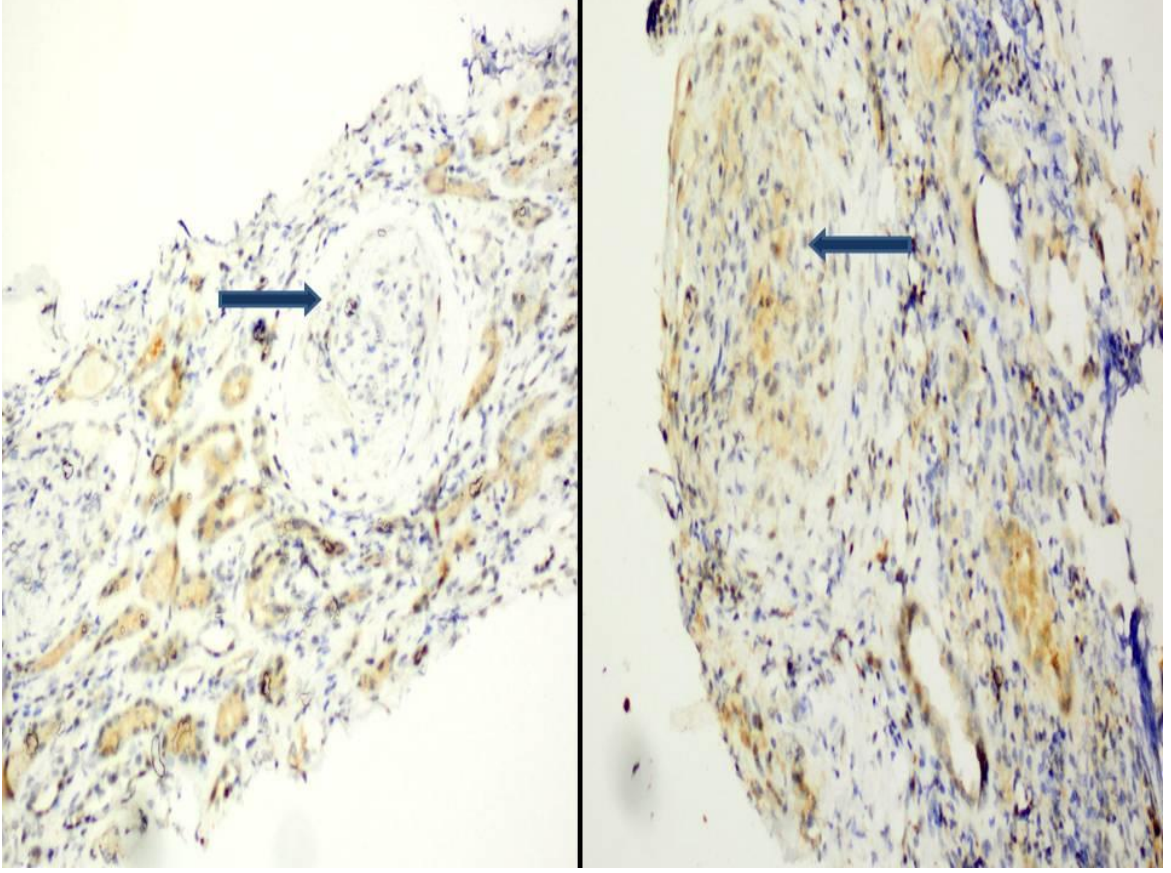
Resim 1’de sellüler, fibrosellüler, fibröz kresentler gösterilmiştir.



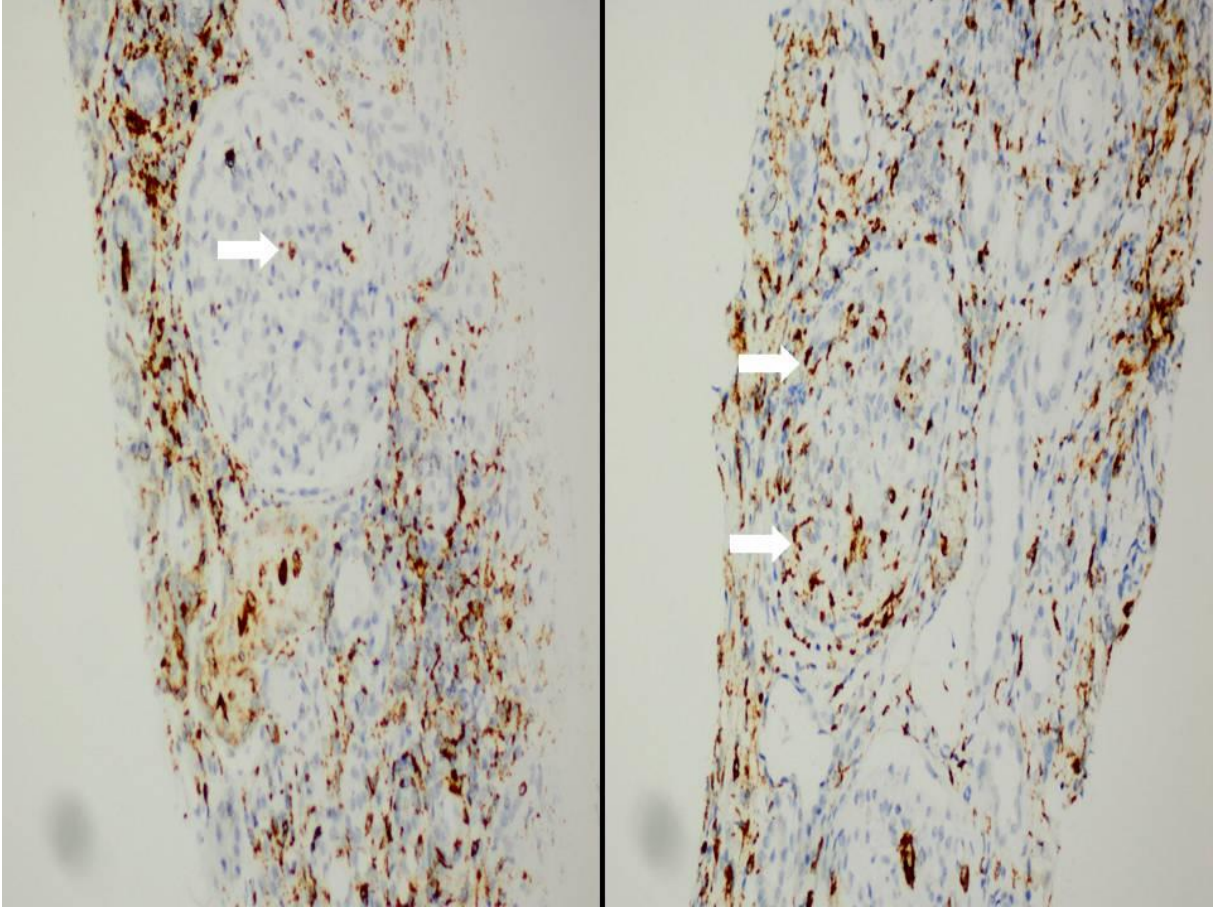
Resim 1. Sellüler, fibrosellüler, fibröz kresentler

(Açıklama; soldaki resimde fibrosellüler (kırmızı ok) ve fibröz (beyaz ok) kresent varlığı (HE,x200), sağdaki resimde sellüler (beyaz ok) ve fibrosellüler kresent (kırmızı ok) varlığı (PAS, x200) izlenmektedir.)

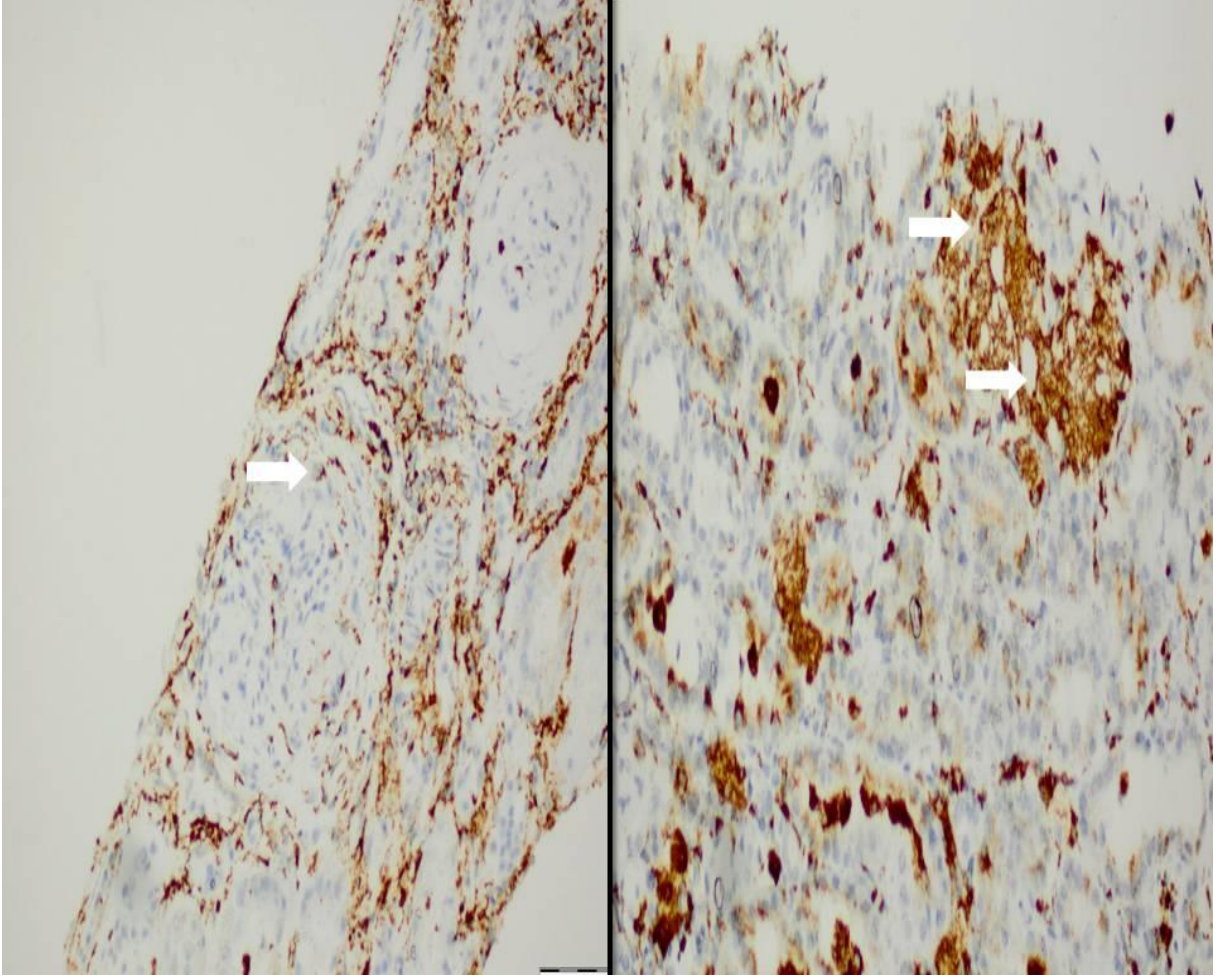
Bcl-2, Ki-67, CD-68 ile immünohistokimyasal boyanma özellikleri Resim 2, Resim 3 ve Resim 4'te sırası ile gösterilmiştir.



Resim 2. Bcl-2 ile immünohistokimyasal boyanma (Açıklama; soldaki resimde immünohistokimyasal Bcl-2 boyasında kresentik alanda zayıf (+1) boyanma (Anti-Bcl-2,x200), sağdaki resimde ise immünohistokimyasal Bcl-2 boyamasında kresentik alanda orta (+2) boyanma (Anti-Bcl-2,x200) izlenmektedir.)



Resim 3. Ki-67 ile immünohistokimyasal boyanma
(Açıklama; soldaki resimde immünohistokimyasal Ki-67 boyamasında kresentik alanda zayıf (+1) boyanma (Anti-Ki-67,x200), sağdaki resimde immünohistokimyasal Ki-67 boyamasında kresentik alanda orta (+2) boyanma (Anti-Ki-67,x200) izlenmektedir.)

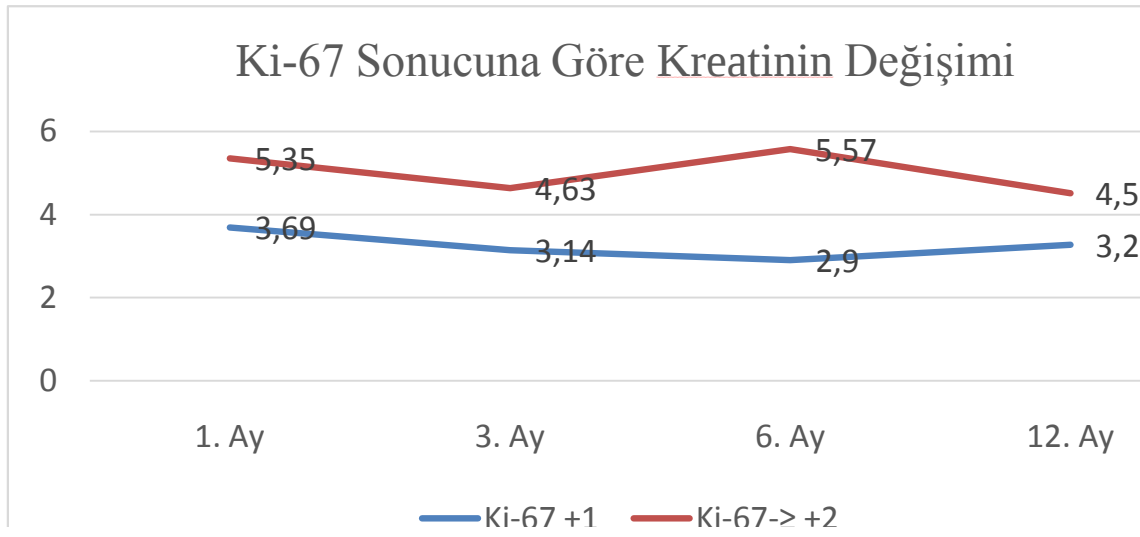


Resim 4. CD-68 ile immünohistokimyasal boyanma (Açıklama; soldaki resimde immünohistokimyasal CD-68 boyamasında kresentik alanda zayıf (+1) boyanma (Anti-CD68,x200), sağdaki resimde immünohistokimyasal CD-68 boyamasında kresentik alanda güçlü (+3) boyanma (Anti-CD68,x200) izlenmektedir.)

Çalışmaya alınan hastaların Ki-67 İmmünohistokimyasal boyanma oranı ile birinci ve 12. ay arasındaki kreatinin değişimi arasında herhangi bir istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo-XIV). Çalışmada istatistiksel olarak anlamlı olmasa da Ki-67 immünohistokimyasal boyanma oranı +1 pozitif olan grupta 12 aylık takipte ortalama kreatinin değerlerinin $\geq$ +2 pozitif olan gruba göre daha düşük olduğu görülmüştür. Bu durumun istatistiksel olarak anlamlı olmasa da Ki-67 immünohistokimyasal boyanma oranının daha yüksek olduğu hastalarda daha kötü hastalık seyri ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür (Şekil 3).

Tablo XIV. Ki-67 İmmünohistokimyasal Boyanma Oranına Göre Kreatinin Değerlerindeki Değişim

	Kreatinin (mg/dL) 1. Ay	Kreatinin (mg/dL) 3. Ay	Kreatinin (mg/dL) 6. Ay	Kreatinin (mg/dL) 12. Ay	P Değeri
Ki-67 +1	3,6	3,1	2,9	3,2	0,313
Ki-67 $\geq$ +2	5,3	4,6	5,5	4,5	0,499

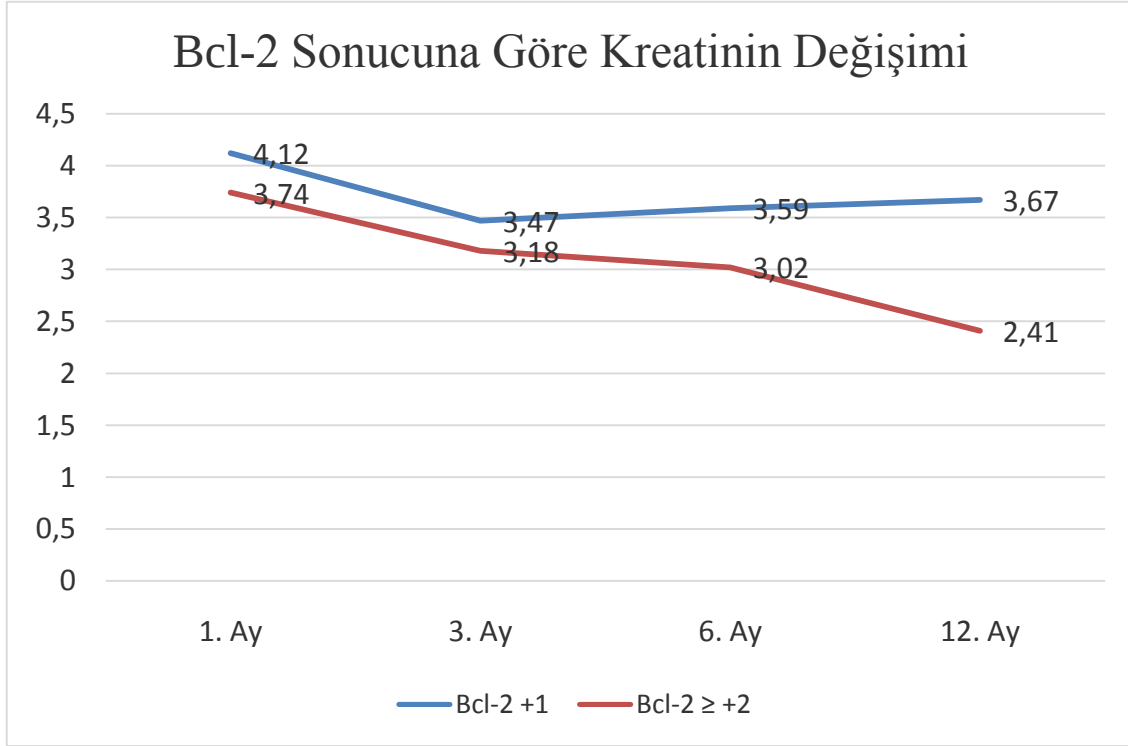


Şekil 3. Ki-67 İmmünohistokimyasal Boyanma Oranına Göre Kreatinin Değişimi

Çalışmaya alınan hastaların Bcl-2 İmmünohistokimyasal boyanma oranı ile birinci ve 12. Ay ölçümlerindeki kreatinin değişimi arasında herhangi bir istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo-XV). Çalışmada istatistiksel olarak anlamlı olmasa da Bcl-2 immünohistokimyasal boyanma oranı +1 pozitif olan grupta 12 aylık takipte ortalama kreatinin değerlerinin $\geq$ +2 pozitif olan gruba göre daha yüksek seyrettiği görülmüştür. Bu durumun istatistiksel olarak anlamlı olmasa da Bcl-2 ekspresyonunun arttığı olgularda Bcl-2'nin antiapoptotik özelliklerinin glomerüler fonksiyonlarda koruyucu etki ile ilişkili olabileceği ve bu olgularda daha ılımlı hastalık seyri ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür (Şekil 4).

Tablo XV. Bcl-2 İmmünohistokimyasal Boyanma Oranına Göre Kreatinin Değerlerindeki Değişim

	Kreatinin (mg/dL) 1. Ay	Kreatinin (mg/dL) 3. Ay	Kreatinin (mg/dL) 6. Ay	Kreatinin (mg/dL) 12. Ay	P Değeri
Bcl-2 +1	4,1	3,4	3,5	3,6	0,483
Bcl-2 $\geq$ +2	3,7	3,1	3,0	2,4	0,754



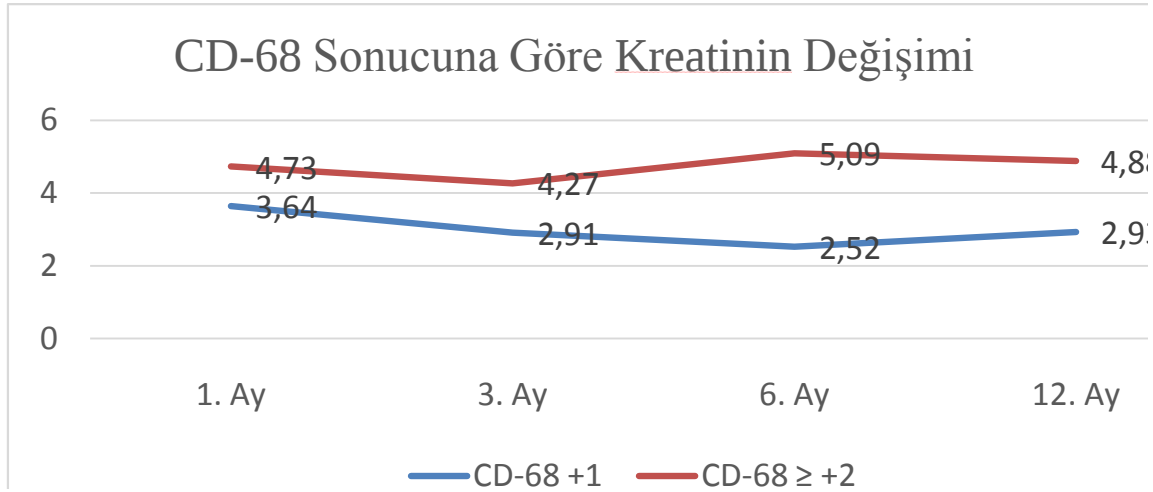
Şekil 4. Bcl-2 İmmünohistokimyasal Boyanma Oranına Göre Kreatinin Değişimi

Çalışmaya alınan hastaların CD-68 immünohistokimyasal boyanma oranı +1 pozitif olan grupta kreatinin değeri birinci ay'dan 12. ay'a doğru gidildiğinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır ($p=0,040$). CD-68 immünohistokimyasal boyanma oranı $\geq$ +2 pozitif olan hastalarda ise, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, birinci ay'dan 12. Ay'a doğru gidildiğinde kreatinin değerinde artma tespit edilmiştir. Bir yıllık kreatinin değişimleri açısından CD-68 immünohistokimyasal boyanmasının +1 pozitif olması ile +2 ve üzeri pozitif olması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. CD-68 immünohistokimyasal boyanma oranı +1 pozitif olan grupta kreatinin daha iyi olarak yorumlanmıştır (Tablo-XVI). Araştırmada istatistiksel olarak anlamlı olmasa da CD-68 immünohistokimyasal boyanma oranı +1 pozitif olan grupta 12 aylık takipte ortalama kreatinin değerlerinin $\geq$ +2 pozitif olan gruba göre daha

düşük olduğu görülmüştür. CD-68 immünohistokimyasal boyanma oranı daha düşük olan olgularda 12 aylık takipte kreatinin değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı azalmanın izlenmesinin yanında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da 12 aylık takipte ortalama kreatinin değerlerinin daha düşük seyrettiği görülmüştür (Şekil-5). CD-68 immünohistokimyasal boyanma oranının daha yüksek olduğu hastalarda bu durumun kötü prognozla ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Tablo XVI. CD-68 İmmünohistokimyasal Boyanma Oranına Göre Kreatinin Değerlerindeki Değişim

	Kreatinin (mg/dL) 1. Ay	Kreatinin (mg/dL) 3. Ay	Kreatinin (mg/dL) 6. Ay	Kreatinin (mg/dL) 12. Ay	P Değeri
CD-68 +1	3,6	2,9	2,5	2,9	0,040
CD-68 $\geq$ +2	4,7	4,2	5,0	4,8	0,062



Şekil 5. CD-68 İmmünohistokimyasal Boyanma Oranına Göre Kreatinin Değişimi

Çalışmaya alınan hastaların renal biyopsi örneklerindeki kresent oranı %49'un altında olan hastalardan 20 hastada (%83,3) Bcl-2 immünohistokimyasal boyanma oranı +1 pozitif saptanırken, dört hastada (%16,7) $\geq$ +2 pozitif saptandı. Bu hasta grubunda CD-68 immünohistokimyasal boyanma oranı 15 hastada (%62,5) +1 pozitif saptanırken, dokuz hastada (%37,5) $\geq$ +2 pozitif saptandı. Ki-67 immünohistokimyasal boyanma oranı 17 hastada (%70,8)

+1 pozitif, yedi hastada (%29,2) $\geq$ +2 pozitif saptandı. Hastaların renal biyopsi örneklerindeki kresent oranı %50 ve üzerinde olan hastalardan 26 hastada (%81,2) Bcl-2 immünohistokimyasal boyanma oranı +1 pozitif saptanırken, altı hastada (%18,8) $\geq$ +2 pozitif saptandı. Bu hasta grubunda CD-68 immünohistokimyasal boyanma oranı 20 hastada (%62,5) +1 pozitif saptanırken, 12 hastada (%37,5) $\geq$ +2 pozitif saptandı. Ki-67 immünohistokimyasal boyanma oranı 27 hastada (%84,4) +1 pozitif, beş hastada (%15,6) $\geq$ +2 pozitif saptandı. Hastaların renal biyopsi örneklerindeki kresent oranı ile Bcl-2, CD-68 ve Ki-67 immünohistokimyasal boyanma oranları arasında herhangi bir istatistiksel anlamlı ilişki bulunamamıştır (Tablo-XVII).

Tablo XVII. Hastaların Renal Biyopsideki Kresent Oranına göre Bcl-2, CD-68, Ki-67 İmmünohistokimyasal Boyanma Oranlarının Karşılaştırılması

Özellik	Kresent Oranı				P değeri
	0,49 ve Altı		0,50 ve Üzeri		
Bcl-2	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	0,840
+1	20	83,3	26	81,2	
≥+2	4	16,7	6	18,8	
CD-68					1,000
+1	15	62,5	20	62,5	
≥+2	9	37,5	12	37,5	
Ki-67					0,222
+1	17	70,8	27	84,4	
≥+2	7	29,2	5	15,6	

Çalışmaya alınan hastaların Ki-67 ve Bcl-2 immünohistokimyasal boyanma oranları ile birinci ve 12. Ay arasındaki kreatinin değişimi arasında herhangi bir istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır. Ancak CD-68 İmmünohistokimyasal boyanma oranı +1 pozitif olan grupta kreatinin miktarı birinci ay'dan 12. Ay'a doğru gidildiğinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır (p=0,040). CD-68 immünohistokimyasal boyanma oranı $\geq$ +2 pozitif olan hastalarda ise, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, birinci ay'dan 12. Ay'a doğru gidildiğinde kreatinin değerinde artma saptanmıştır (Tablo-XVIII).

Tablo XVIII. Ki-67, Bcl-2 ve CD-68 İmmünohistokimyasal Boyanma Oranlarına Göre Kreatinin Değerlerindeki Değişim

	Grup	Kreatinin (mg/dL) 1. Ay	Kreatinin (mg/dL) 3. Ay	Kreatinin (mg/dL) 6. Ay	Kreatinin (mg/dL) 12. Ay	P Değeri
Ki-67	+1	3,6	3,1	2,9	3,2	0,313
	≥+2	5,3	4,6	5,5	4,5	0,499
Bcl-2	+1	4,1	3,4	3,5	3,6	0,483
	≥+2	3,7	3,1	3,0	2,4	0,754
CD-68	+1	3,6	2,9	2,5	2,9	0,040
	≥+2	4,7	4,2	5,0	4,8	0,062

Çalışmaya alınan hastaların birinci ay'da ölçülen 24 saatlik idrarda proteinüri ortalama değeri 2869,4 mg/gün ve mikroalbuminüri değeri 1826,3 mg/gün olarak saptanmıştır. Aynı değerler üçüncü ayda sırasıyla 1731,8 mg/gün ve 1159,5 mg/gün olarak saptanmıştır. Tanı sonrası birinci ve üçüncü aylarda bakılan 24 saatlik idrarda proteinüri ve mikroalbuminüri değerlerindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo-XIX). 24 saatlik idrarda proteinüri ve mikroalbuminüri için renal biyopsi örneklerindeki Bcl-2, CD-68, Ki-67 immünohistokimyasal boyanma özelliklerine göre anlamlı fark izlenmemiştir.

Tablo XIX. Hastaların 24 Saatlik İdrarlarında Birinci ve Üçüncü Ay'da Ölçülen Proteinüri ve Mikroalbuminüri Sonuçlarındaki Değişim

	Birinci Ay			Üçüncü Ay			
	Ortalama	Std S.	Ortanca	Ortalama	Std S.	Ortanca	P
24 Saat Proteinüri (mg/dl)	2869,4	2790,7	1886,4	1731,8	1820,6	957,0	0,001
24 Saat Mikroalbuminüri (mg/dl)	1826,3	1868,6	1198,0	1159,5	1185,6	701,3	0,001

Çalışmaya alınan hastalardan ANCA sonuçlarının değerlendirildiği toplam 44 hastanın 18'inde (%40,9) ANCA pozitif iken, 26 hastada (%59,1) ANCA negatif saptanmıştır. ANCA pozitif olan 18 hastanın 15'inde (%83,3) p-ANCA, üç'ünde (%16,7) ise c-ANCA değeri pozitif saptanmıştır. Hastalarda ANA sonuçlarının değerlendirildiği toplam 50 hastanın 13'ünde (%26) ANA pozitif iken, 37 hastada (%74) ANA negatif saptanmıştır. ANA pozitif

saptanan toplam 13 hastanın sekiz'inde (%61,5) ANA 1/100 titrede, dört hastada (%30,8) 1/320 titrede, bir hastada (%7,7) 1/1000 titrede pozitif saptanmıştır. ANA pozitif saptanan hastalarda altı hastada (%46,2) granüler paternde, beş hastada (%38,5) homojen paternde, bir hastada (%7,7) nükleolar paternde ve bir hastada (%7,7) nükleer membran paternde pozitif boyanma saptanmıştır (Tablo-XX).

Tablo XX. Hastaların ANCA (p-ANCA, c-ANCA) ve ANA Sonuçları.

Özellik	Sayı (n)	Yüzde (%)
ANCA (n:44)		
Negatif	26	59,1
Pozitif	18	40,9
ANCA Alt Grup (n:18)		
p-ANCA Titre Dağılımı	15	83,3
1/10	4	21,4
1/32	3	35,7
1/100	5	28,6
+++	2	14,3
c-ANCA Titre Dağılımı	3	16,7
1/100	1	33,3
+++	1	33,3
++++	1	33,3
ANA (n:50)		
Negatif	37	74,0
Pozitif	13	26,0
ANA Titre Dağılımı (n:13)		
1/100	8	61,5
1/320	4	30,8
1/1000	1	7,7
ANA Patern Dağılımı (n:13)		
Granüler	6	46,2
Homojen	5	38,5
Nükleolar	1	7,7
Nükleer MembranPatern	1	7,7

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, böbrek biyopsisi yapılmış ve biyopsi örneklerinde kresent saptanmış hastaların biyopsi preparatları Ki-67, CD-68 ve Bcl-2 immunhistokimyasal boyama ile boyanmıştır. Hastaların boyanma özelliklerinin, hastalık prognozu ile ilişkisi değerlendirilmiştir.

Araştırmamızda Ki-67 ve Bcl-2 boyama sonuçları ile bir yıllık kreatinin değişimi arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır. Ancak CD-68 ile +1 pozitif boyanan grupta, kreatinin miktarı birinci ay'dan 12. Ay'a doğru gidildiğinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır ($p=0,040$). CD-68 ile $\geq +2$ boyanan kişilerde ise, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, 12 aylık takibinde kreatinin değerinde artma tespit edilmiştir (Tablo XVIII). Bu durumda CD-68 ile +2 pozitif ve üzerinde boyanan hastaların prognozunun daha kötü olduğu, CD-68 ile +2 pozitif ve üzerinde boyanma olmasının, kresentik glomerulonefritte kötü prognoza işaret ettiği düşünülmektedir. Aynı şekilde CD-68 ile boyanma olmamasının ya da düşük düzeyde boyanma olmasının, kresentik glomerulonefritte iyi prognoza işaret ettiği düşünülmektedir.

Dias ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, Lupus Nefriti olan 50 vaka sekiz yıl boyunca izlenmiş ve hastalığın kronikleşme süreci değerlendirilmiştir. Glomerüler filtrasyon hızı sekizinci yılın sonunda $60 \text{ ml/min/1.73m}^2$ ve üzerinde olan grupta progresyonun olmadığı, altında olan grupta ise progresyonun olduğu saptanmıştır. Araştırma sonucunda hastalığın kronikleşme indeksinin, renal tüp ve renal interstisyumdan alınan örneklerde CD-68 ile pozitif boyanan grupta, CD-68 ile negatif boyanan gruptan anlamlı olarak fazla olduğu bulunmuştur. Ayrıca final serum kreatinin sonucu da interstisyel CD-68 miktarı ile pozitif korelasyon göstermiştir. Çalışma sonucunda, CD-68'in renal ekspresyonu ile Lupus Nefritinin kronikleşme indeksi arasında pozitif ilişki olduğu ortaya konulmuştur (50).

Alexopoulos ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada, lupus nefritinde interstisyel lenfosit ve makrofaj infiltrasyonunda artış olmasının renal fonksiyonlarda azalmaya neden olduğu bulunmuştur (51).

Zhao ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada, vaskülitli hastalarda, glomerüler ve interstisyel CD-68 ekspresyonu ile serum kreatinin düzeyi arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur (52).

Cheunsuchon ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, Sınıf 4 Lupus nefriti olan 90 hasta iki tedavi grubuna ayrılmış, tedaviye cevap alınan grupta glomerüler makrofaj

miktarının, tedaviye cevap alınamayan gruptaki glomerüler makrofaj miktarından anlamlı düzeyde düşük olduğu bulunmuştur. Araştırma sonucunda glomerüler makrofaj miktarının lupus nefritinde tedaviye yanıtta önemli bir gösterge olabileceği belirtilmiştir (53).

Maekawa ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, glomerüler makrofaj akümülyasyonunun, proliferatif GN, mezengial proliferatif GN, Fokal segmental GS hastalıklarında arttığı tespit edilmiştir. Aynı çalışmada, glomerüler ve interstisyel makrofaj akümülyasyonu ile hematüri, proteinüri ve renal fonksiyon bozukluğu ile ilişkili bulunmuştur. Ayrıca, kronisite ve aktivite indeksi ve özellikle glomerüler IgA şiddeti ile glomerüler makrofaj akümülyasyonu arasında da korelasyon bulunmuştur (54).

Liu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, kresantik glomerulonefritli hastalarda kemokin ekspresyonunun CD-68 + immünohistokimyasal boyanma ile korele olduğu ve kemokin ekspresyonunun olduğu hücrelerde inflamatuvar sürecin daha ciddi seyrettiği ve bu durumun kötü prognoz ile birlikteliği gösterilmiştir (55).

Danilewicz ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, glomerül hücrelerinde CD-68 ekspresyonu Henoch Schönlein purpurası olan hastalarda, IgA nefropatisi olanlardan daha fazla bulunmuştur (56).

Yukarıda bahsedilen çalışmalar ışığında GN'lerde makrofaj infiltrasyonu yoğunluğu kötü prognozla, hastalık progresyonu, hematüri, hastalık aktivitesi ile yakın ilişkisi vardır. Çalışmamızda da benzer şekilde makrofaj belirteci olan CD-68 ile boyanma ile kreatinin progresyonu arasında ters ilişki saptanmıştır.

Chung ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, aktif ve konvelesan dönemde olan 21 post streptokoksik glomerulonefritli çocuk incelenmiş, Ki-67 ekspresyonunun aktif dönemde olan hastalarda (%84,6), konvelesan dönemde olan hastalardan (%25) daha fazla olduğu bulunmuştur (57).

Dalkılıç ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada ise, sistemik lupuslu kresantik GN'li hastalarda, Ki-67 proliferasyon indeksi ile serum kreatinin değeri ve SLE aktivite indeksi arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Aynı çalışmada Ki-67'nin SLE kresantik GN'li hastalarda proliferasyon belirteci olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (58).

Kim ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, Lupus Nefriti, akut infeksiyon sonrası GN, membranoproliferatif GN ve IgA nefropatisi olan hastalarda, Ki-67 ekspresyonu, kontrol grubuna göre anlamlı olarak fazla bulunmuştur (59). Aynı çalışmada Ki-67 değerleri glomeruler hastalığı olanların her kategorisinde kontrol grubundan daha yüksek bulunmuştur.

Araştırmamızda Bcl-2 ile yıllık kreatinin değerleri arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır. Ancak Bcl-2'nin, renal hastalıkların progresyonunu belirleyen parametrelerden biri olduğu bildirilmektedir. GN'lerde infiltrate edici lökositlerin uzamış yaşam süresi ve intrinsik glomerüler hücrelerin kalıcı proliferasyonunda da rol oynamaktadır. Bcl-2 ekspresyonunun glomerüler hipersellülarite ile korele olduğu ve böylece glomerüler hücre proliferasyonu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Uğuz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Bcl-2 pozitifliği glomerüllerdeki mezengial hücre stoplazmalarında izlenmiştir. Aynı çalışmada saptanan Bcl-2'lerin GN tiplerine göre dağılımında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır (60).

Rodriguez-Lopez ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, Bcl-2 ekspresyonunun glomerülopatilerde, glomerüler hücrelerdeki apoptotik oranın hafif olarak düşürülmesinde rolü olduğu belirtilmiştir. Tek taraflı nefrektomi yapılan hipertansif sıçanlarda, nefrektomiden sonra iki hafta içinde apoptotik hücre sayısının arttığı, üçüncü hafta sonunda Bcl-2 ekspresyonu artarken apoptozis oranının hafifçe düştüğü gözlenmiştir (61).

Nakopoulou ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, proksimal tübül epitelyal hücrelerinde Bcl-2 ekspresyonu, proliferatif GN vakalarında, nonprolifertatif GN vakalarından daha fazla olduğu tespit edilmiştir (62). Ancak aynı çalışmada, renal dokudan alınan örneklerdeki toplam Bcl-2 düzeyi incelendiğinde, proliferatif ve nonprolifertatif GN'ler arasında herhangi bir fark olmadığı belirtilmiştir.

Nitta ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, hızlı ilerleyen GN vakalarında Bcl-2 ekspresyonun arttığı gösterilmiştir (63).

Araştırmaya dahil edilen hastaların üçte biri kadın üçte ikisi ise erkektir. Kadınların yaş ortalaması erkeklerden 3 yıl daha fazladır. Ayrıca erkeklerin başlangıç kreatinin değeri kadınlardan anlamlı olarak yüksek saptanmıştır (Tablo XI).

Ege üniversitesinden Ok ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kresentik GN'li hastaların ortalama yaşları 35 olarak saptanmış (64). Erciyes üniversitesinden Ünal ve arkadaşlarının yaptığı çalışma da hastaların ortalama yaşları 34 olup, tüm kresentik GN'li hastaların %71,4'ü erkek olarak saptanmıştır (65). Uludağ Üniversitesi'nde yapılan bir çalışmada hastaların ortalama yaşları 32 olup, hastaların 19'u erkek 16'sı kadın olarak bildirilmiştir (66). Bayındır-Akbaş'ın yaptığı çalışmada, kresentik GN'li hastaların yaş ortalaması 40,2 iken, hastalığın kadınlarda görülme sıklığı %35,7 erkeklerdeki ise %64,3 olarak bulunmuştur (67).

Araştırmamızda en sık tespit edilen böbrek hastalığı Pauci-immün kresentik GN, ikinci sıklıkta IgA Nefropatisidir. Japonya'da yapılan 1772 hastanın katıldığı ulusal bir çalışmada hızlı ilerleyen GN'li vakalarının %64'ünde pauci-immün kresentik GN saptanmıştır (68). Ünal'ın yaptığı çalışmada, çalışmaya alınan 35 hastadan altı tanesinde anti GBM bazal membran hastalığı, 14 tanesinde immün kompleks aracılı GN, 13 tanesinde pauci-immün kresentik GN saptanmıştır (65). Ok ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise hastaların %11'i Tip 1, %56'sı Tip 2, %33'ü Tip 3 kresentik GN olarak bildirilmiştir (64). Jennette ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada hastaların %15'i Tip 1, %22'si Tip 2, %63'ü Tip 3 kresentik GN olduğu bildirilmiştir (3). Bayındır-Akbaş'ın yaptığı çalışmada ise Tip 1 kresentik GN bir hastada (%2,3), Tip 2 kresentik GN 15 hastada (%34,9), Tip 3 kresentik GN 27 hastada (%62,8) saptanmıştır (67).

Çalışmamızda hastaların %40,9'unda ANCA pozitif iken, ANCA pozitif olanların %83,3'ünde p-ANCA, %16,7'sinde ise c-ANCA değeri pozitif bulunmuştur. Ayrıca hastaların %26'sında ANA pozitif iken, ANA pozitif olanların %61,5'inin titre dağılımı 1/100, %46,2'sinin patern dağılımı granüler olarak tespit edilmiştir.

Pauci immün kresentik GN'lerin %75-80'inde ANCA pozitifliği saptanmaktadır (69). Bayındır-Akbaş'ın yaptığı çalışmada, hastaların %88'inde ANCA pozitifliği tespit edilmiştir. Aynı çalışmada Wegener Granulomatozusu saptanan olguların hepsinde ANCA pozitifliği saptanırken, 17 MPA hastasının üç'ünde ANCA negatif saptanmıştır (67). ANCA negatif pauci immün kresentik GN insidansı Chen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada %28, Hedger ve arkadaşlarının İngiltere'de yaptığı çalışmada %27 olarak saptanırken, Hung ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada %15 olarak saptanmıştır (19, 70, 71). Garovic ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ANCA negatif vakaların pozitif vakalara göre daha kötü prognoza sahip olduğu saptanmıştır (72).

6. SONUÇ

Araştırmamızda Ki-67 ve Bcl-2 immünhistokimyasal boyama oranları ile hastaların bir yıllık kreatinin sonuçlarının değişimi arasında herhangi bir istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır. Ancak CD-68 immünhistokimyasal boyama ile +1 pozitif boyanan grupta, kreatinin değeri takibinde birinci ay'dan 12. Ay'a doğru gidildiğinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır. CD-68 ile $\geq +2$ pozitif boyanan hastaların prognozunun daha kötü olduğu, CD-68 immünhistokimyasal boyama ile +2 pozitif ve üzerinde boyanma olmasının, kresentik glomerulonefritte kötü prognoza işaret ettiği düşünülmektedir. CD-68 immünhistokimyasal boyama ile boyanma olmamasının yada düşük düzeyde boyanma olmasının, kresentik glomerulonefritte iyi prognoza işaret ettiği düşünülmektedir. Bcl-2 immünhistokimyasal boyanma ile yıllık kreatinin değerleri arasında herhangi bir istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır. Araştırmamızda en sık tespit edilen böbrek hastalığı Pauci-immün kresentik GN, ikinci sıklıkta IgA Nefropatisidir. Hastaların %40,9'unda ANCA pozitif iken, ANCA pozitif olanların %83,3'ünde p-ANCA, %16,7'sinde ise c-ANCA değeri pozitif bulunmuştur. Katılımcıların %26'sında ANA pozitif iken ANA pozitif olanların %61,5'inin titre dağılımı 1/100, %46,2'sinin patern dağılımı granüler olarak tespit edilmiştir.

7. ÖZET

GİRİŞ-AMAC: Bu çalışmada, hızlı ilerleyen (kresentik) glomerulonefrit hastalarının renal biyopsi örneklerinde proliferasyon indeksi olarak kullanılan Ki-67 monoklonal antikorun, apoptotik aktiviteyi belirleyen Bcl-2'nin ve makrofaj hücre belirleyicisi olan CD-68'in immünohistokimyasal boyaması kullanılarak hücresel proliferasyonun, apoptozisinin değerlendirilmesi ve bu boyanma özelliklerinin hastalık prognozu ile ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEM: Çalışmaya 18 yaşından büyük, 2008 yılından itibaren, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Nefroloji Polikliniğinde takip edilen ve böbrek biyopsi örneklerinde kresent saptanan toplam 60 hasta dahil edildi. Daha önce böbrek biyopsisi yapılmış ve biyopsi örneklerinde kresent saptanan hastalar retrospektif olarak taranarak tespit edildi. Hastaların böbrek biyopsisi parafin bloklarda Ki-67, CD-68 ve Bcl-2 immünohistokimyasal boyamaları ve değerlendirmesi yapıldı. Araştırmanın verileri SPSS (Statistical Package for Social Sciences for Windows version) 17 paket programı ile değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0,05$ anlamlı kabul edildi.

BULGULAR: Araştırmada kadınların yaş ortalaması 56, erkeklerin ise 53 olarak saptanmıştır. Kadınların başlangıç kreatinin değerleri erkeklerden anlamlı olarak düşüktür. En sık Pauci-immün kresentik glomerulonefrit (%58,3) saptandı. Araştırmamızda Ki-67 ve Bcl-2 boyama sonuçları ile bir yıllık kreatinin değişimi arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır. Ancak CD-68 ile +1 pozitif boyanan grupta, kreatinin miktarı birinci ay'dan 12. Ay'a doğru gidildiğinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır. CD-68 ile $\geq +2$ boyanan kişilerde ise, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, 12 aylık takibinde kreatinin değerinde artma tespit edilmiştir. Bcl-2 ile yıllık kreatinin değerleri arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır.

SONUÇ: CD-68 makrofaj hücre belirleyicisidir ve 1 yıllık böbrek sağ kalımında +1 pozitif saptanan hastalarda prognoz daha iyi saptanmıştır. CD-68 ile $\geq +2$ pozitif boyanma olmasının, kresentik glomerulonefritte kötü prognoza işaret ettiği düşünülmektedir. Ki-67 ve Bcl-2 boyama sonuçları ile bir yıllık kreatinin değişimi arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır. Ancak CD-68 ile +1 pozitif boyanan grupta, kreatinin miktarı birinci ay'dan 12. Ay'a doğru gidildiğinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır. CD-68 ile iki pozitif ve üzerinde boyanan hastaların prognozunun daha kötü olduğu, CD-68 ile iki pozitif ve

üzerinde boyanma olmasının, kresentik glomerulonefritte kötü prognoza işaret ettiği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Bcl-2, CD-68, Ki-67, kresentik glomerülonefrit, kreatinin

The Evaluation of Ki-67 Monoclonal Antibody in Renal Biopsies of Patients with Rapidly Progressive (Crescentic) Glomerulonephritis and Its Effect on Prognosis

8. ABSTRACT

INTRODUCTION-AIM: In previous study, renal biopsy samples of patients with Rapidly Progressive (crescentic) glomerulonephritis is evaluated with Ki-67 as a proliferation index, Bcl-2 as a determiner of apoptotic activity and CD-68 as a cellular marker of macrophage, evaluated with immunohistochemistry. Thereby we aimed to determine the effects on cellular proliferation, apoptosis and prognosis of disease.

METHODS: Follow up patients in Adnan Menderes University Hospital, Nephrology Clinics since 2008, with diagnosis of crescent formation at renal biopsy samples and who were higher than 18 years old, totally 60 patients were included, and are assessed retrospectively. Paraffin-embedded biopsy samples of patients were evaluated with immunohistochemical stainings of Ki-67, CD-68 and Bcl-2. For the evaluation of research data, SPSS 17 was used for statistical analysis. Statistical significance was considered with $p < 0,05$.

RESULTS: Average of age for women was 56 and for men was 53. Initial creatinine value for women was significantly lower than men. The most common pathological diagnosis was pauci-immun crescentic (58,3%) glomerulonephritis. There were no significant relationship between Ki-67 and Bcl-2 immunohistochemical staining scores with annual creatinin changes. However in the group with +1 score for CD-68 immunohistochemical staining, measurements of creatinine in one year time frame was significantly decreased. Additionally, the group with scores of $\geq +2$ for CD-68, there were non-significant increase in creatinine values in one year time frame.

CONCLUSION: CD-68 immunohistochemical staining is used as a macrophage cell marker, patients with +1 score for CD-68 immunohistochemical staining was found with a better prognosis for one-year kidney survival. There was no significant differences between staining scores of Ki-67 and Bcl-2 with creatinine results in 1 year time frame. However in the group with +1 score for CD-68, measurements of creatinine in 1 year time frame was significantly decreased. We suggest that the prognosis of patients with scores of $\geq +2$ for CD-68 was worse and this finding refers bad prognosis at patients with rapidly progressive (crescentic) glomerulonephritis.

Key words; Bcl-2, CD-68, Ki-67, crescentic glomerulonephritis, creatinine

9. KAYNAKLAR

1. Chadban SJ, Atkins RC. Glomerulonephritis. *Lancet* 2005; 365: 1797-1806.
2. Couser WG. Glomerulonephritis. *Lancet* 1999; 353: 1509-1515.
3. Jennette JC. Rapidly progressive crescentic glomerulonephritis. *Kidney Int* 2003; 63: 1164.
4. Glassock RJ, Adler SG, Ward HJ, Cohen AH: Primary glomerular diseases. In Brenner BM, and Rector FC(eds): *The Kidney*, 4th ed. W.B. Saunders, Philadelphia, 1993; p: 1193.
5. Whitworth JA, Morel-Moroger L, Mignon F, Richet G. The significance of extracapillary proliferation. Clinicopathological review of 60 patients. *Nephron* 1976; 16: 1-19.
6. Couser WG. Rapidly progressive glomerulonephritis: classification, pathogenetic mechanisms, and therapy. *Am J Kidney Dis* 1988; 11: 449.
7. Nair R, Bell JM, Walker PD. Renal biopsy in patients aged 80 years and older. *Am J Kidney Dis* 2004; 44: 618.
8. Moutzouris DA, Herlitz L, Appel GB, et al. Renal biopsy in the very elderly. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 1073.
9. Baldwin DS, Neugarten J, Feiner HD, et al. The existence of a protracted course in crescentic glomerulonephritis. *Kidney Int* 1987; 31: 790.
10. Atkins RC, Nikolic-Paterson DJ, Song Q, Lan HY. Modulators of crescentic glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7: 2271.
11. Bonsib SM. Glomerular basement membrane necrosis and crescent organization. *Kidney Int* 1988; 33: 966.
12. Woodworth TG, Abuelo JG, Austin HA 3rd, Esparza A. Severe glomerulonephritis with late emergence of classic Wegener's granulomatosis. Report of 4 cases and review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 1987 May; 66 (3): 181-91.
13. Seo P, Stone JH. The antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitides. *Am J Med* 2004; 117: 39.
14. Differential diagnosis of glomerular disease: a systematic and inclusive approach. *Am J Nephrol* 2013; 38: 253-256.
15. Primary idiopathic glomerulonephritis: modern algorithm for diagnosis and treatment. *Pol Arch of Internal Medicine* 2008; 118 (10): 567-571.
16. Falk RJ, Hogan S, Carey TS, Jennette JC. Clinical course of anti-neutrophil cytoplasmic autoantibody-associated glomerulonephritis and systemic vasculitis. The Glomerular Disease Collaborative Network. *Ann Intern Med* 1990 Nov 1; 113 (9): 656-63.

17. Angangco R, Thiru S, Esnault VL, et al. Does truly 'idiopathic' crescentic glomerulonephritis exist? *Nephrol Dial Transplant* 1994; 9: 630.
18. Bruns FJ, Adler S, Fraley DS, Segel DP. Long-term follow-up of aggressively treated idiopathic rapidly progressive glomerulonephritis. *Am J Med* 1989; 86: 400.
19. Chen M, Yu F, Wang SX, et al. Antineutrophil cytoplasmic autoantibody-negative Pauci-immune crescentic glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 599.
20. Ateş K, Hızlı İlerleyen Glomerülonefritler. *nefroloji. medicine. ankara. edu. tr/ files/ 2013/ 10/ Glomerulonefritler. Doc/ 06. 12. 2015.*
21. S Judy, Davies D, Falk RJ, Jennette JC, Wiik A. Antineutrophil cytoplasmic antibodies and associated diseases: A review of the clinical and laboratory feature. *Kidney International* 2000; 57: 846–862.
22. Roy S 3rd, Murphy WM, Arant BS Jr. Poststreptococcal crescentic glomerulonephritis in children: comparison of quintuple therapy versus supportive care. *J Pediatr* 1981 Mar; 98 (3): 403-10.
23. Raff A, Hebert T, Pullman J, Coco M. Crescentic post-streptococcal glomerulonephritis with nephrotic syndrome in the adult: is aggressive therapy warranted? *Clin Nephrol* 2005; 63: 375.
24. KDIGO Clinical Practice Guideline for Glomerulonephritis. *Kidney Int Suppl* 2012; 2: 209. [http:// www. kdigo. org/ clinical_practice_guidelines/ pdf /KDIGO- GN- Guideline. pdf /](http://www.kdigo.org/clinical_practice_guidelines/pdf/KDIGO-GN-Guideline.pdf) 02. 11. 2015.
25. Morita T, Suzuki Y, Churg J. Structure and development of the glomerular crescent. *Am J Pathol.* 1973 Sep; 72 (3): 349–368.
26. Grcevska L, Polenakovic M. Mycophenolate mofetil in the treatment of glomerular diseases. *Prilozi* 2007 Jul; 28 (1): 57-68.
27. Hu W, Liu C, Xie H, Chen H, Liu Z, Li L. Mycophenolate mofetil versus cyclophosphamide for inducing remission of ANCA vasculitis with moderate renal involvement. *Nephrol Dial Transplant* 2008 Apr; 23 (4): 1307-12.
28. Levy J, Pusey CD: Plasma Exchange. In: Feehally J, Floege J, Johnson RJ (eds), *Comprehensive Clinical Nephrology* (4th edition). USA: Elsevier, 2010; 1108-1116.
29. Kaplan AA, Appel GB, Pusey CD: Treatment of anti-GBM antibody (Goodpasture's) disease In: Uptodate. Glassock RJ (eds), *UpToDate*, Waltham, MA, 2010. 16. 11. 2015.

30. Lockwood CM, Rees AJ, Pearson TA, Evans DJ, Peters DK, Wilson CB: Immunosuppression and plasma exchange in the treatment of Goodpasture's syndrome. *Lancet* 1976; 1 (7962): 711-715.
31. Zäuner I, Bach D, Braun N, et al. Predictive value of initial histology and effect of plasmapheresis on long-term prognosis of rapidly progressive glomerulonephritis. *Am J Kidney Dis* 2002; 39: 28.
32. Jones RB1, Tervaert JW, Hauser T, Luqmani R, Morgan MD, Peh CA, et al. Rituximab versus cyclophosphamide in ANCA-associated renal vasculitis. *N Engl J Med*. 2010; 363 (3): 211-20.
33. Stone JH, Merkel PA, Spiera R, Seo P, Langford CA, Hoffman GS, et al. Rituximab versus cyclophosphamide for ANCA-associated vasculitis *N Engl J Med*. 2010; 363 (3): 221-32.
34. Abboud H, Henrich WL. Clinical practice. Stage IV chronic kidney disease. *N Engl J Med* 2010; 362: 56-65.
35. National Kidney Foundation. K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification and Stratification. *Am J Kidney Dis* 2002; 39: 1-266.
36. National Collaborating Centre for Chronic Conditions. Chronic kidney disease: National clinical guideline for early identification and management in adults in primary and secondary care. London: National Institute for Health and Clinical Excellence; September 2008. Clinical guideline 73. [http:// www.nice.org.uk/ nicemedia/ live/ 12069/ 42116/42116. Pdf/](http://www.nice.org.uk/nicemedia/live/12069/42116/42116.Pdf) 19. 11. 2011.
37. Türk Nefroloji Derneği Türkiye 2013 yılı Ulusal Hemodiyaliz, Transplantasyon ve Nefroloji Kayıt Sistemi Raporu- Registry 2013; 7.
38. Sarnak MJ, Greene T, Wang X, et al. The effect of a lower target blood pressure on the progression of kidney disease: long-term follow-up of the modification of diet in renal disease study. *Ann Intern Med* 2005; 142: 342.
39. Eriksen BO, Ingebretsen OC. The progression of chronic kidney disease: a 10-year population-based study of the effects of gender and age. *Kidney Int* 2006; 69: 375.
40. MacCallum DE, Hall PA. The location of pKi67 in the outer dense fibrillary compartment of the nucleolus points to a role in ribosome biogenesis during the cell division cycle. *The Journal of pathology*. 2000; 190 (5): 537-44.

41. Bullwinkel J, Baron-Lühr B, Lüdemann A, Wohlenberg C, Gerdes J, Scholzen T. Ki-67 protein is associated with ribosomal RNA transcription in quiescent and proliferating cells. *J. Cell. Physiol* March 2006; 206 (3): 624–35.
42. Rahmanzadeh R, Hüttmann G, Gerdes J, Scholzen T. Chromophore-assisted light inactivation of pKi-67 leads to inhibition of ribosomal RNA synthesis. *Cell Prolif* June 2007; 40 (3): 422–30.
43. Scholzen T, Gerdes J. "The Ki-67 protein: from the known and the unknown". *J. Cell. Physiol* 2000; 182 (3): 311–22.
44. Osterne R, Matos-Brito R, Alves AP; et al. "Oral Granulocytic Sarcoma: A case report". *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2009; 14 (5): 232–5.
45. Holness CL, Simmons DL. "Molecular cloning of CD68, a human macrophage marker related to lysosomal glycoproteins". *Blood* 1993; 81 (6): 1607–13.
46. Leong, Anthony SY, Cooper, Kumarason. *Manual of Diagnostic Cytology* (2 ed.). Greenwich Medical Media, Ltd Leong, F Joel W-M, 2003; 135–136.
47. Manduch M, Dexter DF, Jalink DW, Vanner SJ, Hurlbut DJ. "Undifferentiated pancreatic carcinoma with osteoclast-like giant cells: Report of a case with osteochondroid differentiation". *Pathol Res Pract* 2009; 205 (5): 353–9.
48. Tsujimoto Y, Finger LR, Yunis J, Nowell PC, Croce CM. "Cloning of the chromosome breakpoint of neoplastic B cells with the t(14;18) chromosome translocation". *Science* 1984; 226 (4678): 1097–99.
49. Cleary ML, Smith SD, Sklar J. "Cloning and structural analysis of cDNAs for bcl-2 and a hybrid bcl-2/immunoglobulin transcript resulting from the t(14;18) translocation". *Cell* 1986; 47 (1): 19–28.
50. Dias CB, Malafronte P, Lee J, Resende A, Jorge L, Pinheirp C, et al. Role of renal expression of CD68 in the long-term prognosis of proliferative lupus nephritis. *J Nephrol* 2015; (Epub ahead of print) DOI 10. 1007/ s 40620-015-0252-7.
51. Alexopoulos E, Seron D, Hartley RB, Cameron JS. Lupus nephritis: correlation of interstitial cells with glomerular function. *Kidney Int* 1990; 37 (1): 100–109.
52. Zhao L, David MZ, Hyjek E, Chang A, Meehan SM. M2 macrophage infiltrates in the early stages of ANCA-associated pauci-immune necrotizing GN. *Clin J Am Soc* 2015; 10: 54–62.

53. Cheunsuchon B, Incharoen P, Chawanasuntorapi R, Chanchairujira T, Shayakul C. Glomerular macrophage is an indicator of early treatment response in diffuse proliferative lupus nephritis. *J Med Assoc Thai* 2013 Feb; 96 (Suppl 2): S246-51.
54. Maekawa K, Shibano T, Sawaki J, Mae H, Hattori M, Tanizawa T. Clinical usefulness of CD68 staining in children with various glomerular diseases. *Nihon Jinzo Gakkai Shi* 2014; 56 (4): 532-7.
55. Liu Zhi-Hong, Shu-Fen Chen, Hong Zhou, Hui-Ping Chen and Lei-Shi Li. Glomerular expression of C-C chemokines in different types of human crescentic glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 1526–1534.
56. Danilewicz M, Wagrowska-Danilewicz M. Differential glomerular immunoexpression of matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 in idiopathic IgA nephropathy and Schoenlein-Henoch nephritis. *Folia Histochemica Et Cytobiologica* 2010; 48 (1): 63-67.
57. Chung WY, Kim YJ. Expression of Ki-67 antigen using monoclonal antibody MIB-1 in children with post-streptococcal glomerulonephritis. *Pediatr Nephrol* 2000; 14: 389–392.
58. Dalkılıç E, Filiz G, Yavuz M, Dilek K, Ersoy A, Yurtkuran M, et al. Ki-67 Proliferation Index in Renal Biopsy Samples of Patients With Systemic Lupus Erythematosus and Its Correlation with Clinical Findings. *IJKD* 2013; 7: 198-203.
59. Kim O. Immunohistochemical Study of the Expression of -Smooth Muscle Actin and the Proliferation Marker Ki-67 of Glomerulonephritis. *J Korean Med Sci* 2001; 16: 455-61.
60. Uğuz A, Gönülşen G, Ergin M, Tuncer İ. Expression of Fas, Bcl-2 and p53 molecules in glomerulonephritis and their correlations with clinical and laboratory findings. *Nephrology* 2005; 10: 311–316.
61. Rodrigez-Lopez AM, Flores O, Arevalo MA, Lopez-Novoa JM. Glomerular Cell proliferation and Apoptosis in Uninephrectomized Spontaneously Hypertensive Rats. *Kidney Int* 1998; 54: 36-40.
62. Nakopoulou L, Stefanaki K, Papadakis J, Boletis J3, Zeis PM, Kostakis A, Vosnides Gr. Expression of bcl-2 oncoprotein in various types of glomerulonephritis and renal allografts. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11: 997-1002.
63. Nitta K, Horita S, Honda K, Uchida K, Watanabe T, Nihei H, Nagata. Glomerular expression of cell-cycle-regulatory proteins in human crescentic glomerulonephritis. *Virchows Arch* 1999; 435: 422–427.

64. Ok E, Töz H, Şen S, Saydam G, Özkahya M, Töbü M, Karabulut B, Atabay G. 532 böbrek biyopsisinde kresentik glomerülonefrit sıklığı ve klinik seyri. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* 1997; 6: 31–33.
65. Ünal A, Sipahioğlu MH, Tokgöz B, et al. Hızlı ilerleyen glomerülonefrit tanısı konulan olguların retrospektif analizi. *Türk Nefroloji, Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* 2008; 17: 10-15.
66. Güllülü M, Ersoy A, Aslanhan İ, Güçer Ş, Yavuz M, Dilek K, Filiz G, Tınaztepe K, Yurtkuran M. Rapidly progresif glomerülonefrit öntanısıyla renal biyopsi yapılan 35 olgunun analizi. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi* 2001; 21: 245-248.
67. Bayındır-Akbaş AN. Kresentik Glomerülonefritli Vakalarımızın Değerlendirilmesi. TC Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Bursa 2011.
68. Koyama A, Yamagata K, Makino H, Arimura Y, Wada T, Nitta K, et al. Japan RPGN Registry Group. A nationwide survey of rapidly progressive glomerulonephritis in Japan: etiology, prognosis and treatment diversity. *Clin Exp Nephrol* 2009; 13: 633-50.
69. Savage COS. ANCA-associated renal vasculitis. *Kidney Int* 2001; 60: 1614–27.
70. Hedger N, Stevens J, Drey N, et al. Incidence and outcome of pauci-immune rapidly progressive glomerulonephritis in Wessex, UK: a 10-year retrospective study. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 1593-9.
71. Hung PH, Chiu YL, Lin WC, et al. Poor renal outcome of antineutrophil cytoplasmic antibody negative pauci-immune glomerulonephritis in Taiwanese. *J Formos Med Assoc* 2006; 105: 804–12.
72. Garovic VD, Clarke BL, Chilson TS, Specks U. Diabetes insipidus and anterior pituitary insufficiency as presenting features of Wegener's granulomatosis. *Am J Kidney Dis* 2001 Jan; 37(1): E5.