

TEŞEKKÜR

Asistanlığım süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım bağta tez hocam Dr. Öğr. Üyesi Çiğdem Özdemir olmak üzere tüm AKÜ Tıp Fakóltesi Tıbbi Patoloji A.D öğretim üyelerine eğitim sürem boyunca yaptıkları katkılardan dolayı teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca bana destek olan ArĖ. Gör. Tuba Yiğit, ArĖ. Gör. Suna Turna, ArĖ. Gör. Hasan Nadir Rana ve her zaman manevi desteğini hissettiğim canım dostum ArĖ. Gör. Hayriye Tokay’a teşekkür ederim.

Son olarak uzmanlık eğitimim süresince yanımda olduklarını her zaman hissettiren değerli aileme ve sevgili eÇime sonsuz teşekkürler.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.	I
İÇİNDEKİLER.	II
TABLolar.	V
ŞEKİLLER.	VI
I. GİRİŞ	1
II. GENEL BİLGİLER.....	2
21. BÖBREK ANATOMİSİ	2
2.1.1 Kan damarları ve lenfatikler	4
22. BÖBREK HİSTOLOJİSİ	6
2.2.1. Korteks.....	6
2.2.2. Medulla.....	6
2.2.3. Nefronlar.....	7
2.2.4. Glomerül.....	8
2.2.4.1. Glomerüler matriks	10
2.2.4.2. Jukstaglomerüler aparat (JGA)	11
2.2.5. Damarlar	12
2.2.6. Renal tübüller.....	12
2.2.6.1. Proksimal tübül	12
2.2.6.2. Henle kulpu.....	13
2.2.6.3. Distal tübül.....	13
2.2.6.4. Bağlayıcı tübül	13
2.2.6.5. Toplayıcı duktuslar	13
2.2.7. Renal interstisyum	14
23. BÖBREĞİN FİZYOLOJİSİ	14
24. BÖBREK HASTALIKLARINA YAKLAŞIM.....	16
2.4.1. Akut böbrek hastalığı.....	16
2.4.2. Kronik böbrek hastalığı	17
25. GLOMERÜLER HASTALIKLAR.....	17
2.5.1. Minimal Değişiklik Hastalığı	19
2.5.2. Fokal Segmental Glomerüloskleroz	20
2.5.3. Membranöz Glomerülonefrit.....	23

2.5.4.	IgA Nefropatisi (Berger Hastalığı)	25
2.5.5.	Lupus Nefropatisi	28
2.5.6.	Diyabetik Nefropati	32
26.	TÜBÜLOİTERSTİYEL HASTALIKLAR	33
2.6.1.	Tübülointerstisyel nefrit (TIN)	33
2.6.1.1.	Primer Akut TIN	34
2.6.1.2.	Kronik TIN.....	35
27.	İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BELİRTEÇLER	37
2.7.1.	CD4 ve CD8	37
2.7.2.	SMA.....	40
2.7.3.	TGF- β	43
III.	GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	47
3.1.	İMMÜNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEM	49
3.2.	İMMÜNOHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRME	52
3.3.	İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	55
IV.	BULGULAR.....	56
V.	TARTIŞMA.....	64
VI.	SONUÇLAR.....	72
VII.	ÖZET	77
VIII.	SUMMARY.	78
VIII.	KAYNAKLAR	79

TABLÖLAR

Tablo 1. Glomerülonefritlerin patolojik olarak sınıflaması.	17
Tablo 2. Glomerülonefritlerin klinik olarak sınıflaması.	18
Tablo 3: Membranöz Nefropatinin Histopatolojik Evreleri.	25
Tablo 4. IgA Nefropatisinin histolojik sınıflaması.....	27
Tablo 5: İmmünohistokimyasal boyama için kullanılan aktin antikorları.	40
Tablo 6: İmmünohistokimyasal uygulama prosedürü.	49
Tablo 7: Verilerin tanımlayıcı özellikleri.....	56
Tablo 8: Hastaların klinik verileri.	57
Tablo 9: TIN ve GN’lerde SMA ve TGF- β belirteçlerinin immünoreaktivite dereceleri	58
Tablo 10: TIN ve GN’lerde CD4 ve CD8 pozitif T lenfosit miktarları.	59
Tablo 11: Glomerülonefritlerde SMA ve TGF- β boyalarıyla klinik verilerin korelasyonu	60
Tablo 12: TIN’lerde SMA ve TGF- β boyalarıyla klinik verilerin korelasyonu	60
Tablo 13: Glomerülonefritlerde CD4+ ve CD8+ T lenfosit miktarlarıyla klinik verilerin korelasyonu.....	61
Tablo 14: TIN’lerde CD4+ ve CD8+ T lenfosit miktarlarıyla klinik verilerin korelasyonu.	62
Tablo 15: İmmünohistokimyasal belirteçlerin birbirleriyle olan korelasyonu	63

ŞEKİLLER

Şekil 1: Böbreğin anatomik yapısı	3
Şekil 2: Böbreğin kan damarları.....	5
Şekil 3: Nefronun Yapısı	7
Şekil 4. Bowman kapsülü ve glomerülün Çematik görünümü.....	8
Şekil 5: Glomerüler hücrelerin Çematik görünümü	9
Şekil 6: JGA'ın Çematik görünümü.....	11
Şekil 7: Doku hasarı ve inflamasyonun karşılıklı ilişkisi.....	37
Şekil 8: Doku fibrozisinde TGF- β 'nın rolü.....	44
Şekil 9: Glomerüler derece 2 ve interstisyel derece 1 TGF- β boyanması.....	52
Şekil 10: İnterstisyel derece 3 SMA boyanması.	53
Şekil 11: Glomerüler derece 3 SMA boyanması.....	53
Şekil 12: Glomerüler ve interstisyel CD8 pozitif boyanan T lenfositler.....	54
Şekil 13: Glomerüler ve interstisyel CD4 pozitif boyanan T lenfositler.....	55

1- GİRİŞ VE AMAÇ

Her yıl milyonlarca insan böbrek hastalıklarından etkilenmektedir. Diyaliz ve transplantasyon, daha önce böbrek yetmezliğinden ölmesi beklenen birçok hastayı yaşatabildiği için böbrek hastalarının sayısı son yıllarda çok artmıştır. Bu tedavi programlarının maliyeti ise çok yüksektir. Böbrek hastalıklarının hekimler için diğer bir önemi de ölümlerin genç yaşta olmasıdır. Bu yüzden bizim erken ve doğru tanı koymamız çok önemlidir.

Böbrek biyopsileri renal parankimal hastalıkların tanısında kullanılan ve altın standart olarak kabul edilen bir yöntemdir. Sebebi anlaşılamayan böbrek kayıpları ve renal disfonksiyonla birlikte olsun ya da olmasın glomerüler hematüri/proteinüri böbrek biyopsilerinin primer endikasyonlarıdır. Böbrek biyopsisi tanının konmasına ek olarak hastalığın prognozunu ve tedavisinin belirlenmesinde de yararlıdır.

Hemen hemen tüm progresif renal hastalık tiplerinin ortak uç noktası tübülointerstisyel fibrozistir. Fibrozis normal bir fizyolojik işlem olmasına rağmen -kalıcı doku hasarına yanıt olarak- eğer kontrolsüz bırakılırsa, anormal doku remodellingine ve kalıcı skarlaşmaya yol açabilir. Interstisyel fibrozisin şiddeti böbrek sağkalımının kesin bir göstergesidir. İnflamatuvar mikroçevre, hasardan sonra renal fibrozis başlangıcında çok önemli bir rol oynar. İnflamatuvar hücrelerin peritübüler infiltrasyonu renal interstisyel fibrozisin yaygınlığını ve süresini belirler. Bunları göstermek için inflamatuvar mikroçevreyi oluşturan ve renal fibroziste de regülatör rol oynayan CD4+ ve CD8+ T hücrelerini, renal dokuda ekstraselüler matriks komponentlerinin ve mezengial hücrelerin üretimini artıran, renal hasarda kritik rol oynayan ve epitelyal-mezenkimal geçişi sağlayan TGF- β 'yı ve renal fibroziste rol oynayan aktive fibroblast markerı olan SMA'yı glomerülofritlerde ve tübülointerstisyel nefritlerde çalıştık. Çalışmamızda bu belirteçlerle hemoglobin, proteinüri, serum kreatinin ve glomerüler filtrasyon hızı gibi klinik prognostik parametrelerin korelasyonlarının belirlenerek bu belirteçlerin klinik gidişatı öngörmede kullanılıp kullanılamayacağı araştırılmıştır.

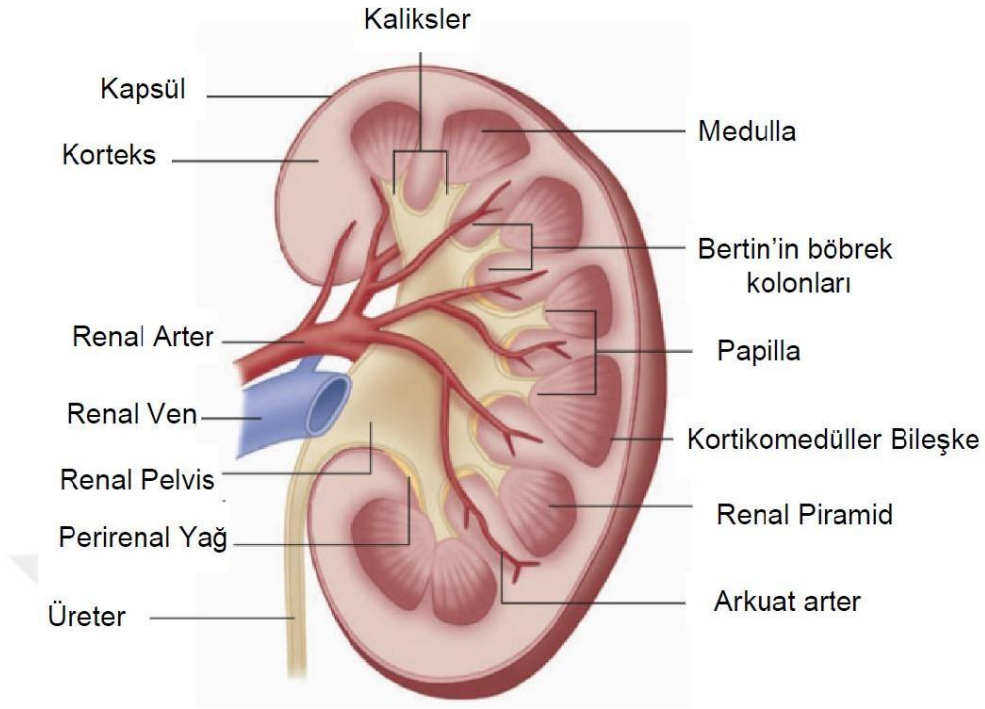
I. GENEL BÖLGELER

2.1. BÖBREK ANATOMİSİ

Böbrekler T12 – L3 vertebralar boyunca 2 tarafta yer alan retroperitoneal yerleşimli gerato fasyası ile çevrili organlardır (1). Sağ böbrek sola göre biraz daha aşağıdadır ve biraz daha küçüktür. Erişkin erkekte 125-170 gr, kadında 115-155 gr ağırlığında ve ortalama 12x7x3 cm boyutlarındadır (2). Sağ böbrek üstte sürrenal, önde karaciğer, hilum yakınlarında duodenum, vena kava inferior ve altta çıkan kolon ile komşudur. Sol böbrek üstte sürrenal, dalak, hilum dolaylarında pankreas kuyruğu ön üstte jejunum ve inen kolonla komşudur (3). Böbrek yüzeyinden kolayca ayrılabilen ince, düzgün, fibröz bir kapsüle sahiptirler (2). Böbrekler her iki tarafta kapsül ve bunların yüzeyinde, anteriorda Gerota fasyası, posteriorda Zuckerkandl fasyası ile çevrilir. Renal kapsül ile fasyalar arasındaki boşluğa perirenal boşluk, Gerota fasyası önündeki retroperitoneal boşluğa ise pararenal boşluk adı verilir (4).

Böbreği içten dışa doğru capsula fibrosa, capsula adiposa ve fascia renalis olmak üzere üç kılıf sarar. Capsula fibrosa; böbreği dıştan saran, ince fakat sağlam fibröz bir kılıftır. Capsula adiposa (perirenal yağ tabakası); capsula fibrosayı dıştan saran bir yağ tabakasıdır. Bu yağ tabakasının kalınlığı şahsın şişmanlık durumuna bağlı olarak değişir. Ancak, böbreğin ön yüzünde, diğer yüz ve kenarlarına oranla daha az miktarda bulunur. Bu yağ dokusu böbrek hilusundan geçerek sinüs renalise girer ve sinüs renalisteki yapılar arasında kalan boşlukları doldurur (4,5).

Taze bir böbreği kenarlarından geçen bir kesitle ikiye ayırarak kesit yüzeyi incelendiğinde, renk ve fonksiyon bakımından farklı iki bölümden oluştuğu görülür (Şekil 1).



Şekil 1: Böbreğin anatomik yapısı (6)

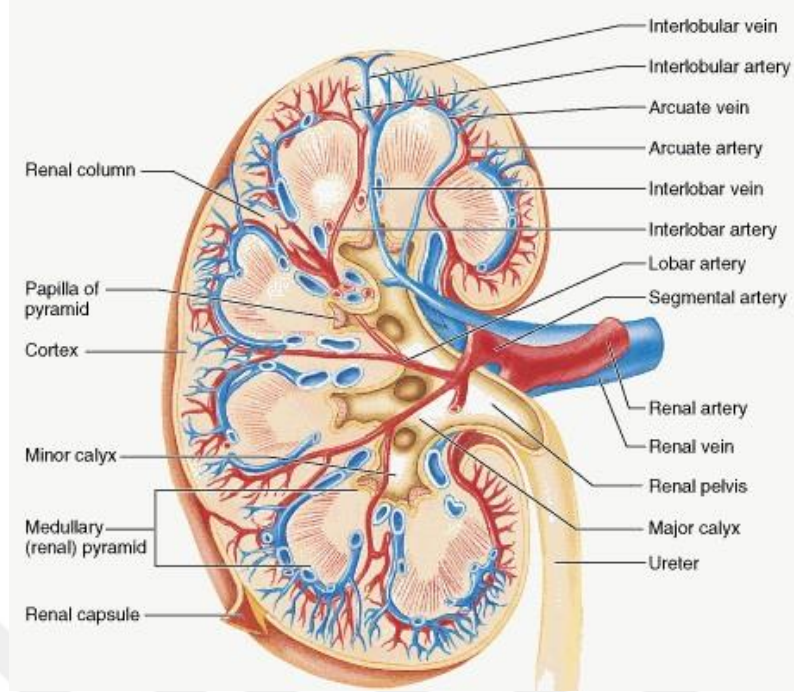
Daha açık renkli (kırmızı) olan dış kısmına renal korteks, daha koyu renkli (kahverengi-kırmızı) ve çizgili görünümlü olan iç kısmına ise renal medulla denir. Orta kısmında bulunan boşluğa ise sinüs renalis adı verilir (4). Medulla renalis, pyramis renalis (Malpighi piramitleri) denilen 8–10 adet (bazen 18–20) koni şeklindeki yapılar oluşturur. Bu piramitlerin basis pyramidis denilen taban kısımları böbreğin dış yüzüne, papilla renalis denilen tepe kısımları ise sinüs renalis bakar. Pyramis renalisler birbirlerine değmeyecek şekilde sinüs renalis etrafında dizilmişlerdir. Bunların aralarında columna renalis (Bertini kolonları) denilen kortikal cevher uzantıları bulunur. Bir böbrekte piramit sayısı kadar böbrek lobu bulunur. Cortex renalis, papillaları hariç olmak üzere, pyramis renalislerin her tarafını saran böbrek dokusudur. Kortikal cevherin iki bölümü vardır. 6 mm kalınlığındaki birinci bölümü, böbreği bir kabuk gibi sarar. Bu bölüm, capsula fibrosa ile pyramis renalislerin taban kısımları arasında bulunur. İkinci bölüm ise böbrek piramitleri arasında bulunur (7). Böbreğin bir başka komponenti medial yüzünde yer alan konkav yapıdaki hilustur. Hilus, renal

kaliksler, pelvis, böbreği besleyen ana vasküler oluşumlar ve nöral yapıları içerir. Tüm bu yapılar yoğun vaskülarizasyona sahip bağ dokusu ile çevrilidir (1).

2.1.1. Kan damarları ve lenfatikler

Böbrekler kan akımı oldukça yüksek organlardır. Kardiak akımın %25'i böbreklerden geçer. Korteks damarlardan daha zengindir ve renal kan akımının %90'ı kortekse gider (8).

Arteria renalisler 2. lumbar vertebra düzeyinde, aorta abdominustan çıkarlar. Sağ renal arter daha uzun ve aşağı doğru daha eğiktir. Arterler hilusa girmeden önce a. suprarenalis inferior ve rami ureterici dallarını verirler. Hilusun hemen başlangıcında renal arter 5 segmental dala ayrılır (5). Segmental arterler arasında kollateraller bulunmaz. Dolayısıyla bu damarlarda bir tıkanma söz konusu olduğunda doku infarktı ile sonuçlanır (8). A. renalis segmentalislerin her biri bir vasküler böbrek segmentine giderler. Her bir segmental arter, böbrek dokusuna girmeden önce 2-3 a. interlobarise ayrılır. Bunlar renal pyramidlere yakın olarak, columna renalisin her iki kenarında seyrederek. Parankime hiç dal vermezler. Kortikomedüller birleşme köşesinde, medüller pyramidin basisi boyunca seyreden a. arcuata dallarına ayrılırlar. Komşu a. interlobaris ve üst arcuata birbiri ile anastomoz yapmazlar. A. arcuata kortekste yüzeye kadar çıkan bağımsız a. interlobularisler ayrılırlar. A. interlobularislerden renal glomeruluslara arteriola afferentisler çıkar. Arteriola afferentisler aralarında anastomoz olmayan glomerulus yumağını yaparlar. Bu yumaktan sonunda bir arteriola efferentis çıkar. A. interlobularisler capsula renalisine doğru dikey olarak seyrederek, uçları kapsülün altında a. stellares adıyla yıldız biçiminde sonlanır. Venleri arterlerle yandaşırlar ve aynı ismi alırlar (5, 9) (Şekil 2).



Şekil 2: Böbreğin kan damarları (10)

Böbrekler dual bir lenfatik sisteme sahiptir (11). Major lenfatik drenaj damar ağı ile birlikte seyrederek. Lenfatikler periferik interlobüller arterlerin adventisiasında küçük damarlar olarak başlar. Çok fazla sayıda ulaşırlar ve kortikomedüller bileşkeden geçerek renal hilusa girerler. En sonunda hiler ve lateral paraaortik lenf nodlarında sonlanırlar (11,12). İkinci lenfatik sistem renal kapsül içinde bulunur. Drenajının büyük kısmını süperfisyal korteksten alır. Kapsül boyunca ve hilus çevresinde ilerler ve renal hilusta major lenfatik akıma karışır (13).

2. BÖBREK HİSTOLOJİSİ

2.2.1. Korteks

Böbrek korteksi Bertini kolonları dışında yaklaşık olarak 1 cm kalınlığa sahiptir ve kortikal labirent ve medüller ışınlar olmak üzere iki bölüme ayrılır (14). Kortikal labirentin büyük kısmını proksimal kıvrımlı tübüller oluşturur. Kortikal labirentin santralinde superfisyal nefronların düz tübülleri, periferinde midkortikal nefronların düz tübülleri yer alırken bunların arasında da toplayıcı duktuslar bulunur. Medüller ışın medullanın korteks içine bant şeklinde uzanmış bölümlerini temsil eder ve kortikomedüller bileşkeye dikey olarak sıralanırlar. Superfisyal ve midkortikal nefronlara ait proksimal ve distal düz tübüller ile toplayıcı duktusları içerir (15).

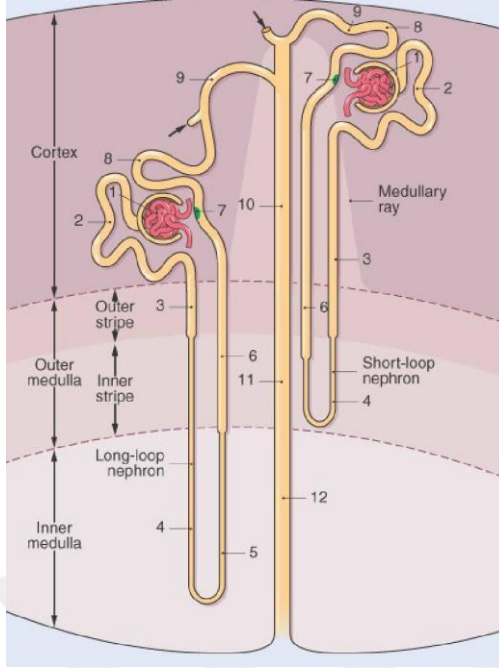
2.2.2. Medulla

Medulla, dış medulla ve iç medulla olmak üzere iki ana kısımdan oluşur. Dış medullada dış çizgi ve iç çizgi bölümlerine ayrılır. Anatomik sınırları tübüller içeriklerine göre tanımlanmıştır (16).

Dış çizgi renal medullanın en ince kısmını oluşturur. Henle kulpu çıkan kalın kolu, kollektör kanallar, proksimal tübülün düz kısımlarının devamını içerir.

İç çizginin başlangıcı, proksimal tübül düz kısmının, henle kulpu inen ince kola geçişi olarak tanımlanır.

İç medulla; henle kulpu çıkan ince kolun, henle kulpu çıkan kalın kola dönüştüğü noktada başlar. Bu nedenle derin korteks ve kollektör kanalların uzun kıvrımlı nefronlarından kaynaklanan henle kulpu inen ince kol ve çıkan ince kolu içerir (17) (Şekil 3).



Şekil 3: Nefronun Yapısı 1. Glomerül ve Bowman kapsülü, 2. Proksimal kıvrımlı tübül, 3. Proksimal düz tübül (pars rekta), 4. İnce inen kol, 5. İnce çıkan kol, 6. Kalın çıkan kol, 7. Makula densa, 8. Distal kıvrımlı tübül, 9. Bağlayıcı tübül, 10. Kortikal toplayıcı kanal, 11. Dış medüller toplayıcı kanal, 12. İç medüller toplayıcı kanal. (18)

2.2.3. Nefronlar

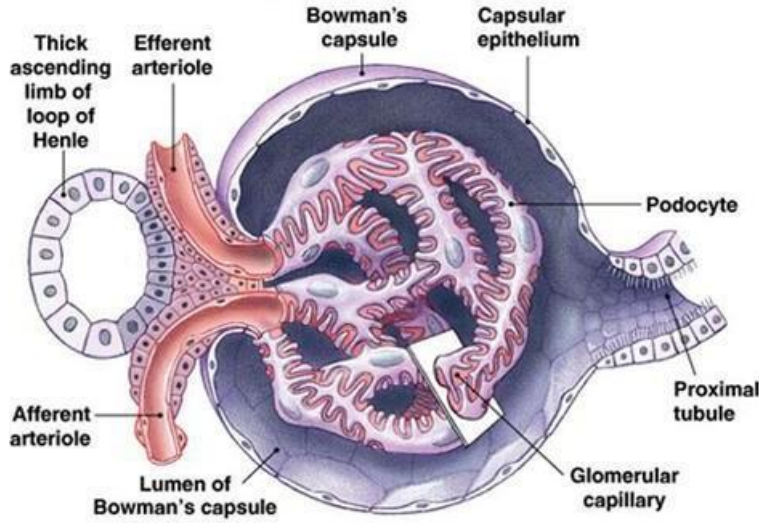
Nefron böbreğin işlevsel ünitesidir. Glomerül ve o glomerüle ait proksimal kıvrımlı tübül, Henle kulpunun ince ve kalın kısımları ve distal kıvrımlı tübülden oluşmaktadır. Bir böbrekteki nefron sayısı; hipertansiyon gelişimi ve kronik böbrek hastalıklarının progresyonunda rol oynadığından dolayı oldukça önem taşımaktadır. Nefron sayısı kişinin kilo ve yaşına bağlı olarak değişkenlik gösterir (19).

Nefronlar hem kortekste ki yerleşim yerlerine göre hem de fonksiyonlarına göre sınıflandırılırlar. Kortekste ki yerleşim yerlerine göre nefronlar superfisyal, midkortikal ve jukstamedüller olarak üç gruba ayrılır (15). Superfisyal nefronlar dış kortekste, jukstamedüller nefronlar kortikomedüller bileşkenin derininde ve midkortikal nefronlar bu ikisini arasında bulunurlar (20). Nefronlar da sıklıkla

Henle kulpunun uzunluklarına göre fonksiyonel olarak sınıflanırlar. Kısa Henle kulpuna sahip olan nefronlar superfisyal ve midkortikal alanda yerleşmişlerdir ve dış medullanın iç kısmından geri kortekse doğru dönerler. Jukstamedüller ve bazı derin midkortikal nefronlar uzun Henle kulpuna sahiptirler ve kortekse doğru dönmeden önce iç medullaya kadar inerler (21).

2.2.4. Glomerül

Bowman kapsülü ile çevrili bağ doku içerisindeki sferik ya da elipsoid şekilli matriks ve kapillerler yumağıdır. Erişkin bir insanda glomerül yaklaşık olarak 200 µm çapa sahiptir. Glomerüler yumak Bowman boşluğu adı verilen içi sıvı dolu bir kavite içinde yüzer ve vasküler kutup ile Bowman kapsülüne bağlıdır. Glomerüler yumak, glomerüler kapillerler ve glomerüler mezengiumdan oluşur. Bowman kapsülü proksimal kıvrımlı tübülün dilate olmuş bir uzantısıdır (22,14). Glomerülün vasküler kutbu ve üriner kutbu sıklıkla karşılıklı olarak bulunur (Şekil 4).



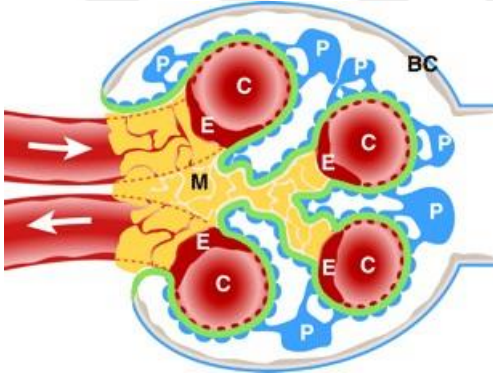
Şekil 4. Bowman kapsülü ve glomerülün şematik görünümü (23)

Glomerüler kapillerler vasküler sistem içinde özel bir yere sahiptir; iki arterioler sistem arasında bulunur. Bu dizilim glomerüler filtrasyon için gereken intravasküler basıncı sürdürmek ve ayarlanmasına izin vermek için gereklidir (24).

Glomerüler yumak afferent arteriolden oluşur. Afferent arteriol Bowman kapsülüne girdiğinde glomerüler kapillerleri oluşturmak için hemen dallanır. Kapillerler arasında çok sayıda anastomoz vardır ve kapillerleri lobüllere ayırarak kapiller ağı meydana getirirler (25). Efferent alandaki kapillerler efferent arteriölü oluşturmak için vasküler kutupta birleşirler. Bu birleşim glomerüler yumak içinde oluşur ve afferent arteriol olarak glomerüler yumağa giriş yapan, efferent arteriölü olarak glomerüler yumaktan çıkan iki başlangıç dalına ayrılır (26). Afferent arteriöl efferent arteriolden daha geniş çaptadır ve daha geniş lümene sahiptir.

Glomerüler yumak ekstraselüler matriksin iki ayrı formu tarafından desteklenir; mezengial matriks ve glomerüler bazal membran (GBM). Mezengial matriks aksiyal dallanmalar ile santral iskelet fonksiyonu sağlar. Kapiller boşluklar ise kendi bazal membranları tarafından desteklenir.

Glomerüller; mezengial hücreler, endotelial hücreler ve epitelyal hücreler olmak üzere üç hücre tipinden oluşur (14) (Şekil 5).



Şekil 5: Glomerüler hücrelerin şematik görünümü. M: mezengial hücre, E: endotelial hücre, P: Podosit, BC: Bowman kapsülü, C: Kapiller lümen (27)

Mezengial hücreler; mezengial matriks içinde oturur. Sitoplazmik çıkıntılar matriks boyunca dallanmalar yaparak endotele, GBM'ına ve diğer mezengial hücrelere uzanır (28). Endotelial hücreler; glomerüler kapillerlerin iç yüzeyini döşerler ve sıklıkla kapiller lümen içerisine projekte olurlar (29). Epitelyal hücreler; podosit olarak da bilinen visseral epitelyal hücreler ve paryetal epitelyal

hücreler olmak üzere ikiye ayrılır. Podositler, glomerül içindeki en büyük hücreler olup, kapiller lümenlerin dış yüzeyi boyunca yerleşirler (30). Paryetal epitelyal hücreler (PEH) ise, Bowman kapsülünün iç yüzeyini tamamen döşeyen ince skuamöz benzeri epitelyal hücrelerdir (31).

2.2.4.1. Glomerüler matriks

Böbreğin ekstraselüler matriksi; filtrasyon, hücre adezyonu, migrasyonu ve diferansiasyonu için sinyal iletimini sağlamak gibi çeşitli rollere sahiptir. Glomerül üç ayrı ekstraselüler matrikse sahiptir; glomerül bazal membranı, mezengium ve Bowman kapsülü. Bu matrikslerin her biri farklı fonksiyonlara ve moleküler bileşimlere sahiptir (32).

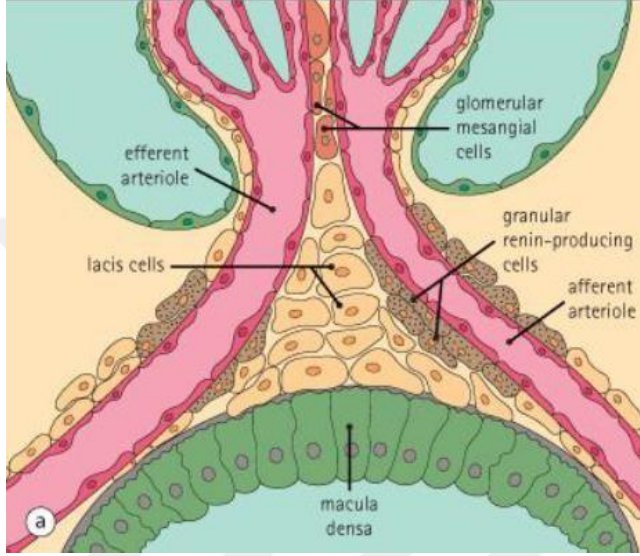
1) Glomerül Bazal Membranı: GBM kapiller filtrasyona katkıda bulunur, yapısal destek sağlar ve hücre polarizasyon ve iletişimini etkileyen reseptör görevi gören ligandlara sahiptir (33).

2) Mezengium: Mezengial hücreler ve mezengial matriksten oluşur. Mezengial matriks glomerüler altyapı sağlamak için ağaç benzeri dallanmalar yapar. Mezengial taban glomerüler vasküler sapta ekstraglomerüler mezengium ile devam eder ve jukstaglomerüler aparatı oluşturur (34).

3) Bowman Kapsülü: Bowman boşluğundaki glomerüler filtrat ve interstisyum arasındaki kalın bir bağ doku bariyeridir. İç yüzeyi boyunca paryetal epitelyal hücreler ile döşelidir. Bowman kapsülü üriner kutupta proksimal tübüler bazal membran olarak devam eder. Retiküler lifler Bowman kapsülü dış yüzeyini interstisyel bağ dokuya bağlarlar. İnterstisyel fibroblastlar, interstisyel matriks içinde glomerülün esas pozisyonuna iskelet sağlamak için Bowman kapsülüne katılırlar (35).

2.2.4.2. Jukstaglomerüler aparat (JGA)

JGA çıkan kalın kolun bitişini ve distal kıvrımlı tübülün başlangıcını işaret eder. JGA; makula densa (MD) isimli özelleşmiş epitelyal hücreler, afferent ve efferent arteriollerin bazı parçalarını içeren vasküler komponent, lacis hücresi olarak bilinen extraglomerüler hücrelerden oluşur (36) (Şekil 6).



Şekil 6: JGA'nın şematik görünümü (37)

JGA'nın vasküler komponenti afferent arteriolün terminal kısmı ve efferent arteriolün proksimal kısmını içerir. Afferent arteriol duvarında JGA'a doğru kutuplanmış, granüler myoepiteloid hücreler olarak bilinen dört, beş adet modifiye düz kas hücresinden oluşmuş küçük kümeler bulunur (38). Bu hücreler myofilamanlar ve bağlanma plakları içerir ve düz kas hücrelerinin diğer özelliklerine sahiptir. Bunun dışında renin ve anjiotensin II sentez ve sekresyonu için belirgin endoplazmik retikulum ve golgi aparatına sahiptirler (39).

2.2.5. Damarlar

Tüm arter ve arteriollerin intiması, kas tabakası ve adventisyası bulunur. Ana renal arter, interlobar arter ve arkuat arterler hem lamina elastika interna hem de lamina elastika eksternaya sahiptirler. Afferent arterioller ve efferent arterioller

lamina elastika interna ve eksterna içermezler (40). Afferent arterioller glomerüle girer girmez kapilerlere ayrılır. Efferent arterioller genellikle afferent arteriolden daha küçük çapa sahiptir. Dış korteks yerleşimli glomerüllerin efferent arteriyolleri glomerülden çıktıktan kısa bir süre sonra dallanarak kortikal peritübüler kapillerleri oluştururlar. Derin korteks yerleşimli glomerüllerin özellikle de jukstamedüller glomerüllerin efferent arteriyolleri ise medullanın derinine inen çok sayıdaki vasa rektaları oluşturur. Böbreğin lenfatikleri arterler çevresindeki bağ doku içine yerleşmişlerdir (41).

2.2.6. Renal tübüller

Renal korteks hacminin %80-90'ını oluştururlar ve kortekste sırt sırta vermiş halde bulunurlar. Medullada ise tübüller arasında daha geniş bir interstisyum izlenir. Tübülleri döşeyen epitel hücreleri, biyopsi hızlı fikse edilmediğinde dejenere olabilir. Tübüler sistem esas olarak proksimal tübül, distal tübül ve Henle kulpları olarak gruplara ayrılabilir (42).

2.2.6.1. Proksimal tübül

Glomerülün üriner polünde başlar ve yassı paryetal epitel hücreleri kolumnar proksimal tübül hücrelerine dönüşür. Proksimal tübül iki bölüme ayrılır; kortekste yer alan kıvrımlı kısmı pars konvoluta, medüller ışın içindeki düz kısmı pars rekta (42). Proksimal tübüllerin büyük kısmı korteks yerleşimli özellikle kortikal labirenttedir. Epitel hücreleri nükleusları merkezde yerleşen kolumnar/küboidal hücrelerdir. İçerdikleri çok sayıdaki mitokondri nedeniyle yoğun eozinofilik sitoplazmalara sahiptir. Apikal alanda periodik asid schiff (PAS) ile kolaylıkla görülebilen mikrovillus ya da fırçası kenar seçilebilir (43).

Proksimal tübüller, glomerüler ultrafiltratın yaklaşık %60'ından ve elektrolitler, bikarbonat, glikoz, amino asit gibi küçük moleküllerin geri emiliminden sorumludur (44).

2.2.6.2. Henle kulpu

İnen ince kol ve çıkan ince kola sahiptir. İnen ince kol, distal iç medulla içine doğru uzanır. Çıkan ince kol, iç medullada sınırlıdır. İnen ince kol ve çıkan ince kol epitelyal hücreleri fırçası kenarlardan yoksun, azalmış sitoplazmaya ve lümen içine çıkıntı oluşturan nükleuslara sahiptir (45). Henlenin ince kolları idrar yoğunluğunda etkilidir. İnen kolun suya geçirgenliği yüksek, sodyum klorüre (NaCl) geçirgenliği düşük olup çıkan ince kolda durum bunun tam tersidir (46).

2.2.6.3. Distal tübül

Çıkan kalın kol (ÇKK), distal kıvrımlı tübül (DKT) ve bu ikisinin arasında yer alan makula densa olmak üzere üç kısımdan oluşur. Makula densa; çıkan kalın kol ve distal kıvrımlı tübül arasındaki kavşak noktasını temsil eder. ÇKK iç ve dış medulla sınırından başlar, jukstaglomerüler aparatın bir parçası olan makula densa ile sonlanır. Makula densadan sonra DKT başlar (47). Suya geçirgenliği düşük olmakla birlikte bazolateral membranda yerleşen Na/K-ATPaz sayesinde aktif sodyum Emilimi yapar (48). Distal kıvrımlı tübül Na/K-ATPaz aktivitesi en yüksek olan tübül bölgesidir. Suya az geçirgen olup ağırlıklı olarak NaCl geri Emiliminden sorumludur (49). DKT kısa bir tübül segmenti olan bağlayıcı tübül aracılığı ile toplayıcı duktusa bağlanır.

2.2.6.4. Bağlayıcı tübül

Distal kıvrımlı tübül ile toplayıcı kanalları birbirine bağlar. Bağlayıcı tübül hücreleri ve interkale hücreleri içerir. Bağlayıcı tübül hücreleri, distal kıvrımlı tübül ve toplayıcı kanal hücrelerinin her ikisine de benzerlik gösterir.

2.2.6.5. Toplayıcı duktuslar

Toplayıcı duktuslar korteksten başlar, korteks boyunca aşağı doğru ilerler medüller ışın içine girer ve papillada sonlanır. Toplayıcı duktuslar kortikal parça,

iç medüller ve dış medüller parça olmak üzere üç kısımdan oluşur. Toplayıcı duktuslar principal ya da toplayıcı duktus hücreleri ve interkale hücreler olmak üzere iki hücre tipi içerir (50,51).

2.2.7. Renal interstisyum

Kortikal ve medüller interstisyum, ekstrasvasküler peritübüler alandır. İnterstisyum normalde belirgin değildir, özellikle de kortekste (52). Sitokinler, büyüme faktörleri ve diğer moleküllerin etkisi altında interstisyel hücreler miyofibroblast benzeri hücrelere transforme olurlar ve interstisyel fibrozis gelişimine katkıda bulunurlar (53). Kortikal interstisyum peritübüler interstisyum ve periarteryal bağ doku kılıfı olarak ikiye ayrılır. Peritübüler interstisyum komşu tübüller arasında kalan ince zonlar olarak tanımlanır. Periarteryal bağ doku kılıfı tüm arterleri çevreleyen sıvıdan zengin gevşek bağ doku halkasıdır. Fibroblast, makrofaj, küçük sinir lifleri ve lenfatikleri içerir. İntersitisyum medullada daha belirgindir ve en çok iç medulla interstisyum içerir (14,15).

23. BÖBREĞİN FİZYOLOJİ

Böbrekler filtrasyon, aktif emilim, pasif emilim ve salgılama işlevlerini kapsayan karmaşık bir dizi işlem aracılığı ile iç ortamın kimyasal bileşimini düzenler. Filtrasyon, kan plazması ultrafiltratının olduğu glomerülde gerçekleşir. Nefronun tübül kısımları özellikle proksimal kıvrımlı tübüller, filtrat içindeki vücut metabolizmasına yararlı olan maddeleri emer bu şekilde iç ortamdaki homeostazın devamını sağlar. Tübüller aynı zamanda idrarla atılan belli zararlı maddeleri, kandan tübül lümenine aktarır. Toplayıcı kanallar, belli koşullarda suya geçirgen hale geçerek kan plazmasından daha hipertonic olan idrarın konsantrasyonunu artırır.

İki böbrek dakikada 125 ml filtrat üretir; bu miktarın 124 ml,,si emilir ve yalnız 1 ml,,si idrar olarak kalikslere salınır. Her 24 saatte ortalama 1500 ml idrar oluşmaktadır. Erişkin bir kişide her iki böbreğe gelen kan dakikada 1,2-1,3 litreyi

bulur. Bu durum vücutta dolaşan bütün kanın her 4-5 dakikada bir böbrekten geçmesi anlamını taşır. Kanın hidrostatik basıncına yanıt olarak glomerüler filtrat oluşur. Glomerül filtratın kimyasal bileşimi kan plazmasına benzer ancak makromoleküller glomerül duvarını geçemediği için hemen hiç protein içermez.

Proksimal kıvrımlı tübüller filtrattaki glukoz ve aminoasitlerin tümünü, suyun ve sodyum klorürün % 85'ini ve ayrıca fosfat ve kalsiyumu emer. Bütün bunlara ek olarak proksimal kıvrımlı tübüller kreatinin gibi maddeleri ve paraaminohippurik asit, penisilin ve iodyopyracet (kontrast madde) gibi vücuda yabancı olan maddeleri idrara salgılar. Bu maddelerin sekresyon hızının belirlenmesi böbrek işlevlerinin klinik açıdan değerlendirilmesinde yardımcıdır.

Henle kulpu su tutma işleminde rol oynar. Burada toplayıcı kanallardan geçen idrarın konsantrasyonunu etkileyen medüller interstisyumdaki hipertonic gradyanı oluşturur.

Distal kıvrımlı tübüllerde iyon değişimi gerçekleşmektedir. Aldosteron konsantrasyonu yeterince yüksek olduğunda distal kıvrımlı tübüllerde sodyumun emildiği, potasyum iyonlarının dışarı verildiği bir iyon değişim bölgesi bulunur. Burası vücuttaki total su ve tuzları kontrol eden düzeneğin bulunduğu bölgedir. Distal tübül aynı zamanda tübüldeki idrara hidrojen ve amonyum iyonlarını sağlar. Bu etkinlik kandaki asit-baz dengesinin korunmasında çok önemlidir.

Toplayıcı kanalların epiteli arka hipofizden salgılanan antidiüretik hormona duyarlıdır. Su alımı azaldığında ADH salgılanır ve toplayıcı kanalların epiteli suya geçirgen hale geçer (54).

24. BÖBREK HASTALIKLARINA YAKLAŞIM

Klinik sendromlar böbrek hastalıklarının değerlendirilmesi ve tanımlanmasında başlangıç noktası olarak kullanışlıdır. Böbrek hastalıkları oldukça farklı klinik tablolarla ortaya çıkabilmektedir. Tamamen asemptomatik olabilecekleri gibi, hematüri, yan ağrısı gibi böbreğe ait bulgular ya da ödem, hipertansiyon gibi böbrek dışı bulgular verebilir. Ancak olguların çoğu rutin tetkikler sırasında yüksek plazma kreatinin değerleri ya da anormal idrar analizi bulguları ile ortaya çıkar. Glomerüler kapiller duvar hasarı ile ilişkili akut nefrit, nefrotik sendrom (NS), asemptomatik hematüri ve proteinüri, hızlı ilerleyen progresif glomerülonefrit gibi sendromlar glomerüler hastalıklar için oldukça spesifiktir (55).

Böbrek hastalıklarının değerlendirilmesine de tüm disiplinlerde olduğu gibi öykü ve fizik muayene ile başlanmalıdır. İncelemeye ön tanılara göre önce girişimsel olmayan, sonra biyopsi gibi girişimsel yöntemlerle devam edilmelidir. Bu bağlamda öncelikle hastalığın akut böbrek hastalığı ya da kronik böbrek hastalığı ayrımının yapılması gerekmektedir.

2.4.1. Akut böbrek hastalığı

Glomerüler filtrasyon hızının (GFH) saatler ya da birkaç hafta içinde ani olarak azalması olarak tanımlanır. Akut böbrek hastalıkları başlıca üç gruba ayrılabilir:

Prerenal; gastrointestinal sistemden kayıp, yanıklarda deri yoluyla kayıp, üçüncü boşluğa kayıp, konjestif kalp yetmezliği, karaciğer sirozu gibi gerçek hacim açığı yaratan durumlarda görülür.

Renal; glomerüler, tübüler, interstisyel ve vasküler hastalıkları içerir.

Postrenal; pelvik ya da retroperitoneal malignite ya da fibrozis, taş hastalığı ve konjenital anomaliler gibi obstruksiyon yaratan durumlarda görülür.

2.4.2. Kronik böbrek hastalığı

Glomerüler filtrasyon hızında azalmaya eşlik etsin ya da etmesin patolojik, biyokimyasal ya da görüntüleme yöntemleri ile üç ay ya da daha uzun süreli böbrek hasarının olması olarak tanımlanır. Son döneme kadar genellikle bulgu vermez. Etiyolojide diyabetes mellitus, hipertansiyon ve kronik glomerülonefritler büyük yer kaplamaktadır (56).

25. GLOMERÜLER HASTALIKLAR

Glomerülonefrit (GN) terimi genellikle immunolojik mekanizmalarla ortaya çıkan primer glomerüler hastalıklar için kullanılan bir isimlendirmedir. Bazı glomerülonefritlerde glomerüllerde hiperselüler ve proliferatif lezyonlar oluşmakta (proliferatif) iken bazılarında hiperselülerite ve proliferasyon ön planda bulunmaz (non-proliferatif). Bazı glomerülonefritlerde ise bazen proliferatif bazen non-proliferatif olarak karşımıza çıkabilmektedir. Patologlar glomerülonefritleri daha çok proliferatif ve non-proliferatif olarak sınıflandırırken (Tablo 1) klinisyenler klinik bulgularına göre nefrotik sendrom ve nefritik sendrom ile bulgu verenler olarak sınıflandırır (57) (Tablo 2).

Tablo 1. Glomerülonefritlerin patolojik olarak sınıflaması

Non Proliferatif Glomerülonefrit (Nefrotik Sendrom)	Proliferatif Glomerülonefrit (Nefritik Sendrom)
• Primer: ▪ MDH, FGS, MGN • Sekonder ▪ Amiloidoz, Diyabet	• Primer: ▪ MPGN, IgA nefropatisi • Sekonder ▪ PEGN ▪ Vaskülitler ▪ Good Pasture Sendromu

Tablo 2. Glomerülonefritlerin klinik olarak sınıflaması

Nefrotik sendrom ile ilişkili glomerüler hastalıklar • Minimal değişiklik hastalığı • Fokal segmental glomerüloskleroz • C1q nefropatisi • Membranöz glomerülonefrit • Amiloidoz • Fibriler glomerülonefrit • Hafif zincir depozit hastalığı • Ağır zincir depozit hastalığı • Konjenital nefrotik sendrom	Akut nefritik sendrom ile ilişkili glomerüler hastalıklar • Diffüz proliferatif glomerülonefrit ▪ Akut poststreptokokal glomerülonefrit • Membranoproliferatif glomerülonefrit ▪ Tip 1 MPGN ▪ Tip 2 MPGN ▪ Tip 3 MPGN • IgA nefropatisi • Kresentik glomerülonefrit ▪ Antiglomerüler bazal membran hastalığı ▪ İmmunkompleks kresentik glomerulonefrit ▪ Pauci immun kresentik glomerulonefrit • Lupus nefriti
Vasküler hastalıklar ile ilişkili glomerüler hastalıklar • PAN • Mikroskopik polianjitis • Wegener granülomatozu • Churg-strauss sendromu • Henoch-schönlein purpurası • Hemolitik üremik sendrom ve trombotik trombositopenik purpura	Hereditör glomerüler hastalıklar • Alport sendromu • İnce membran hastalığı • Fabry hastalığı • Nail patella sendromu • Kollojen tip3 glomerülopatisi • Fibronektin glomerülopatisi

Nefrotik sendrom; ödem, proteinüri (erişkinde $\geq 3,5$ gr/gün, çocuklarda >40 mg/saat/ m^2), hipoalbuminemi, hiperlipidemi ile karakterize çoğunlukla sinsi seyirli klinik bir sendromdur. Nefritik sendrom ise; hematüri, proteinüri, hipertansiyon ve azotemiden oluşan, glomerül kapillerlerinde inflamatuvar hasar ile karakterli bir klinik sendromdur. Klinisyenler ile patologların sınıflamaları kabaca ele alındığında; klinik olarak nefrotik sendrom ile bulgu veren hastalıklar mikroskobik olarak çoğunlukla non-roliferatif lezyonlar ile seyrederken, nefritik sendrom ile bulgu veren olgular genellikle mikroskobik olarak proliferatif lezyonlar içerirler (58).

2.5.1. Minimal Değişiklik Hastalığı (MDH)

İdiyopatik nefrotik sendromun ana nedenlerinden birisidir. Patolojik olarak ışık mikroskopik incelemede glomerüler lezyonun olmadığı ya da minimal olduğu, herhangi bir immün birikimin izlenmediği, elektron mikroskopik incelemede ayaksı çıkıntılarda düzleşmenin saptandığı hastalık olarak tanımlanır. Çocuklarda nefrotik sendromun en sık nedenidir. Ödem en sık rastlanan klinik bulgudur. Periorbital bölgede başlayan ödem alt ekstremitte ödemi ile belirgin hale gelir. Mikroskopik hematüri bulunabilmesine rağmen makroskopik hematüri nadirdir. Kan basıncı başlangıçta sıklıkla normaldir ancak %20'den az hastada hipertansiyon görülür. Proteinüri hemen her zaman seçicidir. Hastalık alevlenme ve remisyonlarla seyredebilir (59).

Etyopatogenezi: Minimal değişiklik hastalığının etyolojisi bilinmemektedir. Anormal T hücre fonksiyonu ve immün disregülasyonun rolünün olduğu, steroidlere yüksek yanıt oranı, lenfoid malignansiler, atopi ve diğer allerjik durumlarla ilişkilendirilmesi ile desteklenmektedir. Artan glomerüler kapiller duvar geçirgenliğine neden olan dolaşımdaki "permeabilite faktörleri" MDH'na sahip insanların serum, plazma, mononükleer hücreler ve idrarında izole edilmiştir (60).

Işık Mikroskopisi (IM): Işık mikroskopik incelemede; glomerüllerde patolojik bir bulgu yoktur ya da minimaldir. Mezengial selülerite veya matrikste hafif artış ve visseral epitel hücrelerinde hafif ya da belirgin şişme bulunabilir. Global sklerotik glomerüller spesifik olmayan bir bulgu olarak ortaya çıkabilir (80 yaşına kadar glomerüllerin %30'u etkilenir) (61). Proksimal tübüllerde, eozinofilik, PAS pozitif boyanan intrasitoplazmik protein rezorbsiyon damlacıkları ve trikrom red boyama ile "boş" görünen lipid rezorbsiyon damlacıkları görülebilir. Tübüler atrofi, interstisyel fibrozis ve interstisyel inflamasyon yoktur (60).

İmmunfloresan (IF) İnceleme: Glomerüllerde herhangi bir immün birikim saptanmaz. Az sayıda olguda IgM ve/veya C3 ile zayıf mezengial boyanma olabilir (62).

Elektron Mikroskopi: Genellikle total glomerüler kapiller yüzey alanının %75'inden fazlasını kapsayan geniş bir alanda ayaksı çıkıntılarda silinme vardır. Bir istisna, biyopsinin yapıldığı zamana kadar (spontan veya tedaviyi takiben) parsiyel remisyon olduğunda geçerlidir. Podosit hücre gövdeleri sıklıkla mikrovillüs transformasyonu gösterir. Mezengial hücre sayısı veya matrikste hafif artış görülebilir. İmmün kompleks tip elektron dens depositler yoktur. Glomerüler bazal membran yapısal anormallik göstermez. Proksimal tübüllerde intraselüler elektron-lusen lipid rezorbsiyon damlacıkları ve elektron-dens protein rezorbsiyon damlacıkları izlenebilir (60).

Minimal değişiklik hastalığının sekonder nedenleri erişkinde daha sıktır. Ancak o zaman bile vakaların sadece bir kısmını oluşturmaktadır. Ayırıcı tanıya giren en önemli hastalık yeterli örneklenmemiş fokal segmental glomerülosklerozdur. Özellikle yaşlanma ve/veya hipertansiyonun olmadığı kişilerde ve çocuklarda belirgin tübüler atrofi, interstisyel fibrozis ve/veya arterioskleroz varsa bu olasılık göz önüne alınmalıdır (63).

2.5.2. Fokal Segmental Glomerüloskleroz (FSGS)

FSGS sıklıkla nefrotik düzeyde proteinüri, yüksek progresif renal yetmezlik insidansı, fokal (glomerüllerin %50'sinden azında) ve segmental (glomerülün bir kısmını) lezyonlarla karakterize klinikopatolojik bir sendromdur. Primer FSGS, nefrotik sendromun çocuklarda yaklaşık %10-15'inden, erişkinlerde %20-30'undan sorumludur (64). Başlangıç sinsidir ve nefrotik sendrom primer klinik manifestasyondur, bununla birlikte %10-30 hastada proteinüri asemptomatiktir, proteinüri tipik olarak non-selektiftir. Üriner sedimentin incelenmesi sıklıkla mikroskobik hematürinin saptanmasını sağlar (65). Kompleman düzeyleri ve diğer serolojik testler normaldir (58). %40-60 hastada 10-20 yıl içinde son dönem

böbrek hastalığının (SDBH) geliştiği gösterilmiştir (64,66) ve transplantasyon sonrası rekürrens %30-40 hastada rapor edilmiştir (66).

Etyopatogenezi: FSGS primer (idiopatik) veya çeşitli etyolojiler ve patogenetik mekanizmalara sekonder olabilir. Primer FSGS patogenezi bilinmemektedir, fakat segmental skar oluşumu ve en sonunda glomerülün işlevini yitirmesiyle sonuçlanan epitelyal hücre zedelenmesine yol açan dolaşımdaki „geçirgenlik“ faktör veya faktörlerinin, muhtemelen bir lenfokin veya sitokinin sonucu olarak ortaya çıktığı görülmektedir (67). Bu faktör visseral epitele zarar vererek fokal olarak geçirgenliğin artışına sebep olmaktadır. Bu alandan geçen serum proteinleri, mezengiuma tutunarak, matriks depolanmasını artırır, skleroz ve hyalinizasyona sebep olur. Ayrıca bazı ailesel (spontan) streoide dirençli FSGS’lerde podositlerde mutasyon tanımlanmıştır (68). Böbrek transplantasyonundan sonra FSGS’nin nüks etmesi, patogenezi bu faktörün rol aldığını destekler.

Işıklı Mikroskopisi: Segmental skleroz, hastalığın erken dönemlerinde özellikle kortikomedüller bölgede bulunan glomerüllerde gelişir (58). Eğer bu grup glomerüller biyopside örneklenmedi ise lezyon atlanabilir. Segmental skleroz glomerüller yumağın genellikle aksiyel bölgesine yakın bir veya bir kaç lobülünü etkiler (69). Segmental lezyonlar skar, köpüksü hücreler ve hyalen birikimler içerebilir (58). Erken lezyonlarda sadece glomerüller yumak ile Bowman kapsülü arasında yapışıklık olabilir (70). Skarsız normal görünümlü glomerüller izlenebilir. Fakat bunların da morfolojik incelemelerde özellikle sekonder patolojilerde boyutlarının büyüdüğü saptanmıştır. Bu görünüm erişkin ve çocuklardaki primer FSGS için karakteristiktir (58,71). Segmental alanlarda hücresellik de görülebilir. Segmental lezyonlarda hipersellüleritenin nedeni intrinsik hücrelerin proliferasyonu ve lökositlerin infiltrasyonudur. Hastalık ilerledikçe glomerüllerde global sklerozlar gelişir (58). Global skleroz FSGS’nin son evresinin bulgusudur (71). Sadece global sklerozlar görülüyorsa, fokal dağılımda da olsa FSGS tanısı için yeterli değildir (58).

İdiopatik FSGS yavaş ilerleyen bir hastalıktır (72). Segmental veya global skleroz ve hyalinozis ile birlikte tübüler atrofinin eşlik ettiği interstisyel fibrozis ne kadar fazla ise gidiş o kadar kötüdür. Kötü gidişin klinik göstergeleri, tanısında artmış serum kreatinin düzeyleri, yüksek kan basıncı ve tedaviye dirençli ciddi nefrotik düzeyde proteinüridir (73).

Primer FSGS'nin patolojik sınıflaması (Kolombiya Sınıflaması):

1) Glomerüler tip varyant; sineşi alanları üriner kutup etrafında bulunur. Podositlerde proliferasyon ve köpüksü hücreler izlenir. Ani başlangıçlı nefrotik sendrom ile ortaya çıkar ve steroid tedavisine iyi yanıt verir

2) Perihiler varyant; perihiler skleroz ve hyalinozis dikkati çeker.

3) Selüler varyant; fokal segmental endokapiller proliferasyon görülür.

4) Kollapsing varyant; segmental ve diffüz glomerüler kapiller kollaps izlenir. GBM'da kıvrımlanma, kapiller lümenlerde tıkanma, podositlerde hiperplazi, hipertrofi, hyalin damlacıklar ve vakuolizasyon görülür. Ağır proteinüri ile hızla böbrek yetmezliğine ilerler.

5) Spesifiye edilemeyen varyant (NOS-Klasik FSGS); diğer morfolojik alt tiplerin hiçbirine uymayan olgular bu gruba dahil edilir (74).

İmmunfloresan İnceleme: Segmental sklerozis alanlarında C3 ve IgM kombinasyonu şeklinde birikim görülür. Nonsklerotik glomerüler segmentlerde de IgM'nin mezengial pozitifliği olabilir.

Elektron Mikroskopi: Sklerotik alanlarda GBM'lar kalınlaşmış ve kıvrımlanmış olarak görünür. Sklerotik segmentler; köpüksü histiosit, hücresel debri, lipid damlacıkları, granüler matriks, fibrin ve elektron dens depozitleri içerebilir. İlerlemiş lezyonlar hiposellülerdir, Bowman kapsülüne yapışıklık

gösterir ve nonspesifik skarlar şekline dönüşürler. FSGS'deki major bulgu ayaksı çıkıntıların yaygın olarak silinmesidir. Ayaksı çıkıntılar ya çok genişlemiş ya da GBM'dan ayrılmış görünümündedirler (75).

FSGS kronik glomerülonefritler, minimal değişiklik hastalığı, lupus nefriti, akut postinfeksiyöz glomerülonefrit, IgA nefropatisi (IgAN), membranöz glomerülonefrit gibi hastalıklardan ayrılmalıdır. Klinik hikaye ve IF bulguları tanıda yardımcı olur (74).

2.5.3. Membranöz Glomerülonefrit (MG)

Subepitelyal immun birikimleri ve glomerül kapiller bazal membranlarında diffüz kalınlaşma ile karakterize bir hastalıktır. Erişkinlerde primer nefrotik sendromun en sık nedenidir. En sık primer formu görülmekle birlikte sekonder formun %85'ten fazlası enfeksiyon, neoplazi ve sistemik lupus eritematozusa (SLE) sekonder olarak ortaya çıkar (76). Nefrotik sendrom en sık klinik bulgusudur. Olguların yaklaşık yarısında asemptomatik proteinüri bulunur. Mikroskobik hematüri hastaların çoğuna eşlik ederken, makroskobik hematüri çok az görülür. Serum kreatinin düzeyleri hastalığın başında anormallik gösterir (77). Hastaların çoğunluğunda renal fonksiyonlar ve kan basıncı normaldir (78).

Etyopatogenezi: Glomerül kapiller bazal membranlarının tüm alanlarında subepitelyal immunglobulin birikimlerinin bulunması, hastalığın bir immunkompleks hastalığı olduğunu düşündürür. Deneysel olarak, proksimal tübülleri fırçamsı kenar antijeni ile immunize edilmiş sıçanlarda görülen nefrit „Heymann Nefriti“ olarak adlandırılır ve insanda görülen membranöz glomerülonefritin benzeridir. Podositlerin bazal membrana bakan yüzünde bulunan ve fırçamsı kenar ile çapraz reaksiyon veren bir glikoprotein (Heymann antijeni-Megali gp/330) suçlanmaktadır. Bu teoride subepitelyal birikimlerin, antikörlerin, podositlerde üretilen glikoproteine bağlanması ile oluştuğu gösterilmiştir (79). İmmunkompleks birikiminin kaynağı ne olursa olsun, nefrotik sendroma yol açan ana mekanizma alternatif kompleman yolunun tetiklenmesi ve

C5b-C9 membran atak kompleksinin oluşmasıdır. Ancak bu mekanizma hücre dışı matriks değişikliklerini yeteri kadar açıklamaz. GBM kalınlaşmasından azalmış fibrinolitik aktivitenin de sorumlu olabileceği düşünülmüştür (80).

Işık Mikroskopisi: Erken evre vakalarda, glomerüller normal görünebilir. Bu durumda EM ve IF bulguları ışığında tanı verilir. Histolojik tablo, özellikle daha ileri vakalarda genellikle tipiktir. Glomerül boyutları normaldir ya da hafif büyümüştür ve normoselüler görünürler. Işık mikroskopunda belirgin bulgu glomerüler kapiller duvarda diffüz ve global kalınlaşmadır. Bu durum GBM“ın epitelial alanında elektron-dens birikimlerin sonucu gelişir. Bu birikimlerin arasında metenamine gümüş ve PAS ile pozitif boyanan, GBM-benzeri madde (“dikensi çıkıntılar” olarak adlandırılan) uzantıları yer alabilir. Burada dikkat edilmesi gereken nokta gümüş ile pozitif olan komponent, birikimler değil dikensi çıkıntılardır (birikimleri saran bazal membran) (81,82). GBM“de internal vakuolizasyon da olabilir. Subepitelial fusinofilik depositler sıklıkla masson trikrom boyası ile görülebilir.

Hafif mezengial hiperselülerite görülebilir. Ancak baskın mezengial proliferasyon, endokapiller proliferasyon, GBM duplikasyonu (membranoproliferatif özellikler), fibrinoid nekroz ve kresent formasyonu varlığı ya hastalığın sekonder formunu ya da superempoze olmuş hastalık sürecini destekler.

Proksimal tübüller tipik olarak protein ve lipit damlacıkları içerirler. Daha ciddi ya da devamlı proteinürisi olan hastalarda tübüler dejeneratif değişiklikler gelişir. Zamanla kronik irreversibl tübülointerstisyel skar gelişir. Tübüler atrofi ve interstisyel fibrozisin derecesi önemli bir prognostik markerdir. Hafif interstisyel inflamasyon sıklıkla bulunur. Uzun süredir devam eden proteinürisi olan MG“li hastalarda interstisyel köpüksü hücrelerle çoğunlukla karşılaşılır.

İmmunfloresan İnceleme: Olguların hemen hepsinde GBM boyunca güçlü diffüz global subepitelyal IgG birikimi ve yaklaşık olarak olguların %75'inde C3 birikimi görülür. IgM, IgA ve C1q birikimi daha az sıklıktadır (83).

Elektron Mikroskopi: Membranöz nefropatinin en belirgin özelliği subepitelyal elektron dens depositlerin varlığıdır. 1968'de Ehrenreich ve Churg elektron mikroskopisinde subepitelyal immün depozitlerin yerleşimine göre MN'nin evrelerini de tanımlamışlardır (84) (Tablo 3).

Tablo 3: Membranöz Nefropatinin Histopatolojik Evreleri (Ehrenreich ve Churg 1968)

	Elektron Mikroskopi	Iğık Mikroskobisi
1. evre	Subepitelyal immün depositler vardır, GBM normaldir.	GBM normal veya hafif rijidite gösterir (depositler Trikom boyası ile görülebilir)
2. evre	GBM dış yüzeyinde ve immün depozitlerin arasında „spike“ (bazal membran benzeri madde) oluşumları gözlenir.	'Spike' oluşumları periodik methenamine gümüş boyasıyla IM'de gösterilebilir.
3. evre	Bazal membran benzeri madde „kubbe“ görünümünde, GBM'ı kapsayan düzensiz kalınlaşma	Bazal membran benzeri madde „kubbe“ görünümünde, GBM'ı da kapsayan düzensiz kalınlaşma
4. evre	İmmün depositler elektron-lusenttir, „köpük“ veya „İsviçre peyniri“ görüntüsü gözlenir.	GBM'da bazal membranlar ileri derecede kalınlaşmış, kapiller lümenler kapanmıştır

2.5.4. IgA Nefropatisi (IgAN) (Berger Hastalığı)

Primer glomerülonefritler arasında en sık görülen formdur. En sık olarak 10-40 yaş aralığında görülmekte olup erkek/ kadın oranı 2:1'dir (85). IgA nefropatisinin en önemli iki klinik prezentasyonu; asemptomatik üriner anormallikler ve makroskobik hematüridir. Asemptomatik üriner anormallikler en sık erişkinlerde, makroskobik hematüri ise en sık çocuklarda görülür. Makroskobik hematüri, en sık faranjit, tonsillit nadiren de gastroenterit, pnömoni, üriner sistem enfeksiyonu gibi enfeksiyöz bir hastalığı takiben 1-2 gün içinde ortaya çıkar. Proteinüri genellikle hafiftir (1gr/gün'den az) ve nefrotik sendrom nadirdir. Hipertansiyon %25 olguda bulunabilir. Ciddi olgularda akut

glomerülonefrit akut böbrek yetmezliği ile sonuçlanabilir. Böbrek yetmezliği bulguları erişkinlerde ve yaşlılarda daha sıktır. Özgül laboratuvar bulgusu yoktur. Hastaların yaklaşık %50'sinde serum IgA düzeyleri yüksektir. Ancak bu bulgu IgAN için spesifik değildir (86).

Etyopatogenezi: IgAN'nin patogenezinde çok çeşitli etyolojik faktörler ve mekanizmalar yer almaktadır. Bunlar; IgA molekülünün anormal yapısı ve işlevi, dolaşan IgA komplekslerinin azalmış atılımı, glomerül mezengiumunda biriken IgA komplekslerinin atılamaması ya da komplekslerin mezengiuma karşı aşırı artmış afinitesi, mukozada karşılaşılan antijenlere karşı aşırı IgA üretimi, mukozanın aşırı düzeyde antijenle karşılaşması, mukozanın antijen geçirgenliğinde artış veya bu etkenlerin birlikte bulunması şeklinde sıralanabilir. Patogenetik mekanizmalar arasında en önemli olan ve çoğu IgAN / Henoch-Schönlein nefriti hastasında gösterilen mekanizma; IgA1 molekülünün hinge bölgesindeki O-glikanların azalmış galaktozilasyonudur. Bu bozukluk ile anormal IgA moleküllerinin reseptörleri ile uyumsuzluğu sonucu azalmış atılımı, dolaşımdaki IgA moleküllerinin agregasyonu ile mezengial alanda hapsolmaları, anormal IgA moleküllerine karşı oluşan otoantikorlar ile immün komplekslerin oluşumu ve anormal IgA moleküllerinin mezengial alana artmış afinitesi gibi çeşitli faktörler üzerinden hastalık oluşur. IgA nefropatisinde tetikleyen mekanizma mezengial alanda pIgA1 tipi baskınlığındaki immün birikimdir. IgA birikimi reseptörleri aracılığı ile mezengial hücrelerin hem aktivasyonuna hem de çoğalmasına yol açar. Her birikim mezengial alanda reaksiyona yol açmaz. IgA birikim hızı, mezengial yanıt fenotipi ve progresyon riski gibi patogenezi etkili faktörler genetik yatkınlık ile ilişkilidir. Genetik faktörlerin önemi ailesel IgA nefropatisi olgularında gösterilmiştir. Bu hastalık sporadik olgulara göre daha ağır seyreder (66). IgAN'nde tedaviyi şekillendirme ve hastalığın seyrini öngermeye yönelik çeşitli histolojik sınıflamalar literatürde yer almıştır (87) (Tablo 4).

Tablo 4. IgA Nefropatisinin histolojik sınıflaması

	Haas sınıflaması	DSÖ sınıflaması
I	Normal/minimal histoloji (mezengial hiperselülerite olmaksızın)	Minimal histoloji
II	Hücre artışı olmaksızın fokal segmental glomerüler skleroz	Küçük segmental proliferasyonlar gösteren minör değişiklikler
III	Fokal (<%50 glomerül) proliferatif glomerülonefrit	Fokal (<%50 glomerül) ve segmental glomerülonefrit
IV	Diffüz (>%50 glomerül) proliferatif glomerülonefrit	Proliferasyon ve skleroz gösteren diffüz mezengial lezyonlar
V	Global glomerüler skleroz ($\geq$ %40) ve/veya kortikal tübüler atrofi ($\leq$ %40)	Diffüz sklerozan glomerülonefrit

Işık Mikroskopisi: Primer IgAN'nin tanısı böbrek biyopsisi ile doğrulanır. Birçok durumda, elektron mikroskopide mezengial immun depositlerin, immunofloresan mikroskopide baskın mezengial IgA'nın izlendiği ve ışık mikroskopisinde mezengial proliferasyonla karakterize mezengiopatik bir süreç olarak ortaya çıkan hastalığın "klasik" formu görülmektedir. Mezengial matriks ve selülerite artışı değişkendir. Mezengial hiperselülerite hafif, orta ya da belirgin olabilir ve globalden daha sık segmental dağılım gösterir. Bazı durumlarda mezengial proliferasyon belirsizdir ve ışık mikroskopisinde normal görünen glomerüller izlenir. Öte yandan, glomerüllerde endokapiller proliferasyon, selüler/fibroselüler kresent, fibrinoid nekroz, karyoreksis ya da bunların herhangi bir kombinasyonundan oluşan histolojik aktivite gösteren vakalar da vardır.

IgAN yaygın olarak mezengiopatik bir hastalık olarak algılanmasına rağmen mezengium dışında da glomerüler lezyonlar nispeten sıktır (88). Endokapiller proliferasyon tek başına IgAN'de nadir görülür ve olguların büyük çoğunluğunda kapiller lümen çevresinde mezengial hücre ve matriks artışı da eşlik eder. Bu genellikle fokal, segmental ve hafiftir. Primer IgAN'li hastaların yaklaşık %10-35'inde selüler ya da fibroselüler kresent görülür (89,90). Bunlar diffüzen çok fokal olma eğilimindedirler. Kresentlere bazen akut nekrotizan lezyonlar (fibrinoid nekroz) eşlik eder (91). Tübülointerstisyel hasar (interstisyel fibrozis ve tübüler atrofi) IgAN'nin herhangi bir evresinde görülebilir (92).

İmmunfloresan İnceleme: Mezengiumda IgA ile saptanan pozitif immunfloresan reaksiyon karakteristiktir. Mezengial IgA birikiminin yoğunluğu değişkendir ancak çoğunlukla diğer immunglobulinlerden daha yoğundur. C3 birikimi yaklaşık olarak %90 olguda eşlik eder. IgA nefopatisinde lambda zincirinde predominant boyanma sık görölen bir bulgudur (93).

Elektron Mikroskopi: Mezengiumda özellikle paramezengial bölgede immunkompleks tipinde elektron yoğun birikimlerin varlığı karakteristiktir. %30 olguda mezengial alanlara ilaveten glomeröl kapiller duvarında subendotelyal, subepitelyal ve intramembranöz birikimler görülür (94).

IgAN benign seyirlidir ancak yavaş yavaş ilerler ve olguların yaklaşık yarısında 20 yıl içinde kronik böbrek yetmezliği gelişebilir. Hastaların prognozu glomeröl değişikliklerinin şiddeti ile paralellik gösterir. Hastalığın ileri yaşta başlaması, ağır proteinüri, hipertansiyon, biyopside skleroz, kresentlerin olması kötü prognozla ilişkilidir (95).

2.5.5. Lupus Nefropatisi

SLE, eklem, deri, serozal membranlar, santral sinir sistemi ve böbrek gibi çoklu organ sistemlerinin inflamasyonu ile karakterize etyolojisi bilinmeyen otoimmün bir hastalıktır. SLE üreme çağındaki kadınlarda (Kadın/erkek oranı yaklaşık 10/1) daha sıktır (96). Klinik olarak görölen böbrek hastalığı (lupus nefropatisi) genellikle hastalık başlangıcının ilk yılında hastaların %50'sinde görülür, morbidite ve mortalitenin önemli bir nedenidir (97). Lupus nefriti herhangi bir yaşta SLE hastalarını etkileyebilir. SLE ilişkili renal hastalığın klinik bulguları asemptomatik hematüri/proteinüri ile nefrotik sendrom/hızlı ilerleyen renal yetmezlik arasında değişen aralığa sahip olabilir. Lupus nefriti olan çoğu hastada SLE tanısı renal biyopsi öncesinde klinik ve laboratuvar kriterlere göre konulmuştur. Böbrek biyopsisinde primer amaç renal hastalığın sınıf ve aktivitesini belirlemektir (98).

Etyopatogenez: SLE patogenezinde poliklonal B hücre hiperaktivitesi ve T hücre otoregülasyonundaki bozukluk olduğu düşünülmektedir. SLE patogenezinde genetik faktörlerin de önemli rolü vardır. Patogenezde antinükleer antikorların (ANA) oluşumu önemlidir. Immunkompleks oluşumu ile zedelenen hücreler ANA ile reaksiyona girerek kromatin yapısını kaybeder, homojen lupus eritematozus cisimcikleri (LE cisimcikleri) oluşur. Immunkomplekslerin glomerüler depolanması lokal kompleman aktivasyonuna, kemotaktik maddelerin ve lökositlerin salınımına neden olur. Yangısal ve fibrojenik sitokinlerin salınımı ise glomerüllerde proliferasyona ve bunun progresyonu ile de glomerüler sklerozise neden olurlar (99).

Lupus nefritinin sınıflaması

International Society of Nephrology (ISN) ve Renal Pathology Society (RPS) sınıflaması glomerüler patolojik değişikliklerin ışık mikroskopisi ve IF bulgularıyla birlikte değerlendirmeye dayanmaktadır (98).

Sınıf I: Minimal mezengial lupus nefriti: Işık mikroskopisinde normal görünen glomerüller izlenir. Ancak IF mikroskopisi mezengial immün birikimleri göstermektedir. EM genellikle mezengial bölgelere sınırlı küçük immün tip elektron-dens depositleri ortaya koymaktadır. Podosit ayakları çıkıntılarında silinme genellikle minimaldir (100).

Sınıf II: Mezengial proliferatif lupus nefriti: Işık mikroskopisinde genellikle hafif-orta derecede mezengial hiperselülerite izlenir. İmmün depositler IF ve EM’unda görülür (101).

Sınıf III: Fokal lupus nefriti: Çoğu vaka kresentlere ya da nekrotizan lezyonlara sahip olsun ya da olmasın segmental endokapiller hiperselülerite gösterir. Hyalin trombüsler ve hematoksilen cisimleri olabilir. Bazı vakalarda, segmental proliferatif komponent, glomerüler bazal membran duplikasyonu da dahil olmak üzere membranoproliferatif özelliklere sahiptir. Endokapiller lezyona

sahip olmayan glomerüller genellikle arka planda mezengial hiperselülerite gösterir. Yalnızca aktif (A) lezyonları olan sınıf III lupus nefriti sınıf IIIA olarak tanımlanırken yalnızca kronik (C) lezyonlu olgular sınıf IIIC olarak tanımlanır. Herhangi bir oranda karışık aktif ve kronik özelliklere sahip olanlar ise sınıf IIIA/C olarak adlandırılır. IF ve EM genellikle segmental dağılım gösteren subendotelyal periferik kapiller duvar immün depositleri gösterir ve her zaman mezengial depositler eşlik eder. Küçük subepitelyal depositler görülebilir.

Sınıf IV: Diffüz lupus nefriti: Aktif diffüz proliferatif lupus nefriti, lökosit infiltrasyonu, wire loop, hyalin trombüsler, hematoksilen cisimler, nekrotizan lezyonlar ve kresentler gösterebilir. Endokapiller proliferasyona eşlik etmeyen wire loop gibi endokapiller lezyonlar göz önüne alındığında diffüz proliferatif lupus nefritinden ziyade “diffüz lupus nefriti” terimi kullanılır. Etkilenen glomerüllerin %50’sinden fazlasında segmental lezyon görülüyorsa diffüz segmental lupus nefriti (Sınıf IV-S), %50’sinden fazlası global lezyon gösteriyorsa diffüz global lupus nefriti (Sınıf IV-G) olarak sınıflandırılır. Ayrıca yalnızca aktif lezyonları olan sınıf IV lupus nefriti sınıf IVA, yalnızca kronik lezyonlu olgular sınıf IVC, karışık özellik gösterenler ise sınıf IVA/C olarak tanımlanır. IF ve EM genellikle diffüz segmental veya global subendotelyal periferik kapiller duvar immün birikimleri ve mezengial birikimleri ortaya çıkarır (102).

Sınıf V: Membranöz lupus nefriti: Global veya segmental kapiller duvar boyunca subepitelyal immün birikimler görülür. Erken aşamalarda, ışık mikroskobu ile glomerüler kapiller duvarlarda görünür bir kalınlaşma olmayabilir. Lezyonlar geliştikçe spike oluşumu nedeniyle GBM kalınlaşması görülür. Sınıf V’teki olguların çoğu mezengial değişiklikler (hiperselülerite ve/veya immün depositler) gösterir. IF ve EM ile nadir küçük subendotelyal immün birikimler görülebilir (103).

Sınıf VI: Ğleri sklerozan lupus nefriti: Glomerüllerin en az %90’ı sklerotiktir. Glomerülosklerozların çoğu global olsa da segmental skarlar da

olabilir. Rezidüel mezengial hiperselülerite, GBM kalınlaşması olabilir. Genellikle şiddetli tübüler atrofi, interstisyel fibrozis ve arterioskleroz vardır. IF ve EM’de sklerotik glomerüllerde, tübülointerstisyel alanda ve damar duvarlarında rezidüel immün birikimler görülebilir (104).

Aktivite-kronisite indeksi

Lupus nefriti değerlendirilmesinde sınıflamaya ek olarak aktivite-kronisite indeksinin belirtilmesi tedavi ve prognozun belirlenmesinde önemlidir. Bu indekslerde kullanılan histolojik özellikler 0 ile 3 arasında derecelendirilir. Bu özellikler yok ise 0, %25’ten az ise 1, %25-50 arası ise 2, %50’den fazla ise 3 olarak numaralandırılır.

Aktivite indeksinde 6 adet patolojik özellik kullanılır: Endokapiller proliferasyon, glomerüler nötrofil infiltrasyonu, wire loop depositler, fibrinoid nekroz ve karyoreksis, selüler kresentler, interstisyel inflamasyon.

Kronisite indeksinde ise 4 adet patolojik özellik kullanılır: Glomerüler skleroz, fibröz kresent, tübüler atrofi, interstisyel fibrozis.

Aktivite indeksi 12’den fazla, kronisite indeksi 4’den fazla ise kötü prognozu gösterir.

İmmunfloresan İnceleme: Glomerüllerde mezengial alanda ve bazal membranlarda IgG, IgA, IgM, C3 ve C1q granüler tarzda birikir (Full-house paterni). Nekrotizan ve kresentik lezyonlarda fibrinojen birikimi saptanabilir.

Elektron mikroskopi: Glomerüllerde subendotelyal, subepitelyal, intramembranöz ve mezengial elektron-dens birikimler saptanır. Bu birikimler lupusun histopatolojik tiplerine göre yerleşim farklılıkları gösterirler. Ayrıca immün birikimlerinin özel bir dizilimini yansıtan fingerprint (parmak damgası)

lezyonu ile endotel hücrelerinde viral partiküller ya da interferon dizilimleri olduğu düşünülen tübüloretiküler yapılar saptanabilir (105).

2.5.6. Diyabetik Nefropati

Diyabetik nefropati, kalıcı albuminüri (>300 mg/24 saat), GFH'ında devamlı düşüş ve yüksek kan basıncıyla karakterize klinik bir sendromdur. Diyabetli hastaların yaklaşık üçte biri SDBH'na ilerleme olasılığı yüksek diyabetik nefropati geliştirmektedir. Tip 1 ve tip 2 diyabette klinik ve morfolojik özellikler benzerdir. Genel olarak tip 2 diyabet hastalarındaki renal lezyonlar daha heterojendir. Özellikle tip 2 diyabet prevalansının artması sonucu diyabetik nefropati ve SDBH insidansının artışı devam etmektedir. Hastalardaki ilk bulgu genellikle mikroalbuminüri (30-299 mg/24 saat) olup zamanla nonselektif proteinüri (>300 mg/24 saat), GFH'da azalma ortaya çıkar. Tam gelişmiş nefrotik sendrom nadirdir ancak diyabetik nefropatili hastalarda mikroskobik hematüri nispeten sıktır.

Işık Mikroskobisi: En karakteristik ışık mikroskobisi özellikleri; diyabetik glomerülosklerozis, tübüler atrofi ve interstisyel fibrozis, afferent ve efferent arteriolde hyalinizasyon, arteriosklerozdur. Diyabetik glomerüloskleroz denilince ise bazal membran kalınlaşması, mezengial matriks birikimi (diffüz form), mezengial nodüller (nodüler form), kapsül damlası ve fibrin kep akla gelir. Glomerüller büyüme (hipertrofi) ışık mikroskobu ile en erken saptanabilen diyabetik değişikliktir. Bu değişiklik sonunda nodüler ve diffüz diyabetik glomerüloskleroza döneşebilir. Bu iki formdan diffüz olan hastalığın daha erken ve daha ılımlı formunu temsil eder. Bu form mezengial matriks artışı ve glomerüller kapiller duvarların uniform kalınlaşmasıyla karakterizedir. Kapiller duvardaki kalınlaşma ışık mikroskobuyla hiç saptanmayabilir. Genellikle hafif bir mezengial hiperselülerite mevcuttur. Mezengial nodüllerin (Kimmelstiel-Wilson tip nodüller) gelişimi glomerüller tutulumun daha şiddetli ve genellikle daha ileri olduğu düşünülen nodüler diyabetik glomerülosklerozun başlangıcını işaret eder. Genişlemiş mezengial alanlar ve nodüller eozinofilik güçlü PAS pozitifdir ve

masson trikromla koyu mavi boyanır. İnterstisyel alanda da fibrozis ile başlıca T lenfositlerinden ve makrofajlardan oluşan infiltrasyon gözlenebilir. Özellikle inflamatuvar infiltrasyonun eşlik ettiği interstisyel fibrozis böbrek sağkalımı ile korelasyon gösterir.

İmmunfloresan İnceleme: Glomerüler kapiller duvar ve tübüler bazal membran boyunca IgG ve albumin sıklıkla lineer pozitifdir. Ancak IgM, C3 ve fibrinojen de pozitif olabilir.

Elektron Mikroskopi: GBM kalınlaşması diyabetik renal tutulumun en erken ultrastrüktürel değişimidir. Fibrin kep, endotel hücreleri ve GBM arasında homojen elektron-dense materyal birikimi ile karakterizedir. Kapsül damlası, Bowman kapsülü ile paryetal epitel arasında bulunur.

İdiopatik nodüler glomerülosklerozis morfolojik olarak diyabetik nodüler glomerülosklerozis ile hemen hemen aynıdır. Bu hastalar arasındaki ayrım, etkilenen bireylerde şeker hastalığına ait kanıtların bulunup bulunmadığına dayanır (74).

2.6. TÜBÜLOİTERSTİSYEL HASTALIKLAR

Tübülointerstisyel hastalıklar; glomerül dışında böbrek yapılarını tutan; yani tübüller ve/veya interstisyumla ilişkili böbrek hastalıklarıdır.

2.6.1. Tübülointerstisyel nefrit (TIN)

TIN, çeşitli ajanlarla yaralanma sonucu böbreğin bir yanıtıdır (106). Tübüler hasar ile birlikte interstisyumda ödem, fibrozis, tübüler atrofi ile inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunu yansıtır. Akut, kronik ya da her ikisi de olabilir.

TIN'ler; primer, sekonder, nedeni bilinmeyen ve reaktif olarak sınıflanabilir:

-Primer TIN: İnflamasyon esas olarak tübül ve interstisyumdadır; glomerül ve damarlarda tutulum yoktur.

-Sekonder TIN: Tübülointerstisyel inflamasyon gelişimi glomerül, vasküler ya da sistemik hastalıklarla ilişkilidir.

-Nedeni bilinmeyen TIN: Primer TIN’te etyolojik ajan ya da herhangi bir sebep saptanmaz.

-Reaktif TIN: Böbreklerin sistemik bir enfeksiyondan etkilenmesidir. Ancak böbrek sterildir (58).

2.6.1.1. Primer Akut TIN

Sıklıkla ilaçlara (%71.1) karşı aşırı duyarlılık reaksiyonları ile oluşurlar. Bu olguların 1/3’ü antibiyotiklere bağlı olmakla birlikte NSAİ, omeprazol, indinavir gibi ilaçlar da neden olabilir. İlaçlar ile oluşan akut TIN’in immün reaksiyonlara sekonder geliştiğini destekleyen kanıtlar bulunur. Bunlar; ilaç alan bireylerin sadece küçük bir kısmında akut TIN ortaya çıkması, akut TIN’in dozla ilişkili olmaması, aşırı duyarlılığın sistemik bulgularının (deri döküntüleri, ateş, eozinofili, eozinofilüri) bu hastalarda görülmesi, ilacın tekrar alınması ile akut TIN’in tekrarlanması olarak sıralanabilir.

İnsanlarda birçok ilaç ilişkili akut TIN’e, hücrel immünite aracılık eder. Çünkü bu olgularda hem herhangi bir birikim gösterilemez hem de interstisyumdaki inflamasyonun büyük bir kısmını T lenfositleri oluşturur. Ayrıca bazı ilaçlara bağlı olarak (ampisilin, metisilin, penisilin G, rifampisin gibi) interstisyumda granülom görülmesi de gecikmiş tip hücrel immünite ile ilişkilidir. Enfeksiyonlar (%15,6), idiyomatik olgular (%7,8), TIN ve üveyit sendromu (%4,7), sarkoidoz (%0,8) diğer sebeplerdir.

IĞık Mikroskopisi: Akut TIN‘ın histolojik belirleyicisi interstisyel infiltrasyonun bulunuşudur. Bu infiltrasyon genelde yama şeklinde olup özellikle dış medulla ve derin kortekste yaygındır. İnfiltrasyonu oluşturan hücreler genelde lenfositler (özellikle T hücreleri), makrofajlar, eozinofiller, plazma hücreleri ve nörofillerdir. İlaç reaksiyonlarında özellikle antibiyotiklere bağlı olanlarda sıklıkla eozinofiller izlenir. Bazen T hücreleri tübüler bazal membranı geçerek epitel hücreleri arasına girer ve tübülite neden olur. Glomerüller ve damarlar genellikle korunmuştur. Fibrozis, bir akut TIN bulgusu değildir. Ancak bir onarım şekli olarak geç biyopsilerde hafif miktarda izlenebilir. Tamm-Horsfall proteini tübül rüptürünü takiben interstisyumda bulunabilir. İnterstisyel infiltrasyon sıklıkla tübülleri ayıran ödem ile birliktedir.

İmmunfloresan İnceleme: Çoğu olguda immün kompleks birikimi görülmez. Tübüler bazal membranın çizgisel ya da granüler olarak kompleman (özellikle C3) ile boyanması; özellikle atrofik tübüllerin bazal membranlarında sık rastlanılan tanısız özgünlüğü olmayan bir bulgudur. Tübüler bazal membranda antikor ve komplemanın granüler birikimi immünkompleks patogenezi düşünür.

Elektron Mikroskopi: Sınırlı değere sahiptir (58).

2.6.1.2. Kronik TIN

Önemli sebepler; enfeksiyonlar, ilaçlar (analjezikler, lityum), üriner trakt enfeksiyonları, idrarın steril reflüsü, immün-aracılı TIN‘ın bazı formları, plazma hücre diskrazileri, metabolik bozukluklar, kurşun, civa gibi ağır metallere maruz kalma, herediter hastalıklar, idiyopatik TIN gibi çeşitli kronik nefropatilerdir. Kronik TIN; ayrıca sıklıkla progresif kronik glomerül hastalıkları, sıklıkla otoimmün hastalıklar, metabolik hastalıklar, monoklonal gamapatiler, vasküler hastalıklar sırasında, ateroskleroz, hipertansiyon ile birlikte gelişir.

Genel olarak; kronik tübüler epitel hücre zedelenmesi esas ortak noktadır. Bu zedelenme ya direkt sitotoksik etki ile ya da indirek inflamasyon veya immünolojik reaksiyon ile olabilir. İnterstisyumdaki infiltre lenfositlerden uygunsuz salınan sitokinler normal hücre rejenerasyon dengesinde uygunsuzluğa yol açar (58).

IĞık Mikroskobisi: Kronik TIN, inflamatuvar infiltrasyon, interstisyel fibrozis ve tübüler atrofiyle karakterizedir. Erken interstisyel fibroziste, interstisyel iğısi hücrelerle miksoid matriks ile tübüler ayrılma vardır. Progresif, irreversibl tübüler atrofinin olduğı ileri evrelerde progresif kollajen birikimi izlenir. Tübüler atrofi 4 ana görünüşe sahiptir:

1) Klasik: Epitelyal hücrelerin kaybıyla bazal membranda laminasyon ve tübül çaplarında küçölmeyle karakterizedir.

2) Tiroidizasyon: Etkilenen tübüllerin yuvarlaklaştığı ve tübül epitelinin inceldiği mikrokistik değışikliklerin olduğı formdur. Bu pyelonefritin karakteristiğıdir ancak spesifik değildir.

3) Endokrin: Şeffaf epitele sahip küçük, solid ya da boşluklu tübüller ve oldukça ince bazal membran izlenir. Endokrin terimi paratiroid ve anterior hipofiz hücrelerin andıran uniform, yuvarlak görünüşünden gelmektedir.

4) “Super” tübüller: Dilate ve büyümüş lümenler, irregüler görünüm ve sıklıkla apikal „snout“ları bulunan büyümüş epitelyal hücreler. Bunlar yaygın interstisyel fibrozis ve sıklıkla glomerülomegaliyle birlikte bulunurlar. Nefron hipertrofinin bir göstergesidir (106).

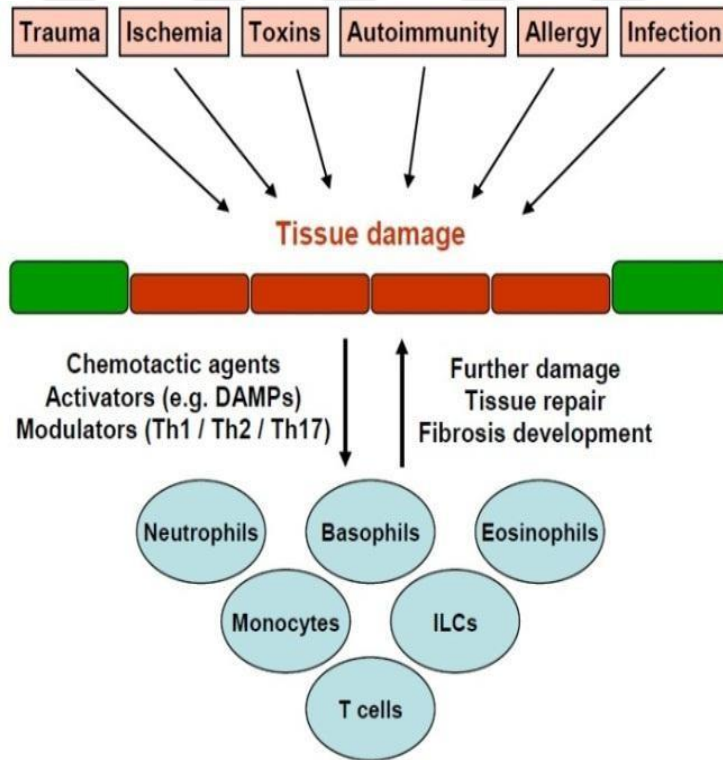
İmmunfloresan İnceleme: Tanısal değildir.

Elektron Mikroskobi: Tanısal değeri sınırlıdır. Atrofik tübül bazal membranları kalın olabilir. Tekrar tekrar epitelyal hasar ve iyileşme sonucu tabakalanma gösterebilir (58).

2.7. İMMUNOHİSTOKİMYASAL BELİRTİLER

2.7.1. CD4 ve CD8

Doku hasarı ve iltihaplanma, rejenerasyon ve fibrozis için önemli tetikleyicilerdir. Doku hasarı, genel olarak iltihaplanmaya neden olmakla kalmaz, aynı zamanda doğuştan gelen ve adaptif immün sistemin çeşitli farklı hücre tiplerini aktive ederek inflamasyonun türünü ve polarizasyonunu da belirler (Şekil 7). İnflamatuvar veya trombotik yanıt oluşturamayan embriyolar haricinde, doku hasarı her zaman bir dereceye kadar inflamasyon ile ilişkilidir. İnflamasyon, hem doku rejenerasyonunda hem de fibrozisin gelişiminde rol oynamaktadır (107,108).



Şekil 7: Doku hasarı ve inflamasyonun karşılıklı ilişkisi. Çeşitli doku hasarları, immün hücrelerinin toplanmasına, aktivasyonuna ve kutuplaşmasına neden olur. Enflamasyon, daha fazla doku hasarı oluşturabilir veya doku tamirini ve fibrozisi tetikleyebilir (109).

Hemen hemen tüm progresif renal hastalık tiplerinin ortak uç noktası tübülointerstisyel fibrozistir (110). Fibrozis normal bir fizyolojik işlem olmasına rağmen -kalıcı doku hasarına yanıt olarak- eğer kontrolsüz bırakılırsa, anormal doku remodellingine ve kalıcı skarlaşmaya yol açabilir. Interstisyel fibrozisin şiddeti böbrek sağ kalımının kesin bir göstergesidir (111). Kronik böbrek hastalığı olan böbrekte yaygın lenfosit infiltrasyonu izlenir. Kronik böbrek hastalığı olan hastaların yanı sıra, tek taraflı üreter obstrüksiyonu olan renal fibrozis modellerinde de T hücreleri tespit edilmiştir (112).

İnflamatuar mikroçevre, hasardan sonra renal fibrozis başlangıcında çok önemli bir rol oynar. İnflamatuar hücrelerin peritübüler infiltrasyonu obstrüktif yaralanmayı takiben renal interstisyel fibrozisin yaygınlığını ve süresini belirler. Kemik iliği türevi fibroblast progenitör hücrelerin farklılaşması, profibrotik sitokin IL4 tarafından düzenlenirken, antifibrotik sitokin IFN- γ farklılaşmalarını inhibe eder. Birçok çalışma, kemik iliği türevi fibroblast progenitör hücrelerin, renal fibrozis patogenezinde rol oynadığını göstermiştir.

Tek taraflı üreter obstrüksiyon gibi renal fibrozis modellerinde de T hücreleri tespit edilmiştir. Obstrüktif hasardan sonra, infiltre etmiş T hücreleri, monosit alımını indükleyen ve inflammatuar yanıtı arttıran kemokinleri ve sitokinleri üretebilir. Hasar sonrası fibrozisin düzenlenmesi sırasında profibrotik IL4 esas olarak CD4⁺ Th2 hücreleri tarafından üretilir. CD4⁺ lenfositlerin azalması, renal fibroze karşı korurken, CD4⁺ T hücrelerinin, lenfosit eksikliği olan farelere aktarımı fibrozisi yeniler. T hücreleri, kemik iliğinden türetilen dolaşımdaki fibroblast öncü hücrelerinin farklılaşmasını düzenleyerek renal fibroze katılabilirler. Transplantasyon sonrası interstisyel fibrozis veya tübüler atrofiyi de kapsayan renal fibroziste CD8⁺ T hücrelerinin rolü olduğu bilinmektedir (113).

Ayrıca idiopatik NS patogenezinde bazı bulgular immün sistemin katılımını düşündürmektedir. Shalhoub'un 1974'te NS'un lenfosit disfonksiyonundan kaynaklandığı hipotezi (114), NS'un bazen kızamık enfeksiyonundan sonra

remisyona girdiği klinik gözlemlere dayanarak, hücre aracılı immünitelye bağı olduğunu göstermektedir. Bu hipotez için ek kanıtlar, NS'un çeşitli alerjik reaksiyonları takiben bazı hastalarda geliştiği ve NS'lu hastalarda atopi ve IgE düzeylerinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (115,116). Bazı araştırmacılar NS'lu hastaların serumunda glomerüler kapiller duvar üzerinde doğrudan etki edebilen sitokin [IL1, IL2, IL4, IL12, IL18, IL13, tümör nekroz faktörü alfa (TNF α)] konsantrasyonlarının artmış olduğunu göstermiştir (117). Sıçanlara enjekte edilen NS (relaps) hastalarından alınan T hücre hibridom süpernatantlarının, proteinüri ve podosit food proçes füzyonunu indüklediği bulunmuştur (118). Tüm bu gözlemler, idiopatik NS'nin patogeneğinde bağışıklık sisteminin rolüne işaret etmektedir. NS'un immünsüpresif ilaçlara sıkça iyi yanıtı vermesi, NS'un başlatılmasında immünolojik mekanizmaların katılımının ek kanıtı olarak görülmüştür (117).

Glomerülonefritin proliferatif formlarının akut fazı, inflamatuvar hücrelerin glomerüler infiltrasyonu ve glomerüler hücrelerin proliferasyonu ile karakterizedir. Lenfositlerin ve/veya makrofajların yoğunluğu, IgA nefropatisi dahil olmak üzere kronik glomerüler nefritte hastalık progresyonunu öngörmektedir. Deneysel hastalık modellerinde, CD4+ ve CD8+ T hücrelerinin, kresentik glomerülonefritin indüklenmesinde önemli olduğu gösterilmiştir (118). Ayrıca insandaki membranöz nefropatinin farelerdeki karşılığı olan Heymann nefritinde CD8+ lenfositlerin efektör hücreler olarak rol oynadığı düşünülmektedir (119). Ancak glomerüllerdeki hasara aktive CD4+ lenfositler ve makrofajların sitotoksik ürünleri de katkıda bulunurlar (120,121).

CD4+ ve CD8+ T hücrelerinin, sıçanlarda uyarılan ilerleyici mezengial proliferatif glomerülonefrit gelişimi için esas olduğu gösterilmiştir. CD4+ T hücreleri, erken aşamada önemli bir rol oynarlarken, CD8+ T hücreleri, daha sonraki aşamadaki hastalığın ilerlemesinde esas olarak rol oynayabilir (122).

2.7.2. SMA

α -Düz kas aktin (SMA), birbiriyle yakından ilişkili altı aktin izoformundan biridir (Tablo 5). Çoğu hücrede bulunan γ ve β sitoplazmik aktinlerin aksine, α -düz kas aktinin varlığı düz kaslı dokulara yönelik bir işaret olarak yorumlanmıştır. Erişkin vasküler düz kasta, α -düz kas aktin baskın aktin izoformudur ve majör kasılma fonksiyonuna sahip olduğu öne sürülmüştür. Son zamanlarda bu aktin izoformu ayrıca myoepitelyal hücrelerde, patolojik dokulardaki myofibroblastlarda ve bazı iskelet kası tümörlerinde de gözlenmiştir (123).

Tablo 5: İmmunohistokimyasal boyama için kullanılan aktin antikorları

	Anti- α SM- 1	CGA-7*	HHF-35	C4
Düz kas α -aktin	+	+	+	+
Düz kas γ -aktin		+	+	+
Çizgili kas α -aktin			+	+
Kalp kası α -aktin			+	+
Sitoplazmik β -aktin				+
Sitoplazmik γ -aktin				+

* Tüm düz kas α -aktin-pozitif hücreleri tespit etmez.

Normal böbrekte, kontraktıl protein SMA immünhistokimyasal ekspresyonu vasküler düz kas hücreleri ile sınırlıdır. Patolojik koşullarda, SMA'nın ekspresyonu mezengial hücrelerde ve interstisyel miyofibroblastlarda da bulunur (124).

Böbrek hasarının gelişimi, sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin etkisi altında ortaya çıkan endotelial, mezengial, renal epitelyal hücrelerin ve fibroblastların aktivasyonunu kapsar (125). Hem düz kas hücreleri hem de fibroblastların özelliklerine sahip olan myofibroblastlar, iyileşme ve skar oluşumunda rol oynarlar (126). Bu hücreler, transforme edici büyüme faktörü-1 (TGF-1)'in etkisi altında epitelyal-mezenkimal geçiş yoluyla fibroblastlar, perisitler ve epitelyal hücrelerden kaynaklanmaktadır (127-129). SMA eksprese eden myofibroblastlar

çeşitli glomerüler hastalıklara sahip insan ve hayvanların interstisyel doku ve glomerüllerinde tanımlanmıştır (130-132) ve ekspresyonu prognoz ile ters orantılıdır (126,129).

Doku onarımı ve fibrozis, çoklu süreç içerir. İlk yanıttan sonra, yeni kan damarlarının oluşumuna, (myo) fibroblastların ortaya çıkmasına ve ekstraselüler matriksin kademeli olarak granülasyon dokusu oluşturmaya neden olan anjiyo/stromagenezis meydana gelir. Granülasyon dokusu oluşumundan sonra doku remodelingi myofibroblast olarak adlandırılan kasılma özelliğine sahip fibroblastlar tarafından düzenlenir (133). Renal myofibroblastların kaynakları, proliferasyondan kaynaklanan lokal yerleşik fibroblastlar (% 50) ve kemik iliğinden köken alan proliferasyon olmayan myofibroblastlardır (% 35) (134). Geriye kalan progenitör popülasyonun dolaşımdaki fibrositlerden, lokal perisitlerden ve yerleşik epitel hücrelerinden köken aldığı öne sürülmektedir (135). SMA ekspresyonu fibroblastları myofibroblastlara indükler. Kalıcı myofibroblast aktivasyonu, keloid doku veya doku fibrozisi dahil hipertrofik skarlar ile sonuçlanır. Lokal aktive edici fibroblastlar SMA'yı eksprese eder ve fibrotik doku haline gelir (136).

Mezengial hücre çeşitli fonksiyonlara sahip olabilir. Mezengial hücre, mezengial matriksi oluşturmak için ekstraselüler matriks komponentleri üretimi yoluyla glomerulusa yapısal destek sağlar. Mezengial hücre, monosit / makrofaj gibi proinflamatuar efektör hücre olarak işlev görebilir. İn vitro çalışmalar, mezengial hücrenin fagositik olduğunu ve ayrıca oksidanları, prostaglandinleri ve IL-1, TNF, IL-6 ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü gibi sitokinleri serbest bırakabileceğini göstermiştir. Mezengial hücreler ayrıca morfolojik olarak kültürde düz kas hücrelerini andırır. Mezengial hücreler kasılarak glomerüler hemodinamiği düzenleyebilme özelliğine sahiptir. Bunu glomerüler kapiller yüzey alanını kontrol ederek sağlar.

Mezengial hücrelerin ilgili olabileceği glomerüler hastalıklar arasında muhtemelen IgA nefropatisi, membranoproliferatif GN, minimal değişim

hastalığının varyantları ve fokal sklerozis vardır. Bunlar, mezengial hücre proliferasyonunun yaygın olarak gözlemlendiği hastalıklardır (123).

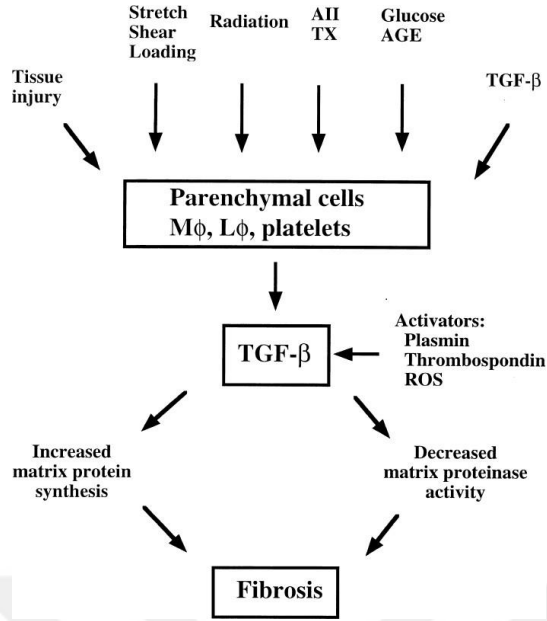
Kemirgen modelleri üzerinde yapılan çalışmalarda, mezengial hücre proliferasyonuna neden olan hasarın, aynı zamanda, mezengial hücreler tarafından SMA ekspresyonunun artmasına neden olduğunu göstermiştir. Bazı hasar modellerinde bu düz kas aktinlerinin artmış ekspresyonunun, glomerüler hücre proliferasyonu ile sıkı bir şekilde bağlantılı olduğunu ve hücre proliferasyonunu bloke eden durumların, SMA gen ekspresyonunun upregülasyonu ve glomerüllerde protein üretimini de önlediği bildirilmiştir. Johnson ve arkadaşları tarafından yapılan ilk deneysel yayın, yaygın böbrek hastalıklarında SMA'nın rolüne ilişkin bir dizi klinik çalışmayı içermektedir (137). 1992'de Alpers ve arkadaşları proliferatif glomerülo nefrit tiplerinde SMA'nın daha yüksek ekspresyonunu bulmuşlardır (138). IgA nefropatisinde interstisyumda SMA ekspresyonu renal fonksiyon ve hastalığın progresyonu ile ilişkilidir (139,140). İnterstisyel myofibroblastlarda SMA'nın ekspresyonu MDH ve idiopatik membranöz GN'in erken evresi arasında ayırım yapmaya yardımcı olur. IgA nefropatisi olan hastalarda, SMA'nın daha yüksek mezengial ekspresyonu renal fonksiyonda progresif bir düşüş öngörmektedir (141). FSGS'de interstisyumda artmış SMA ekspresyonu artmış proteinüri ile ilişkilidir (142). SMA ekspresyonu lupus nefritinde yararlı bir belirteçtir (143). Günümüzde, SMA'ya olan ilgi, podositlerin sitoplazmasında SMA'nın nefrin ile ilişkili olması ve dolaylı olarak glomerüler filtrasyon bariyerinde yer alması nedeniyle artmaktadır (144). SMA ekspresyonunun ve proliferasyonunun değişmesi, podosit hasarının progresyonu için kritiktir (145). SMA, doku remodülasyonu ve epitelyal-mezenkimal geçişin araştırılmasında metalloproteinaz ve nestin gibi markerler ile birlikte çeşitli GN tiplerinde analiz edilir (146).

Farklı insan tiplerinde SMA ekspresyonu, proliferasyon belirteçleri ve prognostik etki ile ilgili bir dizi makale yayınlanmıştır. Çoğu yazar glomerülde SMA ekspresyonunun proliferatif GN'de daha yüksek olduğu ve hastalık arttıkça arttığını kabul eder, bu da SMA ekspresyonunu potansiyel bir klinik prognostik faktör haline getirir (147).

2.7.3. TGF- β

Transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF- β) izoformları, yara iyileşmesinde ve doku onarımında merkezi bir rol oynayan çok fonksiyonlu sitokinlerdir. TGF- β tüm dokularda bulunur, fakat özellikle kemik, akciğer, böbrek ve plasenta dokularında bol miktarda bulunur. TGF- β , pek çok parankimal hücre tipi tarafından üretilir ve aynı zamanda lenfositler, monosit/makrofajlar ve trombositler gibi hücreler tarafından da üretilir veya salınır. Yaralanma veya enflamasyon sonrasında, tüm bu hücreler potansiyel TGF- β kaynaklarıdır. Genel olarak, TGF- β 'nin salınması ve aktivasyonu, çeşitli hücre dışı matriks proteinlerinin üretimini uyarır ve bu matriks proteinlerinin bozunmasını engeller, ancak istisnalar da mevcuttur. TGF- β 'nin bu etkileri, ideal koşullar altında normal doku remodelingine yol açan doku tamirine katkıda bulunur ve doku fibrozisinin bir bileşenini içerebilir. Birçok hastalıkta, aşırı TGF- β 'nin bulunması doku fibrozisinde patolojik durumlara katkıda bulunur ve normal organ işlevine zarar verir.

Doku bir şekilde zarar gördüğünde ya da zorlandığında TGF- β mRNA ve proteinin, parankimal hücreler ve/veya infiltratif lenfoid hücreler, özellikle makrofajlar tarafından arttırılmış ekspresyonuna bağlı bir onarım süreci başlatılır. Mekanik gerginlik, özellikle siklik bir tarzda, mezengial hücreler ve vasküler düz kas hücreleri tarafından TGF- β üretimini artırır. Ayrıca TGF- β , TGF- β üretimini arttırmak için otokrin ve parakrin feedbackten yararlanır. Daha sonra TGF- β matriks protein sentezini arttırmak ve matriks protein yıkımını azaltmak için doku fibrozisine neden olur. Bu model, TGF- β için merkezi bir rol öngörür; katkıda bulunan ve TGF- β 'nin doku fibrozisi için gerekli olmadığı başka faktörler olsa da, katılımı belgelenmiştir (Şekil 8).



Şekil 8: Doku fibrozisinde TGF-β'nin rolü. Çeşitli faktörler TGF-β gen ekspresyonunu, protein ekspresyonunu veya parankimal hücreler, doku makrofajları (Mφ) ve lenfositler (Lφ) ile aktiviteyi artırır, sonuçta fibrozise neden olur (148).

Ekstraselüler matriks, yapısal destek, hücresel adezyon, sıvı ve makromoleküllerin hareketine bariyer olmak gibi temel fonksiyonları sağlar. Her doku tipi, özel doku fonksiyonlarına katkıda bulunan belirli matriks elemanlarına sahiptir. Özel doku fonksiyonları, belirli hücre dışı matriks proteinleri ile gerçekleştirilir. TGF-β birçok matriks proteininin ifadesini düzenler. Normal yetişkin hayvanlarda matriks proteinlerinin bozulması ve remodelingi, TGF-β ve diğer sitokinlerin hücresel etkileriyle kontrol edilir. TGF-β, fibronektin, kollajenler ve matriks proteoglikanları gibi matriks bileşenlerinin ekspresyonunu uyarak bu dengede merkezi bir rol oynar .

TGF-β, çoğu organda doku fibrozisinin patogeneze katkıda bulunur. TGF-β, radyoterapiye takiben oluşan fibrozisin gelişiminde rol oynar; radyasyon, TGF-β'nin lokal üretimini artırır ve latent TGF-β'yı aktive eder. Akciğer ve böbrek transplantasyonlarının kronik reddi, doku içinde TGF-β'nin artmış ekspresyonu ile ilişkilidir. Kalsinörin inhibe eden ilaçların kullanımı siklosporin, kültürdeki tübüler epitelyal hücrelerde TGF-β üretimini uyarır. Öte yandan, antijenik olarak uyumsuz organların transplantasyonunu takiben deney hayvanlarının

böbreklerinde TGF- β üretiminin artması, reddedilmenin kendisinin de TGF- β ekspresyonunu indükleyebileceğini göstermektedir.

TGF- β , hem böbrek parankim hücreleri hem de infiltrate lenfoid hücreler tarafından üretilir. Normal insan böbreğinde, bazı glomerüler hücrelerde, Bowman'ın kapsül paryetal epitel hücreleri, distal tübüler hücreler ve nadiren interstisyel hücrelerde düşük TGF- β mRNA ekspresyonu seviyeleri bulunur. Birçok glomerüler hastalık, artan TGF- β ekspresyonu ile ilişkilidir. IgA nefropatisi de dahil olmak üzere mezengial proliferatif glomerülonefritte, glomerulus içindeki mezengial hücre ekspresyonu ile uyumlu olarak TGF- β 'nın upregülasyonu vardır. Glomerüler epitelyal hücre proliferasyonunun olduğu ve makrofajların Bowman boşluğuna göç ettiği glomerülonefritlerin kresentik formasyonlarında, TGF- β 1, β 2 ve β 3'ün güçlü ekspresyonu vardır. TGF- β mRNA'nın artan ekspresyonu, FSGS'de, özellikle HIV-1 enfeksiyonu ile ilişkili varyantında bulunur. FSGS'de, visseral epitelyal hücrelerde, paryetal epitelyal hücrelerde, interstisyel makrofajlarda ve tübüler epitelyal hücrelerde TGF- β 1 ve β 3 mRNA ekspresyonunun artışı vardır.

İn vitro çalışmalar, renal hücrelerin TGF- β 'ya yanıt verdiğini doğrulamaktadır. TGF- β mezengial hücre proliferasyonu üzerinde bifazik bir etkiye sahiptir: düşük TGF- β seviyeleri proliferasyonu uyarır, yüksek seviyeler proliferasyonu inhibe eder. Çok sayıda deneysel hayvan çalışması TGF- β 'nın glomerüler ekspresyonuyla fibrozis arasında ilişki olduğunu göstermiştir. TGF- β 'nın glomerüler hasar için gerekli olduğunu gösteren önemli deneysel kanıtlar ilk olarak Border ve arkadaşları tarafından geliştirildi, bu da TGF- β 'ya karşı nötralize edici antikörün Thy-1 nefrit modelinde glomerüler histolojiyi iyileştirdiğini gösterdi.

Kronik tübülointerstisyel fibrozisi olan böbreklerde, kalınlaşmış tübüler bazal membran ve genişlemiş interstisyel kompartman, kollajen I, III, V, VII ve fibronektinde artış ile karakterize interstisyel fibrozis vardır. İnterstisyel TGF- β ekspresyonu deneysel modellerde artmıştır, ancak sorumlu hücre tipi, hasarın

yapısına bağlı olarak farklıdır. Sıçanlarda unilateral üreteral obstrüksiyonu takiben, monosit kemoatraktan protein-1 ve TGF- β 1 RNA seviyelerinde ilerleyen saatlerde bir artış ve aynı zamanda infiltrate eden makrofajların sayısında yaklaşık 15 katlık bir artış vardır. Makrofaj sayıları ile renal TGF- β 1 mRNA ekspresyonu arasında güçlü bir korelasyon vardır ve interstisyel makrofajların TGF- β 1 üretmesi olasıdır. İmmün aracılı interstisyel nefritli fare modelinde, tübüler bazal membran antijeni için spesifitesi olan sitotoksik CD8+ T lenfositleri de peritübüler alanda TGF- β 1 ve β 3 salgırlar ve fibrozisin indüklenmesinden sorumlu olabilirler. İskemik renal hasarın ardından tübüler epitelyal hücreler tarafından TGF- β 1 ekspresyonunun artması söz konusudur. Bu nedenle, parankimal ve infiltrate lenfoid hücreler aracılığıyla hareket eden birçok interstisyel hasarlanmanın yolu, TGF- β 'nin interstisyuma salınması üzerine birleşir (148).

II. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışmaya 01.01.2014-01.01.2018 tarihleri arasında Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'na nefrotik/nefritik sendrom klinik ön tanısıyla gelen non-amiloidoz 18 yaş ve üzeri 62 adet böbrek biyopsisi dahil edilmiştir.

Hastaların yaş ve cinsiyetleri, serum kreatinin (mg/dl), GFH (ml/min/1.73 m²), proteinüri (mg/24 saat) ve hemoglobin (gr/dl) miktarı gibi klinik veriler merkezimize ait hastane bilgi sisteminden sağlandı. Hastalara biyopsi yapılmadan önceki en yakın veriler kullanıldı. GFH, Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) (MDRD formülü = $170 \times (\text{serum Cr})^{-0.999} \times (\text{yaş})^{-0.176} \times (0.762 \text{ hasta kadınsa}) \times (1.180 \text{ hasta siyah ırktansa}) \times (\text{serum BUN})^{-0.170} \times [(\text{Albumin}) + 0.318]$) formülü kullanılarak hesaplandı.

Perkütan böbrek iğne biyopsi materyalleri girişimsel radyoloji tarafından ultrason rehberliğinde alındıktan sonra serum fizyolojik ile ıslatılmış spanç içerisinde en geç bir saat içinde patoloji laboratuvarına transportu sağlanmıştır. Patoloji laboratuvarında iğne biyopsi materyalinin bir kısmı mikroskop altında IF incelemeye ayrıldı. Biyopsinin geri kalan kısmı ışık mikroskopik inceleme için %5'lük formaldehitte üç-beş saat arasında (materyalin bölümümüze geliş saatine göre) tespit sonrası Leica marka otomatik takip cihazında alkol-ksilol ile dehidrate edilip parafinize edildi ve 70 C°'de parafin blok içine gömüldü.

Parafin bloklardan her preparatta en az iki kesit olacak şekilde, 1,5-2 mikron kalınlıkta 12 adet kesit hazırlandı ve rutin uygulamaya göre; 1. kesit hematoksilen eozin (HE), 2. kesit PAS, 6. kesit HE, 7. kesit masson trikrom, 8. kesit kongo kırmızısı, 9. kesit HE, 10. kesit Jones metenamin silver ile boyandı. Kesitlerden 3 ve 11 normal, 4., 5. ve 12. kesitler polizinli lama alınıp gereğinde diğer histokimyasal ve immunohistokimyasal incelemelerde kullanılmak üzere hazırlandı.

İF inceleme için ayrılan parçadan -60C° cryostat mikrotom ile 4 mikronluk frozen kesitler 11 adet lama alındı. Bunlardan biri etil alkolde fikse edilip HE ile boyandı ve glomerül yeterliliği değerlendirildi. Ardından dokunun durumuna göre 1 ya da 2 tane yedek IF kesiti alındı. Diğer kesitler iki kere 5 dakika süre ile pH'ı 7,6 olan fosfat buffer solüsyonunda (PBS) yıkandı ve rehidrate edildi. Floresan izotiyosiyanat (FTIC) işaretli antikorlar ile 1:20 oranındaki dilüsyonda, nemli karanlık ortamda, oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilen kesitler sonrasında tekrar iki kere 5'er dakika PBS ile yıkanarak gliserin ile kapatıldı ve İF incelemeye kadar +4C°'de karanlık ortamda saklandı. IF incelemede IgA, IgG, IgM, C3c, C1q, kappa, lambda ve fibrinojen boyaları değerlendirildi.

Tüm gelen böbrek biyopsilerinin tüm ışık ve immunfloresan değerlendirmeleri aynı patolog tarafından yapıp rutin olarak klasik bilgilere göre raporlandı.

Çalışmaya dahil edilen biyopsiler en az 2 glomerül içermektedir.

3.1. İMMUNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEM

Her bir antikor için immunohistokimyasal uygulama tüm olgulara tek seansta yapıldı ve pozitif kontroller birlikte çalışıldı. İmmunohistokimyasal çalışmada kullanılan primer antikorlar ve yapılan uygulamalar Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6: İmmunohistokimyasal uygulama prosedürü

Primer Antikor	Tip; Klon	Dilüsyon	İnkübasyon Süresi	Antijen Açığa Çıkarma	Firma
α SMA	1A4	1:100	15 Dakika	ER1/10 Dakika	Cellmarque
TGF- β	Poliklonal	1:50	15 Dakika	ER2/10 Dakika	Thermo Scientific
CD4	4B12	1:100	15 Dakika	ER2/30 Dakika	Novocastra
CD8	4B11	1:50	15 Dakika	ER2/20 Dakika	Novocastra

Çalışmaya dahil edilen parafin bloklardan adezivli lamlara hazırlanan 1-1,5 μ m kalınlığındaki parafin kesitler 80°C'lik etüvde 1 saat bekletildikten sonra, Leica Bondmax immunohistokimya otomatik cihazı ile aşağıdaki işlemler uygulandı.

1. İki kez yıkama solüsyonundan geçirildi. (0 dakika)
2. ER solüsyonu - 0 dakika
3. ER solüsyonu - 0 dakika
4. ER solüsyonu - Antikora göre 10/20/30 dakika (100°C)
5. ER solüsyonu - 12 dakika
6. Yıkama solüsyonu - 0 dakika (35°C)
7. Yıkama solüsyonu - 0 dakika (35°C)

8. Yıkama solüsyonu - 0 dakika (35°C)
9. Yıkama solüsyonu - 3 dakika
10. Perokside blok - 10 dakika
11. Yıkama solüsyonu - 0 dakika
12. Yıkama solüsyonu - 0 dakika
13. Yıkama solüsyonu - 0 dakika
14. Primer antikor - 15 dakika
15. Yıkama solüsyonu - 0 dakika
16. Yıkama solüsyonu - 0 dakika
17. Yıkama solüsyonu - 0 dakika
18. Postprimer - 7 dakika
19. Yıkama solüsyonu - 2 dakika
20. Yıkama solüsyonu - 2 dakika
21. Yıkama solüsyonu - 2 dakika
22. Polimer - 7 dakika
23. Yıkama solüsyonu - 2 dakika
24. Yıkama solüsyonu - 2 dakika
25. Distile su - 0 dakika
26. Mikst diaminobenzidin - 0 dakika
27. Mikst diaminobenzidin - 7 dakika
28. Distile su - 0 dakika
29. Distile su - 0 dakika

30. Distile su - 0 dakika

31. Hematoksilen - 5 dakika

32. Distile su - 0 dakika

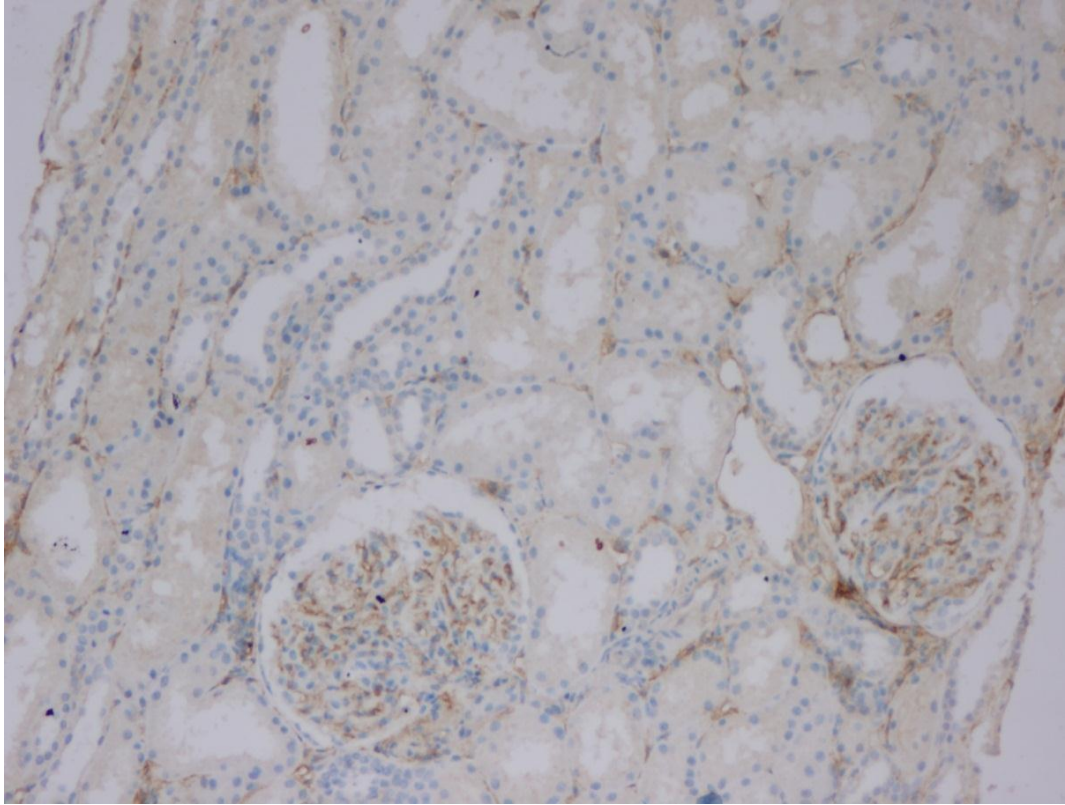
33. Yıkama solüsyonu - 0 dakika

34. Distile su - 0 dakika

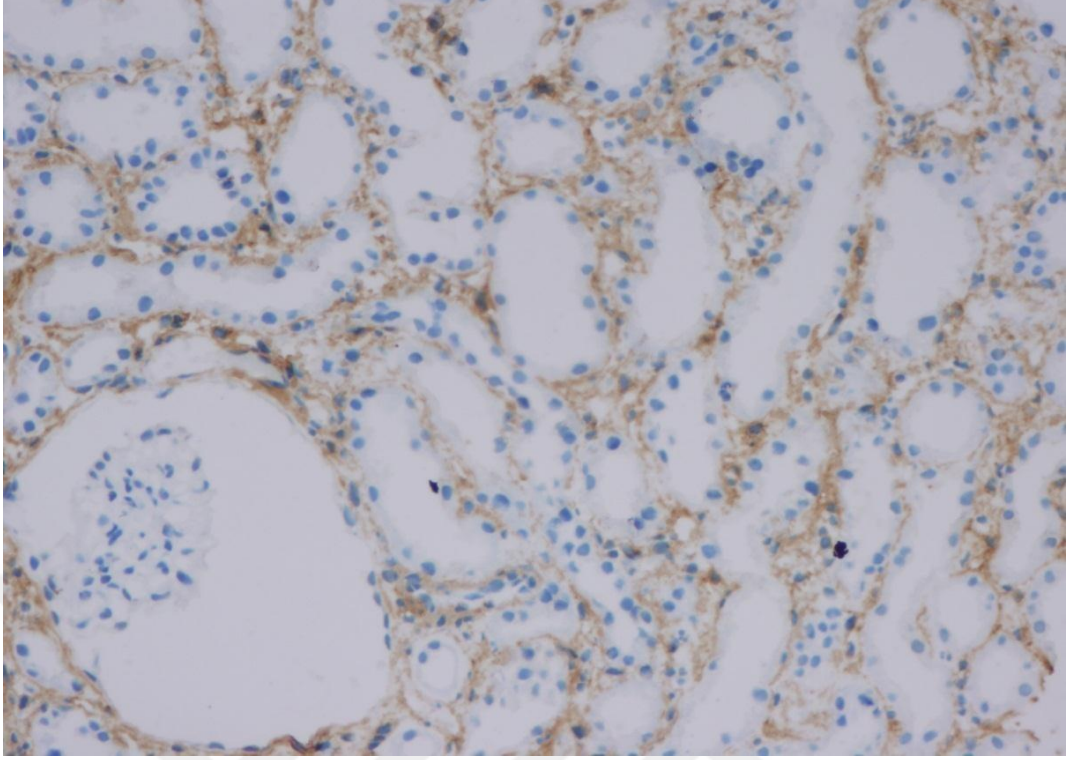


3.2 İMMUNOHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

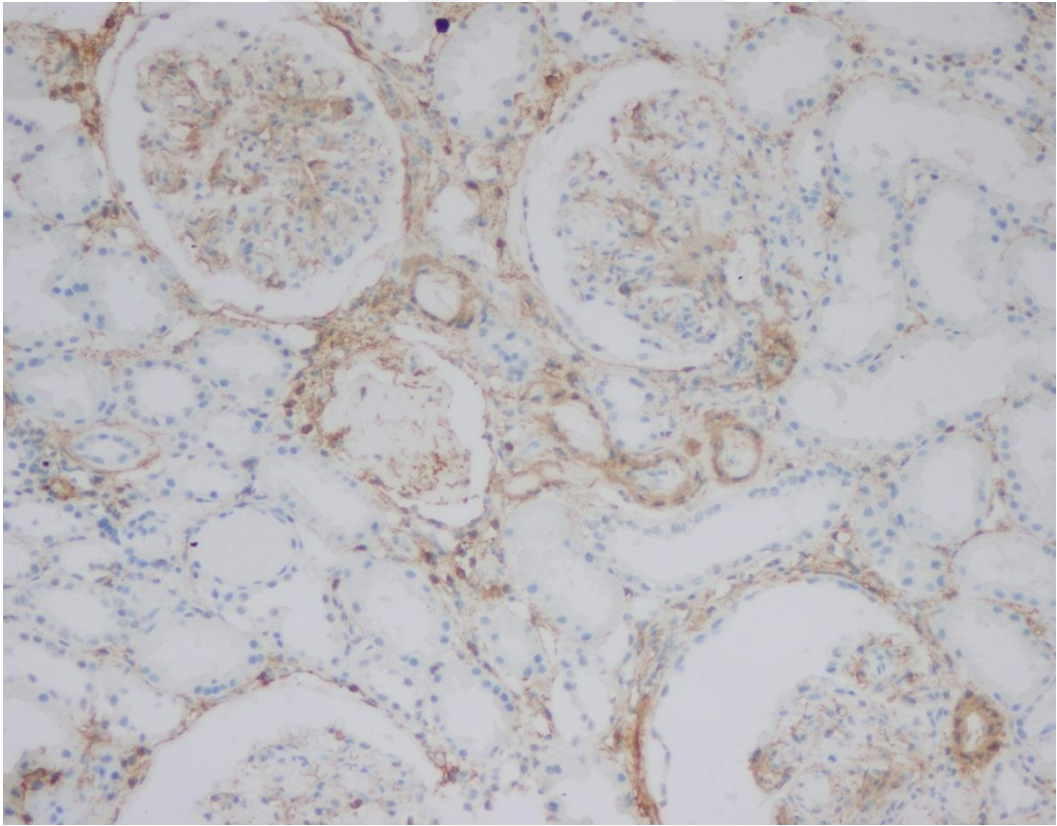
SMA ve TGF- β değerlendirilirken Alexopoulos ve ark.'nın (149) yaptığı çalışmadaki skorlama örnek alındı. Her iki immunohistokimyasal markerın reaksiyon şiddeti 0'la 3 arasında yarı-kantitatif bir skorlama sistemi kullanılarak istatistiksel değerlendirme için derecelendirildi. 0=immünoreaktivite göstermeyen, 3=en yoğun immünoreaktivite, 1 ve 2 ise orta dereceli immünoreaktivite olarak skorlandı. TGF- β , interstisyel, glomerüler ve vasküler kompartmanlarda değerlendirildi. SMA vasküler kompartmanda normalde de reaksiyon verdiği için sadece glomerüler ve interstisyel alanlardaki immünopozitivite dikkate alındı (Şekil 9,10,11).



Şekil 9: Glomerüler derece 2 ve interstisyel derece 1 TGF- β immünopozitivitesi.

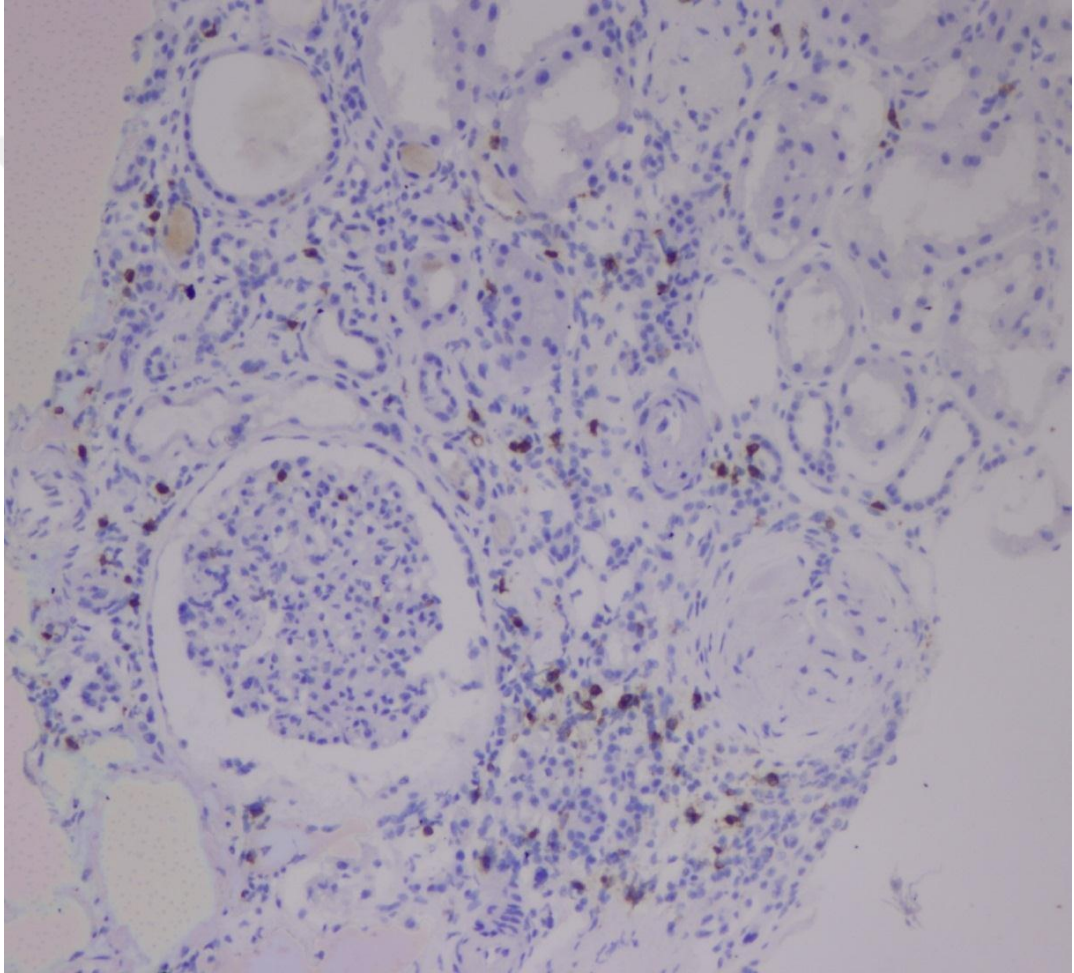


ğekil 10: İnterstisyel derece 3 SMA imm nopozitivitesi.

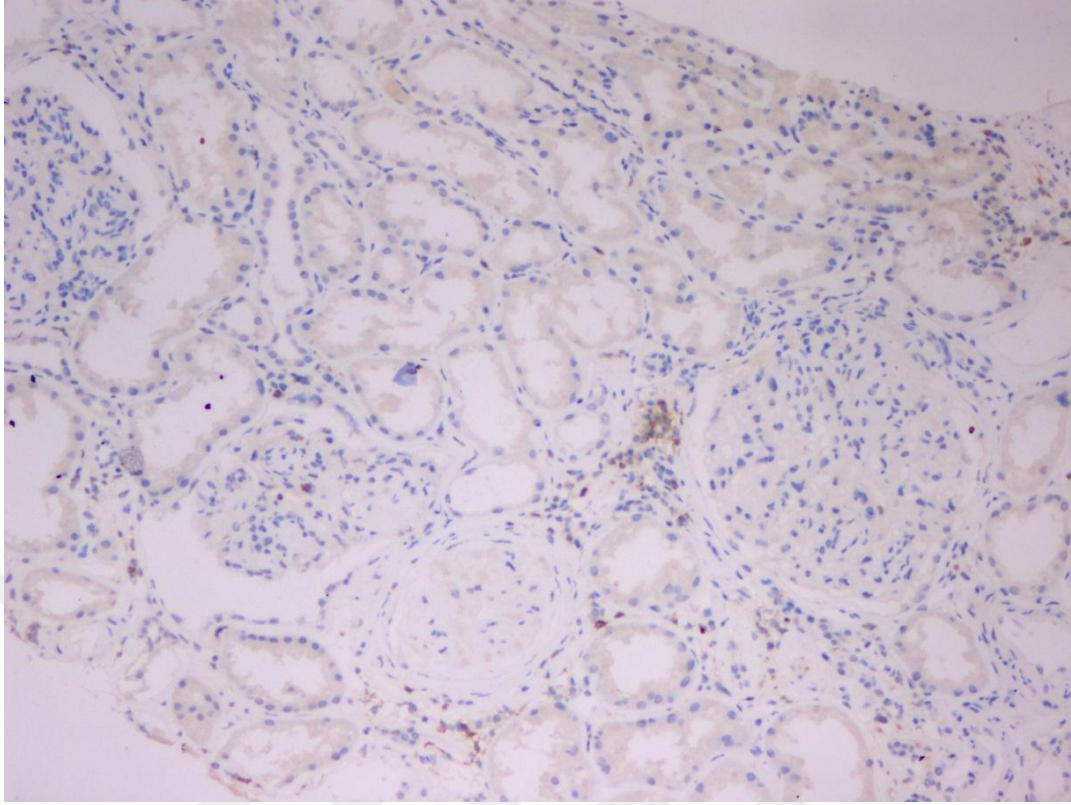


ğekil 11: Glomerüler derece 3 SMA imm nopozitivitesi.

CD4 ve CD8 değ erlendirilirken Dana Kidder ve ark."nın (150) yaptığı çalışmadaki sk rlama örnek alındı. Glomerüler ve interstisyel kompartmanlardaki immunoreaktif hücrelerin sıklığı incelendi. Tüm glomerüllerdeki pozitif boyanan hücreler toplandı ve glomerül sayısına bölündü. İncelenen toplam glomerül sayısı için glomerüler sk r bulundu. İnterstisyel sk r için 8 büyük büyütme alanındaki (x400) immunoreaktif hücreler sayıldı ve ortalaması kullanıldı (şekil 12,13).



şekil 12: Glomerüler ve interstisyel CD8 pozitif boyanan T lenfositler



Şekil 13: Glomerüler ve interstisyel CD4 pozitif boyanan T lenfositler

3.3. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Elde edilen veriler tanımlayıcı istatistikler (Aritmetik ortalama, ortanca, standart sapma, yüzde dağılımları, minimum ve maksimum değerler) ile değerlendirildi. İki ölçüm verisinin korelasyonunu değerlendirmek için Spearman testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi (p) $<0,05$ olarak anlamlı kabul edilmiştir.

III. BULGULAR

Çalışmamızdaki 62 hastanın 33'ü (%53,2) erkek, 29'u (%46,8) kadındır. Hastaların yaş ortalaması 50,68±14.84 (19-84 aralığında)'dır.

Çalışmaya dahil edilen 62 böbrek biyopsisinin 52'si (%83,9) glomerulonefrit, 10'u (%16,1) tübülointerstisyel nefrit vakalarından oluşmaktadır. Glomerulonefritlerin 42'si (%67,7) primer olup bunların da; 15'i (%24,2) IgA nefropatisi, 14'ü (%22,6) membranöz glomerulonefrit, 10'u (%16,1) FSGS, 3'ü (%4,8) minimal değişiklik hastalığı idi. 10'u (%16,1) sekonder olup bunlarında da; 7'si (%11,3) diyabetik nefropati, 3'ü (%4,8) lupus nefropatisi şeklindeydi (Tablo 7).

Tablo 7: Verilerin tanımlayıcı özellikleri

	N	%
Cinsiyet		
Kadın	29	46,8
Erkek	33	53,2
Hastalık		
Glomerulonefritler	52	83,9
TIN	10	16,1
Glomerulonefritler		
IgA Nefropatisi	15	24,2
Membranöz Glomerulonefrit	14	22,6
FSGS	10	16,1
Diyabetik nefropati	7	11,3
Minimal Değişiklik Hastalığı	3	4,8
Lupus Nefropatisi	3	4,8

Glomerulonefrit vakalarının serum kreatinin ortalaması 1,56±1,36 (0,38-6,99 aralığında) mg/dl, GFH ortalaması 70,24±42,54 (10-212 aralığında) ml/min/1.73 m², hemoglobin ortalaması 12,48±2,13 (8-16,4 aralığında) g/dl, 24

saatlik proteinüri ortalaması $4240,87 \pm 3447,01$ (62-13212 aralığında) mg/24saat'tir. TIN vakalarında ise serum kreatinin ortalaması $4,89 \pm 2,13$ (2,83-10,24 aralığında) mg/dl, GFH ortalaması $10,94 \pm 3,68$ (5-17 aralığında) ml/min/1.73 m², hemoglobin ortalaması $10,65 \pm 1,61$ (7,1-12,5 aralığında) g/dl, 24 saatlik proteinüri ortalaması $2654,12 \pm 3425,06$ (166,08-10510 aralığında) mg/24saat'tir. GN ve TIN vakaları ile klinik verilerden serum kreatinin (<0,001), GFH (<0,001) ve hemoglobin (0,019) arasındaki ilişki anlamlı saptanırken proteinüri ile anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Tablo 8).

Tablo 8: Hastaların klinik verileri

		Ort±SS	Min- Max	u	p
S.Kreatinin	GN	1,56±1,36	0,38-6,99	32	<0,001
	TIN	4,89±2,13	2,83-10,24		
GFH	GN	70,24±42,54	10-212	21	<0,001
	TIN	10,94±3,68	5-17		
Hemoglobin	GN	12,48±2,13	8-16,4	137	0,019
	TIN	10,65±1,61	7,1-12,5		
Proteinüri	GN	4240,87±3447,01	62-13212	176	0,108
	TIN	2654,12±3425,06	166,08-10510		

Glomerülonefritler incelendiğinde TGF-β'nın glomerüler (%40,4) ve interstisyel (%53,8) immunoreaktivitesinde derece 1 en fazla izlenirken, vasküler immunoreaktivitesinde ise derece 0'ın fazla olduğu (%57,7) görülmüştür. SMA'nın ise glomerüler (%46,2) ve interstisyel (%59,6) immunoreaktivitesinde ise derece 1'in en fazla olduğu dikkati çekmiştir. TIN'ler incelendiğinde TGF-β'nın glomerüler immunoreaktivitesinde derece 0 (%70) en fazla, interstisyel immunoreaktivitesinde derece 1 (%40) ve 2 (%40), vasküler immunoreaktivitesinde ise derece 2 (%40) en fazla izlenmiştir. SMA'nın ise glomerüler immunoreaktivitesinde derece 0 (%90) en fazla, interstisyel

immunoreaktivitesinde ise derece 1 (%40) ve 2 (%40)'nin fazla olduğu görülmüştür (Tablo 9).

Tablo 9: TIN ve GN'lerde SMA ve TGF- β belirteçlerinin immünoreaktivite dereceleri

	TIN		Glomerülonefrit	
	N	%	N	%
İnterstisyel SMA				
0			1	1,9
1	4	40,0	31	59,6
2	4	40,0	15	28,8
3	2	20,0	5	9,6
Glomerüler SMA				
0	9	90,0	21	40,4
1	1	10,0	24	46,2
2			5	9,6
3			2	3,8
İnterstisyel TGF-β				
0	2	20,0	9	17,3
1	4	40,0	28	53,8
2	4	40,0	12	23,1
3			3	5,8
Glomerüler TGF-β				
0	7	70,0	13	25,0
1	3	30,0	21	40,4
2			14	26,9
3			4	7,7
Vasküler TGF-β				
0	3	30,0	30	57,7
1	2	20,0	10	19,2
2	4	40,0	11	21,2
3	1	10,0	1	1,9

Glomerülonefritlerde glomerüler CD8 pozitif boyanan T hücre ortalaması $0,59 \pm 0,60$, interstisyel CD8 pozitif boyanan T hücre ortalaması $15,54 \pm 14,64$, glomerüler CD4 pozitif boyanan T hücre ortalaması $0,14 \pm 0,25$, interstisyel CD4 pozitif boyanan T hücre ortalaması ise $16,42 \pm 15,63$ olarak bulundu. TIN'lerde glomerüler CD8 pozitif boyanan T hücre ortalaması $0,51 \pm 0,80$, interstisyel CD8 pozitif boyanan T hücre ortalaması $47,84 \pm 21,37$, glomerüler CD4 pozitif boyanan T hücre ortalaması $0,10 \pm 0,17$, interstisyel CD4 pozitif boyanan T hücre ortalaması

ise $34,65 \pm 20,55$ olarak bulundu. TIN ve GN vakaları arasında interstisyel CD8 ($p < 0,001$) ve CD4 ($p = 0,003$) pozitif T lenfositler arasındaki ilişki anlamlı saptanmıştır (Tablo 10).

Tablo 10: TIN ve GN’lerde CD4 ve CD8 pozitif T lenfosit miktarları

	TIN		Glomerülonefrit		P
	Min-Max	Ort $\pm$ SS	Min-Max	Ort $\pm$ SS	
CD8 Glomerüler	0,00-2,50	0,51 $\pm$ 0,80	0,00-2,75	0,59 $\pm$ 0,60	,407
CD8 İnterstisyel	20,25-91,60	47,84 $\pm$ 21,37	1,42-67,50	15,54 $\pm$ 14,64	<0,001
CD4 Glomerüler	0,00-0,40	0,10 $\pm$ 0,17	0,00-1,00	0,14 $\pm$ 0,25	,539
CD4 İnterstisyel	13,80-71,25	34,65 $\pm$ 20,55	0,20-66,60	16,42 $\pm$ 15,63	,003

Yapılan çalışmada glomerülonefritli hastaların immunohistokimyasal boyama sonuçlarıyla klinik verileri karşılaştırıldığında, SMA’nın interstisyum immunoreaktivitesi ile serum kreatinin değeri ($p < 0,001$, $r = 0,477$) arasında düşük düzeyli doğrusal bir korelasyon izlendi. SMA’nın interstisyum immunoreaktivitesi ile GFH ($p < 0,001$, $r = -0,477$) ve hemoglobin seviyesi ($p = 0,032$, $r = -0,297$) arasında düşük düzeyli ters bir korelasyon saptandı.

TGF- β ’nın glomerüler immunoreaktivitesi ile serum kreatinin değeri ($p = 0,025$, $r = 0,310$) arasında düşük düzeyli doğrusal bir korelasyon saptandı. TGF- β ’nın glomerüler immunoreaktivitesi ile GFH ($p = 0,008$, $r = -0,361$) arasında düşük düzeyli ters bir korelasyon izlendi.

TGF- β ’nın vasküler immunoreaktivitesi ile proteinüri ($p = 0,006$, $r = 0,380$) arasında düşük düzeyli doğrusal bir korelasyon saptandı.

SMA’nın glomerüler ve TGF- β ’nın interstisyel immünoreaktivitesi ile hiçbir klinik veri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı. TGF- β ’nın vasküler immünoreaktivitesi ile GFH, serum kreatinin ve hemoglobin ile arasında anlamlı bir korelasyon izlenmedi. Proteinüri ile ise TGF- β ’nın

vasküler immünoaktivitesi dışında hiç bir immünohistokimyasal marker arasında ilişki saptanmamıştır (Tablo 11).

Tablo 11: Glomerülonefritlerde SMA ve TGF- β belirteçleriyle klinik verilerin korelasyonu

		SMA Glomerüller	SMA İnterstisyel	TGF-β Glomerüller	TGF-β Vasküler	TGF-β İnterstisyel
S.Kreatinin	r	,048	,477	,310	,200	,132
	p	,734	<0,001	,025	,155	,350
GFH	r	-,042	-,495	-,361	-,154	-,099
	p	,769	<0,001	,008	,276	,484
Hemoglobin	r	,072	-,297	-,270	-,190	-,041
	p	,611	,032	,053	,177	,774
Proteinüri	r	,033	,141	,008	,380	,198
	p	,814	,319	,954	,006	,160

TIN vakalarında ise SMA ve TGF- β immünoaktivitesi ile hiçbir klinik veri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (Tablo 12).

Tablo 12: TIN'lerde SMA ve TGF- β belirteçleriyle klinik verilerin korelasyonu

		SMA Glomerüller	SMA İnterstisyel	TGF-β Glomerüller	TGF-β Vasküler	TGF-β İnterstisyel
S.Kreatinin	r	-0,29	-0,208	-0,266	-0,178	-0,195
	p	0,416	0,565	0,458	0,623	0,59
GFH	r	0,29	0,117	0,19	0,356	0,311
	p	0,416	0,748	0,599	0,313	0,381
Hemoglobin	r	0,174	-0,376	-0,798	-0,337	-0,363
	p	0,631	0,284	0,056	0,341	0,302
Proteinüri	r	-0,29	-0,428	-0,342	-0,311	-0,519
	p	0,416	0,217	0,334	0,381	0,124

Glomerülonefrit vakalarında interstisyumda CD8 pozitif boyanan T lenfosit miktarı ile serum kreatinin ($p<0,001$, $r=0,593$) değeri arasında orta düzeyli doğrusal bir korelasyon izlendi. İnterstisyumda CD8 pozitif boyanan T lenfosit miktarı ile GFH ($p<0,001$, $r=-0,633$) arasında orta düzeyli, interstisyumda CD8

pozitif boyanan T lenfosit miktarı ile hemogloblin seviyesi ($p<0,001$, $r=-0,375$) arasında ise düşük düzeyli düzeyli ters bir korelasyon saptandı.

İnterstisyumda CD4 pozitif boyanan T lenfosit miktarı ile serum kreatinin değeri ($p<0,001$, $r=0,583$) arasında orta düzeyde doğrusal bir korelasyon izlendi. İnterstisyumda CD4 pozitif boyanan T lenfosit miktarı ile GFH ($p<0,001$, $r=-0,590$) ve hemogloblin seviyesi ($p<0,001$, $r=-0,454$) arasında orta düzeyde ters bir korelasyon saptandı.

Glomerüler CD4 ve CD8 pozitif boyanan T lenfosit miktarları ile hiçbir klinik veri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı. Proteinüri ile ise CD4+ ve CD8+ boyanan T lenfosit miktarları arasında korelasyon saptanmadı (Tablo 13).

Tablo 13: Glomerülonefritlerde CD4+ ve CD8+ T lenfosit miktarlarıyla klinik verilerin korelasyonu

		CD8 Glomerüler	CD8 İnterstisyel	CD4 Glomerüler	CD4 İnterstisyel
S.Kreatinin	r	,125	,593	-,171	,583
	p	,378	<0,001	,225	<0,001
GFH	r	-,143	-,633	,142	-,590
	p	,312	<0,001	,315	<0,001
Hemogloblin	r	-,021	-,375	,020	-,454
	p	,885	,006	,888	<0,001
Proteinüri	r	,158	,141	,175	,250
	p	,264	,320	,216	,074

TIN vakalarında ise CD4 ve CD8 pozitif T lenfosit miktarları ile hiçbir klinik veri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (Tablo 14).

Tablo 14: TIN’lerde CD4+ ve CD8+ T lenfosit miktarlarıyla klinik verilerin korelasyonu

		CD8 Glomerüler	CD8 İnterstisyel	CD4 Glomerüler	CD4 İnterstisyel
S.Kreatinin	r	0,049	-0,328	0,201	-0,636
	p	0,893	0,354	0,577	0,058
GFH	r	-0,117	0,261	-0,186	0,612
	p	0,748	0,466	0,606	0,06
Hemogloblin	r	-0,222	-0,286	-0,38	-0,455
	p	0,538	0,424	0,278	0,187
Proteinüri	r	0,345	-0,055	-0,172	-0,297
	p	0,329	0,881	0,636	0,405

İmmunohistokimyasal belirteçlerin birbirleriyle olan korelasyonları değerlendirildiğinde ise SMA’nın glomerüler immünoreaktivitesi ile TGF-β’nın vasküler (p=0,020, r=0,296) ve interstisyel (p=0,033, r=0,271) immünoreaktivitesi arasında zayıf doğrusal bir korelasyon izlendi.

SMA’nın interstisyel immünoreaktivitesi ile vasküler TGF-β (p=0,010, r=0,324) immünopozitifliği, interstisyel CD8 (p=0,001, r=0,401) ve CD4 (p=0,019, r=0,298) pozitif T lenfosit miktarları arasında düşük düzeyli doğrusal bir korelasyon olduğu görüldü.

TGF-β’nın glomerüler immünoreaktivitesi ile CD8’in interstisyel immünoreaktivitesi arasında düşük düzeyli doğrusal bir korelasyon (p<0001, r=0,481) olduğu görüldü. İnterstisyel TGF-β immünoreaktivitesi ile interstisyel CD4 pozitif T lenfosit miktarı arasında zayıf doğrusal korelasyon (p=0,048, r=0,252) izlendi.

Glomerüler CD4 ve CD8 pozitif T lenfosit miktarları arasında zayıf doğrusal korelasyon (p=0,037, r=0,266) olduğu görüldü. İnterstisyel CD8 ve CD4 pozitif T lenfosit miktarları arasında kuvvetli doğrusal korelasyon (p<0,001, r=0,726) izlendi. Diğer immunohistokimyasal belirteçler arasında korelasyon görülmedi.

İmmünohistokimyasal belirteçlerin kendi içindeki kompartmanlar arası boyanmaların korelasyonuna bakıldığında TGF- β 'nın glomerüler ve interstisyel immünoreaktivitesi arasında düşük düzeyli doğrusal ($p=0,004$, $r=0,358$) bir korelasyon izlendi. TGF- β 'nın vasküler immünoreaktivitesi ile interstisyel TGF- β ($p=0,004$, $r=0,358$) immünoreaktivitesi ve interstisyel CD4 ($r=0,001$, $r=0,397$) pozitif T lenfosit miktarı arasında düşük düzeyli doğrusal bir korelasyon mevcuttu. Diğer belirteçlerde kendi içerisinde herhangi bir korelasyon izlenmedi (Tablo 15).

Tablo 15: İmmünohistokimyasal belirteçlerin birbirleriyle olan korelasyonu

		SMA Glomerüler	SMA İnterstisyel	TGF- β Glomerüler	TGF- β Vasküler	TGF- β İnterstisyel	CD8 Glomerüler	CD8 İnterstisyel	CD4 Glomerüler	CD4 İnterstisyel
SMA Glomerüler	r	1,000								
	p	-								
SMA İnterstisyel	r	,151	1,000							
	p	,242	-							
TGF- β Glomerüler	r	,424	,148	1,000						
	p	,201	,151	-						
TGF- β Vasküler	r	,296	,324	,117	1,000					
	p	,020	,010	,367	-					
TGF- β İnterstisyel	r	,271	,132	,358	,323	1,000				
	p	,033	,306	,004	,011	-				
CD8 Glomerüler	r	,220	-,108	,176	,094	,218	1,000			
	p	,085	,401	,172	,467	,089	-			
CD8 İnterstisyel	r	-,114	,415	,481	,240	,103	,060	1,000		
	p	,376	<0,001	<0,001	,061	,425	,644	-		
CD4 Glomerüler	r	,133	-,236	,237	,192	,244	,266	-,126	1,000	
	p	,303	,065	,064	,136	,056	,037	,327	-	
CD4 İnterstisyel	r	-,121	,298	,247	,397	,252	,109	,726	,108	1,000
	p	,350	,019	,053	<0,001	,048	,400	<0,001	,402	-

IV. TARTIĞMA

Böbrek hastalığı başlangıçta glomerül veya interstisyumda ortaya çıkabilir. Kronik glomerüler hastalık interstisyel hastalığı indüklemeye eğilimi gösterir ve bunun, glomerulus türevli sitokinlerin tübül ve interstisyuma salınmasını ve tübüler hücreler üzerindeki filtrelenmiş proteinin etkisini içeren çeşitli mekanizmalarla meydana geldiğine inanılır. Benzer şekilde, mekanizmalar daha az açık olmasına rağmen, kronik interstisyel hastalık glomerüloskleroz ile ilişkilidir. Önemli olarak, böbrek biyopsisi üzerindeki interstisyel fibrozisin yaygınlığı, glomerüler hastalığın yaygınlığından daha iyi bir renal sağkalım göstergesidir (148).

İnterstisyumda artmış SMA ekspresyonu, proliferatif GN, diyabetik nefropati ve böbrek transplant reddi gibi farklı hastalıklarda bulunabilir. SMA interstisyel fibrozis ve serum kreatinin gibi klinik parametrelerle ilişkisi nedeniyle prognostik değere sahiptir. SMA pozitif myofibroblastlar artmış hücre dışı matriks ve renal fibrozis miktarından sorumludurlar (150).

Goumenos ve ark., 38 IgA nefropatili olguda gerçekleştirdikleri çalışmada, glomerüler değişiklikten çok interstisyel parametrelerin hastalığın klinik gidişi ile korele olduğunu ve interstisyel SMA ekspresyonunun serum kreatinin değerleri, glomerüloskleroz, kollajen tip 4 ve interstisyel infiltrasyon ile korele olduğunu saptamışlardır. Hafif olgularda interstisyel immünoreaksiyonun normale yakın bulunduğu izlenmiştir. Tedavi edilmemiş hastalarda klinik progresyonun değerlendirilmesinde, interstisyel SMA immünopozitifliğinin anlamlı olduğu görülmüştür. Glomerüler SMA immünopozitifliğinin ise serum kreatinin değerleriyle korelasyon göstermediği saptanmıştır (140). Bizim çalışmamızda da glomerulonefritlerdeki glomerüler SMA boyanmasıyla serum kreatinin arasında ilişki izlenmemiştir. Ayrıca Utsonomiya ve ark. biyopsi sırasında normal serum kreatinine sahip 27 IgA nefropatili hastayı analiz etmiş ve mezengiumda SMA ekspresyonunun renal fonksiyonda progresif bir düşüş öngördüğünü bulmuştur (141).

Badid ve ark."nın yaptığı araştırmada membranöz glomerülonefritli 25 adet hastanın böbrek biyopsilerinde interstisyel SMA ekspresyonu ile GFH, serum kreatinin ve proteinüri seviyeleri arasında anlamlı bir korelasyon izlenmiştir (151). Gene Badid ve ark. renal transplant hastalarında SMA ekspresyonunu kullanarak myofibroblast infiltrasyonunun erken saptanmasının renal allograft disfonksiyonunu tahmin edip etmediğini araştırdıkları çalışmada interstisyel SMA ekspresyonu ile GFH arasında anlamlı korelasyon saptanmıştır (152). Ayrıca membranöz glomerülonefritli sıçanlarda yapılan deneysel bir çalışmada, SMA'nın hasarlı glomerüllerin kresentlerindeki myofibroblastlardan eksprese edildiği izlenmiştir (153). Bizim çalışmamızda da Badid ve ark. ile uyumlu olarak interstisyel SMA ekspresyonu ile GFH, serum kreatinin ve proteinüri seviyeleri arasında anlamlı bir korelasyon izlenmiştir.

Makni ve ark."nın lupus nefritinde SMA'nın prognostik önemini anlamak için yaptığı çalışmada kroniklik indeksi ve böbrek yetmezliği ile interstisyel SMA ekspresyonu arasında korelasyon izlenmiştir. Proteinüri ile mezengial ve interstisyel SMA ekspresyonu arasında herhangi bir ilişki bulunmamıştır. Ardışık alınan biyopsilere bakılarak renal progresyon gösteren vakalarla progresyon göstermeyen vakalar karşılaştırıldığında, progresyon gösteren vakalarda interstisyel SMA boyanmasının daha fazla olduğu görülmüştür (143). Çalışmamızda da proteinüri ile herhangi bir kompartmandaki SMA ekspresyonu arasında ilişki izlenmemiştir. Ayrıca klinik veriler ile interstisyel SMA ekspresyonu arasında da Makni ve ark. ile uyumlu olacak şekilde doğrusal bir korelasyon izlenmiştir.

Essawy ve ark., SMA dahil olmak üzere renal hücre iskelet proteini ekspresyonu ile diyabetik nefropatide böbrek yetmezliğinin ilerlemesi arasında yakın bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir. İnterstisyel SMA'nın prediktif değeri, en iyi geleneksel histolojik prediktif parametreler olan tübüler atrofi ve interstisyel fibrozisten üstün ve ondan bağımsızdır (144).

Tamimi ve ark. tarafından yapılan çalışmada progresif ve nonprogresif membranöz glomerülonefritli hastalarda interstisyel SMA ekspresyonu arasındaki fark araştırılmıştır. İnterstisyel SMA immünoreaktivitesi progresifte daha yüksek izlenmiştir. Ayrıca interstisyel myofibroblastların (SMA pozitif hücreler) sayısı, kronik böbrek yetmezliğinin ilerlemesinin oranını yakından tahmin etmiştir (147).

Rastaldi ve ark. çeşitli hastalıklardan oluşan 133 böbrek biyopsisini incelemiş ve vimentin ve SMA pozitif tübüler epitelyal hücre sayıları ile serum kreatinin düzeyi ve interstisyel hasarın derecesi arasında ilişki olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca SMA'nın interstisyel ekspresyonun renal hastalık progresyonunun iyi bir göstergesi olduğunu göstermiştir (155). Çalışmamızda serum kreatinin ile interstisyel SMA immünopozitifliği arasında doğrusal bir korelasyon izlenmiştir.

Saratlija Novakovic ve ark."nın yaptığı çalışmada çocuklarda interstisyumdaki SMA ekspresyonu ile serum kreatinin arasında pozitif korelasyon izlenmiştir. Glomerüldeki SMA ekspresyonu ile serum kreatinin arasında ilişki saptanmamıştır. Erişkinlerde ise glomerüler SMA ekspresyonu ile serum kreatinin arasında negatif korelasyon izlenmiştir. Hem erişkinlerde hem de çocuklarda SMA'nın renal ekspresyonu ile proteinüri (24 saatlik) arasında herhangi bir ilişki bulunmamıştır (156). Çalışmamızdaki tüm vakalar erişkin olmasına rağmen Saratlija Novakovic ve ark."nın interstisyel ve glomerüler SMA ekspresyonunun serum kreatinin arasındaki ilişki çocuklarda bulunduğu sonuçla örtüşmektedir. Ayrıca bizim çalışmamızda da SMA ile proteinüri arasında ilişki bulunamamıştır.

Literatürde, primer ve sekonder glomerulopatilerde SMA ile yapılan çalışmalar çeşitlilik içermektedir. Bu nedenle SMA boyama sonuçları arasında farklılıklar mevcuttur. Bulgular arasında farklılıklar olmasının nedeninin literatürdeki araştırmalarda çalışma gruplarına dahil edilen vakaların tanılarının birbirinden farklı ve çeşitliliğinin fazla olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Bizim tarafımızdan kullanılan diğer belirteç olan TGF- β , mezenkimal hücrelerde hücre dışı matriks proteinlerinin ekspresyonunu indüklemeye ve ekstraselüler matriksin enzimatik bozulmasını engelleyen proteaz inhibitörlerinin üretimini uyarma yeteneğine sahiptir. Etkilenen organlarda artmış TGF- β ekspresyonu, fibrozisle ilerleyen hastalıkların başlangıcında gözlenen anormal bağ doku artışı ile ilişkilidir (157). Progresif böbrek hastalıkları farklı etyolojilere sahip olsa da, böbreklerdeki histolojik değişiklikler, glomerüloskleroz ve ekstraselüler matriksin aşırı birikmesinden kaynaklanan interstisyel fibrozis ile tübüler atrofi ile karakterize edilir. Bu benzer patolojik özellikler, skar oluşumu için ortak bir patojenik faktörün olabileceğini düşündürmektedir. Son çalışmalar, TGF- β 'nın aşırı ekspresyonunun bu yaygın patojenik faktör olduğu hipotezini desteklemektedir. Literatürde hastalığın şiddetiyle TGF- β ekspresyonu şiddetinin de arttığını gösteren veriler vardır (158).

Bob ve ark.'nın primer ve sekonder glomerülofritlerden oluşan 41 vakada yaptıkları çalışmada TGF- β ve SMA'nın glomerüler (mezengial, epitelyal ve endotelyal) hücrelerle glomerüloskleroz ve klinik parametreleri karşılaştırdıkları çalışmada glomerülde mezengial boyanmasıyla serum kreatinin arasında zayıf doğrusal bir korelasyon, TGF- β 'nın ve SMA'nın glomerülde epitelyal boyanmasıyla GFH arasında zayıf ters bir korelasyon izlenmiştir. Proteinüri ile sadece TGF- β 'nın vasküler düzeyde boyanması arasında korelasyon gözlenmiştir. TGF- β ile SMA arasında herhangi bir ilişki izlenmemiştir (159). Yine Bob ve ark.'nın glomerülofritlerde ile yaptığı diğer bir çalışmada TGF- β 'nın vasküler immünoaktivitesi ile proteinüri arasında düşük düzeyli ters bir ilişki bulunmuştur (160).

Çalışmamızda glomerüler hücreler mezengial, epitelyal ve endotelyal olarak ayrı ayrı değerlendirilmeyerek bir bütün olarak ele alınmıştır. Glomerülofritlerde TGF- β 'nın glomerüler boyanmasıyla klinik verilerden serum kreatinin ve GFH arasındaki ilişkiyle TGF- β 'nın vasküler boyanması ile proteinüri arasındaki ilişki Bob ve ark. ile benzer sonuçlar göstermiştir. Çalışmamızda Bob ve ark.'dan farklı olarak SMA'nın glomerüler

immünopozitifliği ile klinik veriler arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Ayrıca çalışmamızda TGF- β ve SMA'nın değişik kompartmanlardaki boyanmaları arasında ise anlamlı ilişki bulunmuştur.

In situ hibridizasyon ve transgenik fareler kullanılarak yapılan çalışmalar, eritropoetin esas olarak derin kortekste interstisyel fibroblastlar ve böbrekteki dış medulla tarafından üretildiğini göstermektedir. Asada ve ark. eritropoetin üreten fibroblastların böbrek interstisyumundaki varlığını göstermişlerdir. Bu fibroblastlar skar-üreten myofibroblastlara transdiferansiye olabilir ve böylelikle böbrek hasarı sonrası eritropoetin üreten aktivitelerini kaybedebilirler (161).

Bob ve ark.'nın yaptığı aynı çalışmada Vimentin (myofibroblast markeri) ile hemoglobin arasında ilişki izlenmiş olup SMA ile ilişki bulunmamıştır. İnterstisyel fibrozis ile hemoglobin arasında ters bir korelasyon görülmüştür (162). Bizim çalışmamızda ise fibrozis belirteci olan SMA'nın interstisyumda immünoreaktivitesi ile hemoglobin seviyesi arasında ters bir korelasyon izlenmiş olup interstisyumda TGF- β 'nın immünoreaktivitesi ile hemoglobin seviyesi arasında ilişki bulunmamıştır. Ayrıca interstisyumda CD4 ve CD8 pozitif boyanan T lenfosit miktarları ile de hemoglobin seviyesi arasında ters bir korelasyon izlenmiştir.

T hücrelerinin GN'lerin proliferatif formlarında hasarlanmaya aracılık ettiği konusunda artan kanıtlar vardır. İnsanlarda GN'lerin en yaygın biçimlerinden biri olan membranöz nefropatide, glomerüler hasarın, komplemanın zar atak kompleksinin (MAC) antikor-aracılı aktivasyonuna aracılık ettiği düşünülmektedir (120,121). Deneysel hastalık modellerinde, CD4+ T hücresinin ve CD8+ T hücresinin, kresentik glomerülonefritin indüklenmesinde önemli olduğu gösterilmiştir (118).

Watanabe ve ark. infiltratif T lenfositlerinin IgA nefropatisinin (IgAN) hastalık progresyonunda bir belirleyici olup olmadığını araştırma amacıyla yaptıkları çalışmada intraglomerüler ve interstisyumdaki CD8+ hücrelerinin sayısı

progresif grupta progresif olmayan gruba göre daha yüksek bulunmuştur. Glomerüler SMA boyaması progresif grupta progresif olmayan gruba göre daha yoğun olarak saptanmıştır. Üriner protein ve histolojik değişikliklerin derecesi progresif grupta progresif olmayan gruba göre daha yüksek görülmüştür. Bu belirteçler arasında, iki grup arasındaki en belirgin fark glomerüler CD8+ hücrelerinin sayısı olarak izlenmiştir (162). Bizim çalışmamızda da glomerülonefritlerde ortalama glomerüler ve interstisyel CD8+ T lenfosit miktarı, CD4+ T lenfosit miktarından daha fazla bulunmuştur. Bu da literatürle uyumlu izlenmiştir.

Son zamanlardaki çalışmalar diyabetik nefropatide immün hücrelerinin rolü olduğunu göstermiştir. İnflamatuar sitokin, kemokin ve adezyon moleküllerinin aktivasyonu da diyabetik nefropatiye bağlı süreçlerde rol oynamaktadır (163). Nefrotik olmayan proteinüriye sahip insüline bağımlı olmayan diyabetli hastalarda, dolaşımdaki T lenfositlerin artmış aktivasyonu bildirilmiştir (164). Juxtaglomerüler aparatın T hücre ile infiltrasyonu da tip 1 diyabetli hastaların önemli bir kısmında bildirilmiştir (165).

Makni ve ark.'nın yaptığı çalışmada lupus nefritinin progresyonunda interstisyel lenfosit infiltrasyonunun rolünü anlamak için progresyon gösteren ve göstermeyen vakalar karşılaştırılmıştır. Progresif hastalarda CD68+ ve CD8+ hücrelerin daha fazla olduğu görülmesine rağmen sadece CD8+ hücreler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (143).

IgA nefropatisi olan hastaların fibrotik böbreklerinde masif CD4+ T lenfositleri infiltrasyonu görülmüştür. Çok azı minimal değişiklik hastalığına sahip hastaların böbreklerinde de izlenmiştir. Liu ve ark.'nın yaptığı çalışmada unilateral ureteral obstrüksiyonu olan farelerde anti-CD4 antikoruyla CD4+ T lenfositleri baskılanmıştır. Baskılanma sonucu alınan biyopside daha az oranda SMA ve vimentin ekspresyonu izlenmiştir. CD4+ T lenfositlerinin tükenmesinin, SMA ve vimentin miktarını azalttığı gözlenmiştir. Böylece, bu deneyler CD4+ T

lenfositlerin renal fibroziste önemli bir rol oynadığını ve ilerlemesine katkıda bulunduğunu desteklemektedir (166).

Penny ve ark."nın yaptığı çalışmada Heymann nefritine sahip farelerde CD8+ T hücrelerinin geçici olarak tükenmesine yol açan anti-CD8 antikor tedavisinin, proteinüri başlangıcını geciktirdiği gözlenmiştir (167). Bizim çalışmamızda ise proteinüri ile CD4 ve CD8 pozitif T lenfositleri arasında herhangi bir korelasyon izlenmemiştir.

Mizushima ve ark."nın kortikosteroid tedavisinden önce ve sonra IgG4 ilişkili TIN'li hastalarda klinikopatolojik özelliklerinin incelediği çalışmada CD4+ CD25+ T hücreleri, Foxp3+ hücreleri ve IgG4-pozitif plazma hücreleri dahil olmak üzere karakteristik hücreler, kortikosteroid başlangıcından sonra hızlı bir şekilde ortadan kalkarken CD4+ ve CD8+ T lenfositleri uzun süre gözlenmeye devam etmektedir. Yapılan çalışma, klinik olarak, makroskopik atrofi ve mikroskopik fibrozis ile ilişkili persistan renal yetmezliğin IgG4 ile ilişkili TIN'de çok nadir olmadığını göstermektedir (168).

Literatürde tübülointerstisyel nefritlerde TGF- β ve SMA ile yapılan çalışmalar mevcut değildir.

Literatürde geniş çaplı nefropatilerde ve tubulointerstisyel nefritlerde CD4+ ve CD8+ T lenfositlerle klinik verilerin karşılaştırıldığı çalışma bulunmamıştır. Ancak inflamatuvar mikroçevrenin renal fibrozis başlangıcında önemli rol oynadığı bilinmektedir. Glomerüldeki CD4+ ile CD8+ lenfosit miktarları arasında ve interstisyel alanlardaki CD4+ ile CD8+ lenfosit miktarları arasında korelasyon bulunması her iki T lenfositin de inflamasyonda rol aldığını göstermektedir. Buradan yola çıktığımızda inflamatuvar mikroçevreyi gösteren CD4+ ve CD8+ T lenfositlerin klinik verilerle ilişkisi ile TGF- β ve SMA gibi mezenkimal belirleyicilerin klinik verilerle ilişkisi arasında belirgin benzerlik olduğu görülmüştür. Ayrıca interstisyel CD4 ve CD8 pozitif boyanan T lenfosit miktarlarıyla SMA'nın interstisyel immunoreaktivitesi ve interstisyel CD4+ T

lenfosit sayısı ile TGF- β 'nın interstisyel immunopozitifliği arasında doğrusal bir korelasyon bulunması da inflamasyonun fibrozisi tetiklediği görüşünü desteklemektedir.



V. SONUÇLAR

1) Çalışmaya 01.01.2014-01.01.2018 tarihleri arasında Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'na nefrotik/nefritik sendrom klinik ön tanısıyla gelen non-amiloidoz 18 yaş ve üzeri 62 adet biyopsisi dahil edilmiştir.

2) 62 hastanın 33'ü (%53,2) erkek, 29'u (%46,8) kadındır.

3) Çalışmaya alınan 62 hastanın yaşları 19 ile 84 arasında olup, ortalama (ort.) yaş $50,68 \pm 14,84$ idi.

4) Çalışmaya dahil edilen 62 böbrek biyopsisinin 52'si (%83,9) glomerulonefrit, 10'u (%16,1) tübülointerstisyel nefrit vakalarından oluşmaktadır.

5) Glomerulonefritlerin 42'si (%67,7) primer olup bunların da; 15'i (%24,2) IgA nefropatisi, 14'ü (%22,6) membranöz glomerulonefrit, 10'u (%16,1) FSGS, 3'ü (%4,8) minimal değişiklik hastalığı idi. 10'u (%16,1) sekonder olup bunlarında da; 7'si (%11,3) diyabetik nefropati, 3'ü (%4,8) lupus nefropatisi şeklindeydi.

6) Glomerulonefrit vakalarının serum kreatinin ortalaması $1,56 \pm 1,36$ (0,38-6,99 aralığında) mg/dl, GFH ortalaması $70,24 \pm 42,54$ (10-212 aralığında) ml/min/1.73 m², hemoglobin ortalaması $12,48 \pm 2,13$ (8-16,4 aralığında) g/dl, 24 saatlik proteinüri ortalaması $4240,87 \pm 3447,01$ (62-13212 aralığında) mg/24saat'tir.

7) TIN vakalarında ise serum kreatinin ortalaması $4,89 \pm 2,13$ (2,83-10,24 aralığında) mg/dl, GFH ortalaması $10,94 \pm 3,68$ (5-17 aralığında) ml/min/1.73 m², hemoglobin ortalaması $10,65 \pm 1,61$ (7,1-12,5 aralığında) g/dl, 24 saatlik proteinüri ortalaması $2654,12 \pm 3425,06$ (166,08-10510 aralığında) mg/24saat'tir.

8) Glomerülonefritler incelendiğinde TGF- β 'nin glomerüler (%40,4) ve interstisyel (%53,8) immunoreaktivitesinde derece 1 en fazla izlenirken, vasküler immunoreaktivitesinde ise derece 0'ın fazla olduğu (%57,7) görülmüştür. SMA'nın ise glomerüler (%46,2) ve interstisyel (%59,6) immunoreaktivitesinde ise derece 1'in en fazla olduğu dikkati çekmiştir.

9) TIN'ler incelendiğinde TGF- β 'nin glomerüler immunoreaktivitesinde derece 0 (%70) en fazla, interstisyel immunoreaktivitesinde derece 1 (%40) ve 2 (%40), vasküler immunoreaktivitesinde ise derece 2 (%40) en fazla izlenmiştir. SMA'nın ise glomerüler immunoreaktivitesinde derece 0 (%90) en fazla, interstisyel immunoreaktivitesinde ise derece 1 (%40) ve 2 (%40)'nin fazla olduğu görülmüştür.

10) Glomerülonefritlerde glomerüler CD8 pozitif boyanan T hücre ortalaması $0,59 \pm 0,60$, interstisyel CD8 pozitif boyanan T hücre ortalaması $15,54 \pm 14,64$, glomerüler CD4 pozitif boyanan T hücre ortalaması $0,14 \pm 0,25$, interstisyel CD4 pozitif boyanan T hücre ortalaması ise $16,42 \pm 15,63$ olarak bulundu.

11) TIN'lerde glomerüler CD8 pozitif boyanan T hücre ortalaması $0,51 \pm 0,80$, interstisyel CD8 pozitif boyanan T hücre ortalaması $47,84 \pm 21,37$, glomerüler CD4 pozitif boyanan T hücre ortalaması $0,10 \pm 0,17$, interstisyel CD4 pozitif boyanan T hücre ortalaması ise $34,65 \pm 20,55$ olarak bulundu.

12) Glomerülonefritlerde glomerüler alanda izlenen CD8+ T hücre sayısı CD4+ T hücre sayısından fazlayken, interstisyel alanda çok az bir farkla tersi söz konusudur.

13) TIN'lerde glomerüler alanda CD8+ T hücre sayısı CD4+ T hücre sayısından belirgin fazla izlenmiştir. İnterstisyel alanda bulunan CD8+ T hücre sayısı da CD4+ T hücre sayısından fazladır. TIN ve GN vakaları arasında

interstisyel CD8 ($p<0,001$) ve CD4 ($p=0,003$) pozitif T lenfositler arasındaki ilişki anlamlı saptanmıştır.

14) GN ve TIN vakaları ile klinik verilerden serum kreatinin ($<0,001$), GFH ($<0,001$) ve hemoglobin (0,019) arasındaki ilişki anlamlı saptanırken proteinüri ile anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

15) Glomerülonefritlerde glomerüler SMA boyanması ile hiç bir klinik veri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

16) Glomerülonefritlerde SMA'nın interstisyel immunoreaktivitesi ile serum kreatinin değeri arasında doğrusal, GFH ve hemoglobin seviyesi arasında ise ters bir korelasyon izlenmiş olup proteinüri ile ilişkisi anlamlı bulunmamıştır.

17) Glomerülonefritlerde TGF- β 'nin glomerüler immunoreaktivitesi ile GFH arasında ters korelasyon izlenirken, serum kreatinin değeri ile doğrusal bir korelasyon saptandı. TGF- β 'nin glomerüler immunoreaktivitesiyle proteinüri ve hemoglobin ile ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

18) Glomerülonefritlerde TGF- β 'nin vasküler immunoreaktivitesi ile sadece proteinüri arasında doğrusal bir korelasyon izlenmiş olup diğer klinik verilerle arasında herhangi bir korelasyon izlenmemiştir.

19) Glomerülonefritlerde TGF- β 'nin interstisyel boyanması ile klinik veriler arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

20) Glomerülonefritlerde interstisyumda CD8 pozitif boyanan T lenfosit miktarı ile serum kreatinin değeri arasında doğrusal bir korelasyon, GFH ile hemoglobin seviyesi arasında ise ters bir korelasyon saptandı. Proteinüri ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır.

21) Glomerülonefritlerde interstisyumda CD4 pozitif boyanan T lenfosit miktarı ile serum kreatinin değeri arasında doğrusal bir korelasyon, GFH ve hemoglobin seviyesi arasında ters bir korelasyon görüldü. İnterstisyumda CD4 pozitif boyanan T lenfosit miktarı ile proteinüri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır.

22) Glomerülonefritlerde glomerülde CD8 ve CD4 pozitif boyanan T lenfosit miktarı ile klinik veriler arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

23) TIN vakalarında klinik verilerle hiç bir immunohistokimyasal boyalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki izlenmemiştir.

24) Glomerüler SMA boyanması ile TGF- β 'nın vasküler immunoreaktivitesi arasında; SMA'nın interstisyel boyanması ile TGF- β 'nın vasküler, interstisyumda CD8 ve CD4 pozitif boyanan T lenfosit miktarı arasında; TGF- β 'nın glomerüler immunoreaktivitesi ile TGF- β 'nın interstisyel boyanması ve interstisyumda CD4 pozitif boyanan T lenfosit miktarı arasında; TGF- β 'nın vasküler immunoreaktivitesi ile TGF- β 'nın interstisyel boyanması ve CD4 pozitif boyanan T lenfosit miktarı arasında; TGF- β 'nın interstisyel boyanması ile interstisyumda CD4 pozitif boyanan T lenfosit miktarı arasında; glomerülde ve interstisyumda CD8 ve CD4 pozitif boyanan T lenfosit miktarları birbirleri ile korelasyon göstermektedir.

25) Çalışmaya dahil edilen boyalar ile klinik veriler arasında korelasyon saptanmıştır. Glomerülonefritlerde SMA ve TGF- β boyalarının sonuçları genel olarak literatür ile uyumlu izlenmiştir. Glomerüldeki CD4+ ile CD8+ lenfosit miktarları arasında ve interstisyel alanlardaki CD4+ ile CD8+ lenfosit miktarlarının arasında korelasyon bulunması her iki T lenfositin de inflamasyonda rol oynadığını göstermektedir. İnflamatuar mikroçevreyi gösteren CD4+ ve CD8+ T lenfositlerin klinik verilerle ilişkisi ile TGF- β ve SMA gibi mezenkimal belirleyicilerin klinik verilerle ilişkisi arasında benzerlik olduğu görülmüştür. SMA'nın interstisyel boyanması ile interstisyel CD4 ve CD8 pozitif T lenfosit

miktarları arasında korelasyon izlenmesi inflamasyonun fibrozisi tetiklediği görüşünü desteklemektedir. Fibrozis belirteci olan TGF- β ve SMA immünohistokimyasal boyaların immünopozitifliği ve inflamasyonu gösteren CD4+ ve CD8+ T lenfosit miktarları arttıkça hastalığın prognozunu gösteren klinik verilerinin kötüleştiği görülmüştür. Çalışmamızda glomerülonefritleri oluşturan hastalıkların sayıları az olduğu için hastalıklara spesifik olarak değerlendirme yapılamamıştır. Ayrıca vakaları oluşturan hastalık gruplarının çeşitliliğinin fazla olması nedeniyle literatürle uyumsuzluğun olduğu sonuçlar da mevcuttur. Bu bağlamda daha spesifik ve daha geniş katılımlı ileri çalışmaların yapılması daha faydalı olacaktır.



VI. ÖZET

Böbrek hastalıkları yüksek morbiditeye sahip hastalıklardandır. Pek çok progresif renal hastalık tiplerinin nihai sonucu tübülointerstisyel fibrozistir. Interstisyel fibrozisin şiddeti böbrek sağkalımının kesin bir göstergesidir. Hasar sonrası renal fibrozisin başlamasında, inflamatuvar hücreler çok önemli bir rol oynar.

İnflamatuvar mikroçevreyi oluşturan, renal fibroziste de regülatör rol oynayan CD4+ ve CD8+ T hücrelerini, renal dokuda ekstraselüler matriks komponentlerinin ve mezengial hücrelerin üretimini artıran, renal hasarda kritik rol oynayan ve epitelial-mezenkimal geçişi sağlayan TGF- β 'yı ve renal fibroziste rol oynayan aktive fibroblast markerı olan SMA'yı çalıştık. Bu boyalarla hemoglobin, proteinüri, serum kreatinin ve GFH gibi klinik prognostik parametrelerle korelasyonlarının araştırılması amaçlanmıştır.

Bu çalışmaya 01.01.2014-01.01.2018 tarihleri arasında merkezimize nefrotik/nefritik sendrom klinik ön tanısıyla gelen non-amiloidoz 18 yaş ve üzeri 62 adet böbrek biyopsisi dahil edilmiştir. Bu böbrek biyopsilerinin 52'si glomerülonefrit, 10'u TIN vakalarından oluşmaktadır. Bu vakalara TGF- β , SMA, CD4 ve CD8 immünohistokimyasal boyaları uygulandı. Vakalar mikroskop altında değerlendirildi. Vakalara ait klinik veriler merkezimize ait hastane bilgi sisteminden alınmıştır. Elde edilen verilerin korelasyonu SPSS v20 kullanılarak hesaplandı.

Glomerülonefritlerde SMA'nın interstisyel, TGF- β 'nın glomerüler boyanmaları, CD4 ve CD8 pozitif T lenfosit miktarları ile serum kreatinin arasında doğru, GFH arasında ters korelasyon saptanmıştır. SMA'nın interstisyel boyanması ile interstisyel CD4 ve CD8 pozitif T lenfosit miktarları arasında korelasyon izlenmiştir. Bu bulgular, inflamasyon ve fibrozisin ilişkili olduğunu desteklemiştir. İnflamasyon ve fibrozis belirteci olan immünohistokimyasal boyalar ile hastalığın kötü prognozunu gösteren klinik veriler arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır.

VII. SUMMARY

Kidney diseases are diseases with high morbidity. Many progressive renal disease types result with tubulointerstitial fibrosis ultimately. The severity of interstitial fibrosis is a exact sign of renal survival. At the onset of post-injury renal fibrosis, inflammatory cells have a very important role.

We studied CD4+ and CD8+ that inflammatory microenvironment forming and have a regulatory role on in renal fibrosis; TGF- β which which increases the production of extracellular matrix components and mesenchial cells in the renal tissue, have a critical role in renal injury and provides epithelial-mesenchymal transition; SMA is an active fibroblast marker that have a role in renal fibrosis. It is aimed to investigate the correlation between these immunohistochemistry stains and clinical prognostic parameters such as hemoglobin, proteinuria, serum creatinine and GFR.

62 non-amyloidosis kidney biopsies aged 18 years and over which came to our clinic between 01.01.2014 and 01.01.2018 with the clinical diagnosis of nephrotic / nephritic syndrome was included in our study. These biopsies consist of 52 glomerulonephritis and 10 tubulointerstitial nephritis biopsies. Immunohistochemical stains of TGF- β , SMA, CD4 and CD8 were performed in this case. The cases were evaluated by using microscope. Clinical data of the cases were obtained from central information system of our hospital. Correlation of the obtained data was calculated using SPSS v20.

In glomerulonephritis there is direct correlation between SMA staining at the interstitial level, glomerular staining of TGF- β , CD4 and CD8 positive T lymphocyte quantities and serum creatinine; inverse correlation between GFR. There is correlation between interstitial staining of SMA and interstitial CD4 and CD8 positive T lymphocyte counts. These findings suggest that inflammation and fibrosis are related. It is determined that there is a significant relation between immunohistochemical stains which is marker of inflammation and fibrosis, and clinical datas that shows poor prognosis of the diseases.

VIII. KAYNAKLAR

1. Murphy WM, Beckwith JC, Farrow GM. Normal Anatomy. In: Rosai J, Sobin LH, eds. Tumors of the kidney, bladder and related urinary structures. AFIP 1994; 1-11.
2. Suramo I, Paivansalo M, Myllylä V. Cranio-caudal movement of the liver, pancreas and kidneys in respiration. Acta Radiol Diagn 1984;25:129.
3. Anafarta K, Baykara M, Baydınç C. Ürogenital organların anatomik ve histolojik yapısı. İn: Anafarta K, Göğüş O, Bedük Y, Arıkan N, eds. Temel Üroloji. Ankara: Güneş Kitapevi, 1998.
4. Arıncı K, Elhan A. Anatomi. 2. Baskı, Ankara: Genel Yayınevi, 1997; 392-398.
5. Dere F. Anatomi. Adana: Genel Yayınevi, 1996; 661–662.
6. Tisher CC. Structure and functions of the kidneys. In: Goldman L, Ausiello DA, Arend W ed. Cecil textbook of medicine, 23rd edn. Saunders, Philadelphia 2007; 813-820.
7. Zeren Z. İnsan Anatomisi. İstanbul: Ekin Yayınları, 1975; 212–214.
8. Brodel M. The intrinsic blood vessels of the kidney and their significance in nephrotomy. Bull John Hopkins Hosp 1901;12:10.
9. Fox SI. Human Phsylogy. California: McGraw-Hill Science, 2003: 529.
10. <https://bioluliaes.wordpress.com/3-eso/2-nutrition-function/2-6-urinary-system/2-6-1-anatomy-and-physiology-of-the-urinary-system/>

11. Bell RD, Keyl MJ, Shrader FR. Renal Lymphatics: the internal distribution. *Nephron* 1968;5:454.
12. Kerjaschki D, Rgele HM, Moosberger I. Lymphatic neoangiogenesis in human kidney transplants is associated with immunologically active lymphocytic infiltrates. *J Am Soc Nephrol* 2004;15:63.
13. Holmes MJ, O'Morchoe PJ, O'Morchoe CC. Morphology of the intrarenal lymphatic system. Capsular and hilar communications. *Am J Anat* 1977;149:333.
14. Clapp WL. Adult kidney. In: Sternberg SS, eds. *Histology for the pathologist*. New York: Raven Press, 1992:677.
15. Rouiller C. General anatomy and histology of the kidney. In: Rouiller C, Muller AF, eds. *The Kidney: Morphology, Biochemistry and Physiology*. New York: Lippincott, 1989:67.
16. Kriz W, Kaissling B. Structural organization of the mammalian kidney. In: Seldin DW, Giebisch GH. *The Kidney: Physiology and Pathophysiology*. New York: Raven Press, 1992:707.
17. Kriz W. Structural organization of the renal medulla: Comparative and functional aspect. *Am J Physiol* 1981;241:R3-16.
18. Kriz W and Elger M. Renal Anatomy. In: John Feehally J, Floege J, Johnson RJ. *Comprehensive Clinical Nephrology* 3rd ed. Philadelphia: Mosby; 2007:1-4.
19. Dunnill MS, Halley W. Some observations on the quantitative anatomy of the kidney. *J Pathol* 1973;110:113.
20. Kaissling B, Kriz W. Structural analysis of the rabbit kidney. *Adv Anat Embryol Cell Biol* 1979;56:1.

21. Jamison RL. Short and long loop nephrons. *Kidney Int* 2001;59:2104.
22. Oliver, J. Nephrons and kidneys: A quantitative study of development and evolutionary renal architectonics. New York: Harper & Row, 1968.
23. https://www.google.com.tr/imgres?imgurl=http%3A%2F%2Fi606.photobucket.com%2Falbums%2Ftt146%2Fdrnguyenanhbinh%2Fmartini_7e_26-8a_r49.jpg&imgrefurl=http%3A%2F%2Fycantho.com%2Fqa%2Fshowthread.php%3Ft&h=515&w=707&tbnid=2lHiW-zeu1RugM&tbnh=192&tbnw=263&usg=_ATRn1M7L_iZmdmmZR-_NMjjPAEM&docid=FUnls0GhrhweRM
24. She SM. glomerular hemodynamics and vascular structure. The pattern and dimensions of a single rat glomerular capillary network reconstructed from ultrathin sections. *Mikrovasc Res* 1979;18:129.
25. Winkler D, Elger M, Sakai T. Branching and confluence pattern of glomerular arterioles in the rat. *Kidney Int Suppl* 1991;32:S2-8.
26. Elger M, Sakai T, Kriz W. The vascular pole of the renal glomerulus of rat. *Adv Anat Embryol Cell Biol* 1998;18:129.
27. Karadeniz, Nisar. “Renal iğne biyopsi materyallerinde tanısal amaçlı yapılan immunperoksidaz ve immunfloresan inceleme yöntemlerinin karşılaştırılması” Uzmanlık tezi, Ege Üniversitesi, 2014.
28. Jorgensen F. Ultrastructure of the normal human glomerulus. Copenhagen: Munksgaard International Booksellers and Publisher Ltd., 1966.
29. Andrews PM, Porter KR. A scanning electron microscopic study of the nephron. *Am J Anat* 1974;31:436.

30. Pavesnstandt H, Kriz W, Kretzler M. Cell biology of the glomerular podocyte. *Physiol Rev* 2003;83:253.
31. Bearer EL, Orci L. Endothelial fenestral diaphragms: A quickfreeze, deep-etch study. *J Cell Biol* 1985;100:418.
32. Aumailley M, Gayraud B. Sturucteure and biological activity of the extracellular matrix. *J Mol Med* 1998; 76: 253.
33. Jorgensen F, Bentzon MW. The ultrastructure of the normal human glomerulus. Thickness of glomerular basement membrane. *Lab Invest* 1968;18:42.
34. Michael AF. The glomerular mesangium. *Contrib Nephrol* 1984;40:7.
35. Mbassa G, Elger M, Kriz W. The ultrastructural organization of the basement membrane of Bowman's capsule in the rat renal corpuscle. *Cell Tissue Res* 1988;253:151.
36. Christensen JA, Meyer DS, Bohle A. The structure of the human juxtaglomerular apparatus. A morphometric, lightmicroscopic study on serial sections. *Virchow Arch A Pathol Anat Histol* 1975;367:83.
37. Stevens A, Lowe J. *Human Histology*. Mishawaka: C.V. Mosby, 1997.
38. Cantin M, Araujo-Nascimento MD, Benchimol S. Metaplasia of smooth muscle cells into juxtaglomerular cells in the juxtaglomerular apparatus, arteries, and arterioles of the ischemic (endocrine) kidney. An ultrastructural-cytochemical and autoradiographic study. *Am J Pathol* 1977;87:581.
39. Cantin M, Gutkowska J, Lacesse J. Ultrastructural immunocytochemical localization of renin and angiotensin II in the juxtaglomerular cells of the ischemic kidney in experimental renal hypertension. *Am J Pathol* 1984;115:212.

40. Dieterich HJ. Structure of blood vessels in the kidney. *Norm Pathol Anat* 1978;35:1.
41. Gattone VH II, Luft FC, Evan AP. Renal afferent and efferent arterioles of the rabbit. *Am J Physiol* 1984;247:219.
42. Maunsbach AB, Christensen EI. Functional ultrastructure of the proximal tubule. In: Windhager E. *Handbook of Physiology*. New York: Oxford University Press, 1992:41.
43. Evan AP, Gattone VH II, Connors BA. Ultrastructural features of the rabbit proximal tubules. *Arc Histol Cytol* 1992;55:13.
44. Berry CA, Ives HE, Rector FC Jr. Renal transport of glucose, amino acids, sodium, chloride and water. In: Brenner. *The Kidney*. Philadelphia: WB Saunders, 1996:334.
45. Schiller A, Taugner R, Kriz W. The thin limbs of Henle's loop in the rabbit. A freeze fracture study. *Cell Tissue Res* 1980;207:249.
46. Bankir L, Bouby N, Trinh Trang Tan MM. Anatomy and function, role in urine concentrating mechanisms. In: Gruenfeld JP. *Advances In Nephrology*. Chicago: Year Book Medical Publishers, 1987:69.
47. Crayen ML, Thoenes W. Architecture and cell structure in the distal nephron of the rat kidney. *Cytobiologie* 1978;17:197.
48. Garg LC, Knepper MA, Burg MB. Mineralocorticoid effect on Na-K-ATPase in individual nephron segments. *Am J Physiol* 1981;240:F 536.
49. Katz AL, Doucet A, Morel F. Na-K-ATPase activity along the rabbit, rat and mouse nephron. *Am J Physiol* 1979;237: 114.

50. Myers CE, Bulger RE, Tisher CC. Human ultrastructure, IV. Collecting duct of healthy individuals. *Lab Invest* 1966; 15:1921.
51. LeFurgey A, Tisher CC. Morphology of rabbit collecting duct. *Am J Anat* 1979;155:111.
52. Bohman SO. The ultrastructure of the renal interstitium. In: Brenner BM, Stein OH. *Contemporary Issues in Nephrology*. New York: Academic Press, 1980:443.
53. Diamond JR, van Goor H, Ding G. Myofibroblasts in experimental hydronephrosis. *Am J Pathol* 1995;146:121.
54. Junqueira LC, Carneiro J, Aytekin Y, Solakoğlu S, Ahışhalı B. *Temel Histoloji*. İstanbul: Barış Kitabevi, 1998; 359-373.
55. Coe FL. Clinical and laboratory assessment of the patient with renal disease. In: Brenner BM, Rector FCJ. *The Kidney*. Philadelphia: WB Saunders, 1981:1135.
56. Korbert SM. Percutaneous renal biopsy. *Semin Nephrol* 2002:245-67.
57. Johnson RJ, Floege J, Rennke HG. Introduction to glomerular disease: pathogenesis and classification. In: *Comprehensive Clinical Nephrology*, 3rd ed, Feehally J, Floege J, Johnson RJ. Philadelphia: Elsevier Inc, 2007:181-207.
58. Kılıçarslan I, Özlük Y, Çamsarı T, Ersan S. *Nefropatoloji böbrek hastalıkları ve böbrek transplantasyon patolojisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2012.
59. White RH, Glasgow EF, Mills RJ. Clinicopathological study of nephrotic syndrome in childhood. *Lancet* 1970;1:1353.

60. Savin VJ. Mechanisms of proteinuria in noninflammatory glomerular disease. *Am J Kidney Dis* 1993; 21: 347-362.
61. Smith SM, Hoy WE, Cobb L. Low incidence of glomerulosclerosis in normal kidneys. *Arc Pathol Lab Med* 1989; 113: 1253-1255.
62. Hopper JJ, Ryan P, Lee JC. Lipoid nephrosis in 31 adult patients: Renal biopsy study by light, electron, and fluorescence microscopy with experience in treatment. *Medicine (Baltimore)* 1970;49:321.
63. Stokes MB, Markowitz GS, Lin J, Valeri AM, Valeri AM, D'Agati VD. Glomerular tip lesion: a distinct entity within the minimal change disease/focal segmental glomerulosclerosis spectrum. *Kidney Int* 2004; 65: 1690-1702.
64. Braden GL, Mulhern JG, O'Shea MH, Nash SV, Ucci AA Jr, Germain MJ. Changing incidence of glomerular disease in adults. *Am J Kidney Dis* 2000, 35: 878-883.
65. Mongeau JG, Robitaille PO, Glermont MJ, Merovani A, Russo P. Focal segmental glomerulosclerosis (FSG) 20 years later. From toddler to grown-up. *Clin Nephrol* 1993; 40: 1-6.
66. Artero M, Biava C, Amend W, Tomlanovich S, Vincenti F. Recurrent focal glomerulosclerosis: natural history and response to therapy. *Am J Med* 1992; 92: 375-383.
67. Savin VJ, Sharma R, Sharma M, McCarthy ET, Swan SK, Ellis E, Lovell H, Warady B, Gunwar S, Chonko AM, Artero M, Vincenti F. Circulating factor associated with increased glomerular permeability to albumin in recurrent focal segmental glomerulosclerosis. *N Engl J Med* 1996; 334: 878-883.

68. D'Agati VD, Jennette JC, Silva FG. Focal segmental glomerulosclerosis. Non-Neoplastic Kidney Diseases. American Registry of Pathology 2005; 125-159.
69. Howie AJ, Brewer DB. Further studies on the glomerular tip lesion: early and late stages and life table analysis. *J Pathol* 1985; 147: 245-255.
70. Paik KH, Lee BH, Cho HY, Kang HG, et al. Primary focal segmental glomerular sclerosis in children: clinical course and prognosis. *Pediatr Nephrol* 2007; 22: 389-395.
71. Fogo AB, Hawkins EP, Berry PL, Glick AD, Chiang ML, MacDonell RC, Ichikawa I. Glomerular hypertrophy in minimal change disease predicts subsequent progression to focal glomerular sclerosis. *Kidney Int* 1990; 38:115-23.
72. D'Agati VD, Kaskel FJ, Falk RJ. Focal segmental glomerulosclerosis. *N Engl J Med* 2011; 365: 2398-2411.
73. Korbet SM, Genchi RM, Borok RZ, Schwartz MM. The racial prevalence of glomerular lesions in nephrotic adults. *Am J Kidney Dis* 1996; 27: 647-651.
74. Zhou XJ, Laszik Z, Nadasdy T, D'Agati VD, Silva FG. Silva's Diagnostic Renal Pathology. Cambridge: Cambridge University Press, 2009.
75. Olson JL, Schwartz MM. The nephrotic syndrome: minimal change disease, focal segmental glomerulosclerosis and miscellaneous causes. In: Jennette JC, Olson JL, Schwartz MM, Silva FG, eds. *Heptinstall's Pathology of the Kidney*. Philadelphia: Lipincott-Raven, 1998; 187-257.
76. Heptinstall RH. Idiopathic membranous, membranoproliferative and lobular glomerulonephritis. In: Heptinstall RH. *The Pathology of the Kidney*. Boston: Little, Brown and Company, 1974; 393.

77. Murphy BF, Fairley KF, Kincaid-Smith PS. Idiopathic membranous glomerulonephritis: Long-term follow-up in 139 cases. *Clin Nephrol* 1988;30:175.
78. Cattran DC, Pei Y, Greenwood CM, Ponticelli C, Passerini P, Honkanen E. Validation of a predictive model of idiopathic membranous nephropathy: its clinical and research implications. *Kidney Int* 1997; 51: 901-907.
79. Kerjaschki D. Megalin /GP330 and pathogenic antigen of Heymann nephritis is a membrane glycoprotein of the renal proximal tubule brush border. *Proc Natl Acad Sci* 1982; 79: 5557.
80. Kerjaschki D, Schulze M, Binder S. Transcellular transport and membrane insertion of the C5b-9 membrane attack complex of complement by glomerular epithelial cells in experimental membranous nephropathy. *J Immunol* 1989; 143: 546.
81. Ehrenreich T, Churg J. Pathology of membranous nephropathy. *Pathol Ann* 1968;3:145-186.
82. Schwartz MM. Membranous glomerulonephritis. In: Jennette JC, Olson JL, Schwartz MM, et al., eds. *Heptinstall's Pathology of the Kidney*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007: 205–251.
83. Griffel B, Bernheim J. Glomerular deposits in idiopathic membranous glomerulopathy. *Arc Pathol Lab Med* 1980; 104: 56.
84. Ehrenreich T, and Churg G. Pathology of membranous nephropathy. In: SC S. *Pathology Annual*. New York: Appleton-Century-Crofts, 1968.
85. Julian BA, Waldo FB, Rifai A, Mestecky J. IgA nephropathy, the most common glomerulonephritis worldwide: A Neglected disease in the United States? *Am J Med* 1988;84:129.

86. Lee S, Nevins TE, Michael AF. Diagnostic significance of skin biopsies in IgA nephropathy. *Kidney Int* 1977;12:374.
87. Haas M. Histologic subclassification of IgA nephropathy: A clinicopathologic study of 244 cases. *Am J Kidney Dis* 1997;29:829.
88. Emancipator S.N. "IgA Nephropathy and Henoch-Scholein Syndrome" In J.C. Jennette, J.L. Olson, M.M. Schwartz, and F.G. Silva, eds. *Heptinstall's Pathology of the Kidney*, 5th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1998; 479-539.
89. Hogg RJ, Silva FG, Wyatt RJ, Reisch JS, Aygyle JC, Savino DA. Prognostic indicators in children with IgA nephropathy-report of the Southwest Pediatric Nephrology Study Group. *Pediatr Nephrol* 1994;8:15-20.
90. Ibels LS, Gyory AZ. IgA nephropathy: analysis of the natural history, important factors in the progression of renal disease, and a review of the literature. *Medicine* 1994;73:79-102.
91. D'Amico G, Napodano P, Ferrario F, Rastaldi MP, Arrigo G. Idiopathic IgA nephropathy with segmental necrotizing lesions of the capillary wall. *Kidney Int* 2001;59:682-92.
92. Tumlin JA, Lohavichan V, Hennigar R. Crescentic proliferative IgA nephropathy: clinical and histologic response to methyl prednisolone and intravenous cyclophosphamide. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18:1321-92.
93. Jenette JC. The immunohistology of IgA nephropathy. *Am J Kidney Dis* 1988;12:348.
94. Haas M. A revaluation of routine electron microscopy in the examination of native renal biopsies. *J Am Soc Nephrol* 1997;8:70.

95. Alamartine E, Sabatier JC, Guerin C, Berliet JM, Berthoux F. Prognostic factors in mesangial IgA glomerulonephritis: An extensive study with univariate and multivariate analyses. *Am J Kidney Dis* 1991;18:12.
96. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of system lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1725.
97. Pollak VE, Pirani CL, Schwartz FD. The natural history the renal manifestations of systemic lupus erythematosus. *J Lab Clin Med* 1964; 63: 537-550.
98. Weening JJ, D'Agati VD, Schwartz MM, Seshan SV, Alpers CE, Appel GB, Balow JE, Bruijn JA, Cook T, Ferrario F, Fogo AB, Ginzler EM, Hebert L, Hill G, Hill P, Jennette JC, Kong NC, Lesavre P, Lockshin M, Looi LM, Makino H, Moura LA, Nagata M. The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 241-250.
99. Foster MH, Cizman B, Madaio MP. Nephritogenic autoantibodies in systemic lupus erythematosus: immunochemical properties, mechanisms of immune deposition, and genetic origins. *Lab Invest* 1993;69:494.
100. Churg J, Sobin LH. *Renal Disease: Classification and Atlas of Renal Disease*. Tokyo: Igaku-New Shoin, 1982.
101. Churg J, Bernstein J, Glassock R. *Lupus nephritis in Renal Disease: Classification and Atlas of Renal Disease*. New York: Igaku-New Shoin, 1995; 151-155.
102. Nasr SH, D'Agati VD, Park HR, Sterman PL, Goyzueta JD, Dressler RM, Hazlett SM, Pursell RN, Caputo C, Markowitz GS. Necrotizing and crescentic

lupus nephritis with antineutrophil cytoplasmic antibody seropositivity. Clin J Am Soc Nephrol 2008; 3: 682-90.

103. Jennette JC, Iskandar SS, Dalldorf FG. Pathologic differentiation between lupus and nonlupus membranous glomerulopathy. Kidney Int 1983; 24: 377-385.

104. Austin HA, Muenz LR, Joyce KM, Antonovych TA, Kullick ME, Klippel JH, Decker JL, Balow JE. Prognostic factors in lupus nephritis. Contribution of renal histologic data. Am J Med 1983; 75: 382-391.

105. Sinniah R, Feng PH. Lupus nephritis: correlation between light, electron microscopic and immunofluorescent findings and renal function. Clin Nephrol 1976; 6: 340.

106. Nadasdy T, Laszik Z, Blick KE, Johnson DL, Silva FG. Tubular atrophy in the end-stage kidney. Hum Pathol 1994;25:22-8.

107. Martin P, Parkhurst SM. Parallels between tissue repair and embryo morphogenesis. Development 2004; 3021-3034.

108. Adzick NS, Harrison MR, Glick PL, Beckstead JH, Villa RL, Scheuenstuhl H, Goodson WH. Comparison of fetal, newborn, and adult wound healing by histologic, enzyme-histochemical, and hydroxyproline determinations. J Pediatr Surg 1985;20:315-9.

109. Mack, Matthias. Inflammation and fibrosis. Matrix Biology, 2017.

110. Harris RC, Neilson EG. Toward a unified theory of renal progression. Annu Rev Med 2006; 57: 365–380.

111. Bohle A, Strutz F, Muller GA. On the pathogenesis of chronic renal failure in primary glomerulopathies: a view from the interstitium. *Exp Nephrol* 1994; 2: 205-210.
112. Anders HJ, Vielhauer V, Frink M, Linde Y, Cohen CD, Blattner SM, Kretzler M, Strutz F, Mack M, Gröne HJ, Onuffer J, Horuk R, Nelson PJ, Schlöndorff D. A chemokine receptor CCR-1 antagonist reduces renal fibrosis after unilateral ureter ligation. *J Clin Invest* 2002; 109: 251–259.
113. Dong Y, Yang M, Zhang J, Peng X, Cheng J, Cui T, Du J. Depletion of CD8⁺ T Cells Exacerbates CD4⁺ T Cell-Induced Monocyte-to-Fibroblast Transition in Renal Fibrosis. *J Immunol* 2016; 196: 1874-81.
114. Shalhoub RJ. Pathogenesis of lipoid nephrosis. A disorder of T-cell function. *Lancet* 1974;2:556–60.
115. Lin CY, Lee BH, Lin CC, Chen WP. A study of the relationship between childhood nephrotic syndrome and allergic diseases. *Chest* 1990;97:1408-11.
116. Groshong T, Mendelson L, Mendoza S, Bazaral M, Hamburger R, Tune B. Serum IgE in patients with minimal change nephrotic syndrome. *J Pediatr* 1973;83:767-71.
117. Dötsch J, Müller-Wiefel DE, Kemper MJ. Rituximab: is replacement of cyclophosphamide and calcineurin inhibitors in steroid-dependent nephrotic syndrome possible? *Pediatr Nephrol* 2008;23:3-7.
118. Koyama A, Fujisaki M, Kobayashi M, Igarashi M, Narita M. A glomerular permeability factor produced by human T cell hybridomas. *Kidney Int* 1991;40:453-460.

119. Fujinaka H, Yamamoto T, Feng L, Kawasaki K, Yaoita E, Hirose S, Goto S, Wilson CB, Uchiyama M, Kihara I. Crucial role of CD8-positive lymphocytes in glomerular expression of ICAM-1 and cytokines in crescentic glomerulonephritis of WKY rats. *J Immunol* 1997;158:4978-4983.
120. Holdsworth SR, Tipping PG. Cell-mediated immunity in glomerulonephritis. In: Pucey CD. *Immunology of Renal Diseases*, 1st ed. London: Kluwer Academic Publishers, 1991;97–122.
121. Main IW, Atkins RC. The role of T-cells in inflammatory kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1995;4:354-358.
122. Ikezumi Y, Kanno K, Karasawa T, Han GD, Ito Y, Koike H, Toyabe S, Uchiyama M, Shimizu F, Kawachi H. The role of lymphocytes in the experimental progressive glomerulonephritis. *Kidney Int* 2004;66:1036–1048.
123. Johnson RJ, Iida H, Alpers CE, Majesky MW, Schwartz SM, Pritzl P, Gordon K, Gown AM. Expression of smooth muscle cell phenotype by rat mesangial cells in immune complex nephritis. Alpha-smooth muscle actin is a marker of mesangial cell proliferation. *J Clin Invest*. 1991;87:847-58.
124. Alpers CE. Potential future directions for renal biopsy. In: Silva FG, D'Agati VD, Nadasdy T, ed. *Renal biopsy interpretation*. New York: Churchill Livingstone, 1997: 403–21.
125. Johnson RJ. The glomerular response to injury: progression or resolution? *Kidney Int* 1994;45:1769–1782.
126. Zhang G, Moorhead PJ, El Nahas AM. Myofibroblasts and the progression of experimental glomerulonephritis. *Exp Nephrol* 1995;3:308-318.

127. Fan JM, Ng YY, Hill PA, Nikolic-Paterson DJ, Mu W, Atkins RC, Lan HY. Transforming growth factor- β regulates tubular epithelial myofibroblast transdifferentiation in vitro. *Kidney Int* 1999;56:1455-1467.
128. Schlondorff DO. Overview of factors contributing to the pathophysiology of progressive renal disease. *Kidney Int* 2008;74:860-866.
129. El Nahas AM. Plasticity of kidney cells: role in kidney remodeling and scarring. *Kidney Int* 2003;64:1553-1563.
130. Bagchus WM, Hoedemaeker J, Rozing J, Bakker WW. Glomerulonephritis induced by monoclonal anti-Thy 1.1 antibodies. *Lab Invest* 1988;55:680–687.
131. Floege J, Johnson RJ, Gordon K, Iida H, Pritzl P, Yoshimura A, Campbell C, Alpers CE, Couser WG. Increased synthesis of extracellular matrix in mesangial proliferative nephritis. *Kidney Int* 1991;40:477-488.
132. El Nahas AM. Glomerulosclerosis: intrinsic and extrinsic pathways. *Nephrol Dial Transpl* 1996;11:773–777.
133. Tomasek JJ, Gabbiani G, Hinz B, Chaponnier C, Brown RA. Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002; 3: 349–363.
134. LeBleu VS, Taduri G, O'Connell J, Teng Y, Cooke VG, Woda C, Sugimoto H, Kalluri R. Origin and function of myofibroblasts in kidney fibrosis. *Nat Med* 2013;19:1047-1053.
135. Humphreys BD, Lin SL, Kobayashi A, Hudson TE, Nowlin BT, Bonventre JV, Valerius MT, McMahon AP, Duffield JS. Fate tracing reveals the pericyte and not epithelial origin of myofibroblasts in kidney fibrosis. *Am J Pathol* 2010;176: 85-97.

136. Hinz B, Celetta G, Tomasek JJ, Gabbiani G, Chaponnier C. Alpha-smooth muscle actin expression upregulates fibroblast contractile activity. *Mol Biol Cell* 2001; 12: 2730–2741.
137. Johnson RJ, Iida H, Alpers CE, Majesky MW, Schwartz SM, Pritzl P, Gordon K, Gown AM. Expression of smooth muscle cell phenotype by rat mesangial cells in immune complex nephritis. Alpha-smooth muscle actin is a marker of mesangial cell proliferation. *J Clin Invest* 1991;87:847–58.
138. Alpers CE, Hudkins KL, Gown AM, Johnson RJ. Enhanced expression of “muscle-specific” actin in glomerulonephritis. *Kidney Int* 1992;41:1134–42.
139. Kimura K, Suzuki N, Ohba S, Nagai R, Hiroi J, Mise N, Tojo A, Nagaoka A, Hirata Y, Goto A, Yazaki Y, Omata M. Hypertensive glomerular damage as revealed by the expression of alpha-smooth muscle actin and non-muscle myosin. *Kidney Int Suppl* 1996;55:S169–72.
140. Goumenos DS, Brown CB, Shortland J, el Nahas AM. Myofibroblasts, predictors of progression of mesangial IgA nephropathy? *Nephrol Dial Transplant* 1994;9:1418–25.
141. Utsunomiya Y, Kawamura T, Abe A, Imai H, Hirano K, Maruyama N, Hosoya T, Sakai O. Significance of mesangial expression of alpha-smooth muscle actin in the progression of IgA nephropathy. *Am J Kidney Dis* 1999;34:902–10.
142. Geleilate TJ, Costa RS, Dantas M, Coimbra TM. Alpha-smooth muscle actin and proliferating cell nuclear antigen expression in focal segmental glomerulosclerosis: functional and structural parameters of renal disease progression. *Braz J Med Biol Res* 2001;34:985–91.

143. Makni K, Jarraya F, Khabir A, Hentati B, Hmida MB, Makni H, Boudawara T, Jlidi R, Hachicha J, Ayadi H. alpha-smooth muscle actin: a new prognostic factor for lupus nephritis. *Nephrology (Carlton)* 2009;14:499–505.
144. Barisoni L, Mundel P. Podocyte biology and the emerging understanding of podocyte diseases. *Am J Nephrol* 2003;23:353–60.
145. Asanuma K, Yanagida-Asanuma E, Faul C, Tomino Y, Kim K, Mundel P. Synaptopodin orchestrates actin organization and cell motility via regulation of RhoA signalling. *Nat Cell Biol* 2006;8: 485–491.
146. Daniel C, Albrecht H, Ludke A, Hugo C. Nestin expression in repopulating mesangial cells promotes their proliferation. *Lab Invest* 2008;88:387–97.
147. Tamimi NA, Stevens PE, O'Donnell PL, Strange PG, Muchaneta-Kubara EC, El Nahas AM. Expression of cytoskeletal proteins differentiates between progressors and non-progressors in treated idiopathic membranous nephropathy. *Exp Nephrol* 1998; 6: 217–25.
148. Branton MH, Kopp JB. TGF- β and fibrosis. Kidney Disease Section, Metabolic Diseases Branch, NIDDK, National Institutes of Health, Bethesda 1999: 20892–1268.
149. Alexopoulos E, Stangou M, Papagianni A, Pantzaki A, Papadimitriou M. Factors influencing the course and the response to treatment in primary focal segmental glomerulosclerosis. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15:1348-56.
150. Kidder D, Bray SE, Fleming S. Differences in the frequency of macrophage and T cell markers between focal and crescentic classes of anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA)-associated glomerulonephritis. *J Nephropathol* 2017;6:97-102.

151. Badid C, Desmouliere A, McGregor B, Costa AM, Fouque D, Hadj Aissa A, Laville M. Interstitial alpha-smooth muscle actin: a prognostic marker in membranous nephropathy. *Clin Nephrol* 1999;52:210-7.
152. Badid C, Desmouliere A, Babici D, Hadj-Aissa A, McGregor B, Lefrancois N, Touraine JL, Laville M. Interstitial expression of alpha-SMA: an early marker of chronic renal allograft dysfunction. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17:1993-8.
153. Merszei J, Wu J, Torres L, Hicks JM, Bartkowiak T, Tan F, Lou YH. Osteopontin overproduction is associated with progression of glomerular fibrosis in a rat model of anti-glomerular basement membrane glomerulonephritis. *Am J Nephrol* 2010;32:262-71.
154. Essawy M, Soylemezoglu O, Muchaneta-Kubara EC, Shortland J, Brown CB, El Nahas AM. Myofibroblasts and the progression of diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 1997;12:43–50.
155. Rastaldi MP, Ferrario F, Giardino L, Dell'Antonio G, Grillo C, Grillo P, Strutz F, Müller GA, Colasanti G, D'Amico G. Epithelial-mesenchymal transition of tubular epithelial cells in human renal biopsies. *Kidney Int* 2002;62:137-146.
156. Saratlija Novakovic Z, Glavina Durdov M, Puljak L, Saraga M, Ljutic D, Filipovic T, Pastar Z, Bendic A, Vukojevic K. The interstitial expression of alpha-smooth muscle actin in glomerulonephritis is associated with renal function. *Med Sci Monit* 2012;18:235-40.
157. Verrecchia F, Mauviel A. Transforming growth factor beta and fibrosis. *World J Gastroenterol* 2007;13:3056–3062.
158. Yamamoto T, Noble NA, Cohen AH, Nast CC, Hishida A, Gold LI, Border WA. Expression of transforming growth factor- β isoforms in human glomerular diseases. *Kidney Int* 1996;49:461-9.

159. Bob FR, Gluhovschi G, Herman D, Bozdog G, Gluhovschi C, Velciov S, Potencz E, Petrica L. Histological changes and immunohistochemical markers in the assessment of glomerulosclerosis in patients with glomerulonephritis. *Rom J Morphol Embryol* 2011;52:1027-32.
160. Bob F, Gluhovschi G, Herman D, Petrica L, Bozdog G, Gluhovschi C, Velciov S, Gadalean F, Timar R, Potencz E, Dema A, Schiller A. Immunohistochemical study of tubular epithelial cells and vascular endothelial cells in glomerulonephritis. *Ren Fail* 2014;36:1208-14.
161. Asada N, Takase M, Nakamura J, Oguchi A, Asada M, Suzuki N, Yamamura K, Nagoshi N, Shibata S, Rao TN, Fehling HJ, Fukatsu A, Minegishi N, Kita T, Kimura T, Okano H, Yamamoto M, Yanagita M. Dysfunction of fibroblasts of extrarenal origin underlies renal fibrosis and renal anemia in mice. *J Clin Invest* 2011;121:3981-3990.
162. Watanabe T, Kawachi H, Ikezumi Y, Yanagihara T, Oda Y, Shimizu F. Glomerular CD8+ cells predict progression of childhood IgA nephropathy. *Pediatr Nephrol* 2001;16:561-7.
163. Galkina E, Ley K. Leukocyte recruitment and vascular injury in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:368-377.
164. Bending JJ, Lobo-Yeo A, Vergani D, Viberti GC: Proteinuria and activated T-lymphocytes in diabetic nephropathy. *Diabetes* 1988;37:507-511.
165. Moriya R, Manivel JC, Mauer M. Juxtaglomerular apparatus T-cell infiltration affects glomerular structure in type 1 diabetic patients. *Diabetologia* 2004;47:82-88.

166. Liu L, Kou P, Zeng Q, Pei G, Li Y, Liang H, Xu G, Chen S. CD4+ T Lymphocytes, especially Th2 cells, contribute to the progress of renal fibrosis. *Am J Nephrol* 2012;36:386-96.

167. Penny MJ, Boyd RA, Hall BM. Permanent CD8(+) T cell depletion prevents proteinuria in active Heymann nephritis. *J Exp Med* 1998;188:1775-84.

168. Mizushima I, Yamada K, Fujii H, Inoue D, Umehara H, Yamagishi M, Yamaguchi Y, Nagata M, Matsumura M, Kawano M. Clinical and histological changes associated with corticosteroid therapy in IgG4-related tubulointerstitial nephritis. *Mod Rheumatol* 2012;22:859-70.