

T.C
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**BİRİNCİL IgA NEFROPATİSİNDE C4d
VARLIĞININ VE YOĞUNLUĞUNUN BÖBREK
HASARLANMA DERECESESİ VE BÖBREK
SAĞKALIMI İLE BİRLİKTELİĞİ**

Dr. Cihan HEYBELİ

İÇ HASTALIKLARI UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2015

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**BİRİNCİL IgA NEFROPATİSİNDE C4d
VARLIĞININ VE YOĞUNLUĞUNUN BÖBREK
HASARLANMA DERECESESİ VE BÖBREK
SAĞKALIMI İLE BİRLİKTELİĞİ**

İÇ HASTALIKLARI UZMANLIK TEZİ

Dr. Cihan HEYBELİ

Danışman Öğretim Üyesi: Prof. Dr. Caner Çavdar

(Bu araştırma Dokuz Eylül Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje Talep No:7648.)

İÇİNDEKİLER:

• TABLO LİSTESİ.....	II
• ŞEKİL LİSTESİ.....	III
• RESİM LİSTESİ.....	IV
• KISALTMALAR.....	V
• TEŞEKKÜR.....	VI
• ÖZET.....	1
• GİRİŞ VE AMAÇ.....	6
• GENEL BİLGİLER.....	7
• GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	13
• BULGULAR	18
• TARTIŞMA.....	28
• SONUÇ VE ÖNERİLER.....	33
• KAYNAKLAR.....	34

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Komplemanın farklı yolaklarının aktivasyonunda dokuda saptanması beklenen kompleman proteinleri

Tablo 2. IgA nefropatisinde Oxford sınıflandırma sistemi

Tablo 3. Araştırmaya dahil edilme kriterleri

Tablo 4. Araştırmadan dışlama kriterleri

Tablo 5. Araştırmada değerlendirilen veriler

Tablo 6. Glomerüler C4d boyanması-Kresent formasyonu birlikteliği

Tablo 7. Glomerüler C4d boyanması-Sellüler kresent birlikteliği

Tablo 8. Glomerüler C4d boyanması-Fibröz kresent birlikteliği

Tablo 9. Glomerüler C4d boyanması-Mezangial hipersellülarite birlikteliği

Tablo 10. Glomerüler C4d boyanması-Endokapiller hipersellülarite birlikteliği

Tablo 11. Glomerüler C4d boyanması-Segmental skleroz birlikteliği

Tablo 12. Glomerüler C4d boyanması-İnterstisyel fibrozis/Tübüler atrofi birlikteliği

Tablo 13. Glomerüler C4d pozitif ve negatif gruplarda mezangial immünglobulin ve kompleman birikimleri

Tablo 14. Glomerüler C4d boyanması ile proteinüri birlikteliği

Tablo 15. Glomerüler C4d pozitif ve negatif grupların tanı sırasındaki genel verileri

Tablo 16. Glomerüler C4d pozitif ve negatif hasta gruplarının izlemdeki klinik verileri

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Kompleman sisteminde C4d molekülünün rolü

Şekil 2. Glomerüler C4d boyanması açısından genel hasta profili

RESİM LİSTESİ

Resim 1. Glomerüler C4d boyanması

Resim 2. Tübüler C4d boyanması

Resim 3. İnterlobüler arteriyel C4d boyanması

KISALTMALAR

CMV	:	Sitomegalovirüs
DEÜTF	:	Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi
FGF-23	:	Fibroblast büyüme faktörü-23
HBV	:	Hepatit-B virüsü
HCV	:	Hepatit-C virüsü
HIV	:	İnsan immün yetmezlik virüsü
IgA	:	İmmünglobulin A
KDIGO	:	Kidney Disease Improvement Global Outcome
MAC	:	Membran atak kompleksi
MBL	:	Mannoz-bağlayıcı Lektin
MDRD	:	Modification of Diet in Renal Disease
MEST	:	Mezangial hipersellülarite/Endokapiller hipersellülarite/Segmental Skleroz-Tübüler atrofi/İnterstisyel fibroz
RAS	:	Renin-Anjiyotensin Sistemi
SDBY	:	Son Dönem Böbrek Yetmezliği
SPSS	:	Statistical Package for Social Sciences
DSÖ	:	Dünya Sağlık Örgütü

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın, bir araştırma görevlisi doktora verilmiş bir tez çalışması olmasına rağmen, bilimsel gücünün beklenildiğinden çok daha üst düzeyde olduğu kanaatindeyim. Bana ilgi alanıma giren bir konuda bilimsel yönü güçlü bir çalışma yapma şansını veren, her aşamada sorumluluğu ve heyecanı üst düzeyde yaşamamı sağlayan, mentor-mentee ilişkisini belki de bir daha göremeyeceğim kadar profesyonel düzeyde yaşatan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Caner Çavdar'a teşekkür ederim. Bu deneyimin gelecek yıllarda gerçekleştirmeyi düşündüğüm bilimsel çalışmalara yaklaşımda güçlü bir temel olacağının farkındayım.

Ünlü antropolog Ashley Montagu'ya göre binlerce yıl süren insanlık tarihinin her aşamasında en değerli davranış biçimi işbirliği olmuştur. Araştırmamızın en önemli aşaması olan histopatolojik incelemeler sırasında bu davranış biçimini üst düzeyde sergileyen, bu sırada kendileriyle kolaylıkla samimi bir iletişim kurmamı sağlayan, fikirlerimi sonuna kadar dinleyerek eleştiren ve olgunlaştıran fakültemiz Patoloji Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Sülen Sarıoğlu ve Sayın Doç. Dr. Mehtat Ünlü'ye teşekkür ederim. Ayrıca bu işbirliğinin son aşaması olan istatistiksel analiz çalışmasında gösterdiği büyük destek için değerli hocam Sayın Prof. Dr. Hülya Ellidokuz'a teşekkür ederim.

Bilimsel açıdan açıdan ayrıcalıklı bir platformda fikir alışverişini mümkün kılan değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Taner Çamsarı, Sayın Prof. Dr. Aykut Sifil, Sayın Prof. Dr. Ali Çelik ve Sayın Öğr. Gör. Uzm. Dr. Serkan Yıldız'a ayrıca teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Çalışmanın önemli aşamalarında gösterdiği yardımlar ve manevi destek nedeniyle değerli arkadaşım Sayın Uzm. Dr. Ali Ekrem Aydın'a teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince deneyim aktarımları ve bilimsel katkıları nedeniyle tüm İç Hastalıkları Anabilim Dalı bünyesindeki hocalarım adına değerli hocam Sayın Fatoş Önen'e teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca hangi konuda olursa olsun elde ettiğim ve edeceğim başarıları kendisine borçlu olacağım anneme teşekkür ederim. Eğitim hayatım boyunca mesafe olarak uzakta olsalar da manevi desteklerini hissettiren kardeşlerim ve babama teşekkür ederim.

ÖZET

Birincil IgA Nefropatisinde C4d Varlığının ve Yoğunluğunun Böbrek Hasarlanma Derecesi ve Böbrek Sağkalımı ile Birlikteliği

Araş. Gör. Dr. Cihan Heybeli

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Yazışma adresi: heybelic@hotmail.com

Amaç ve hipotez: Bu çalışmanın amacı birincil IgA nefropatili hastaların glomerüler C4d boyanmasının demografik, klinik ve histopatolojik bulgularla birlikteliğini değerlendirmektir. Glomerüler C4d boyanması pozitif olan hastalarda komplemanın lektin yolunun aktivasyonu olduğu düşünülmekte; bu hastalarda böbrek hasarlanma derecesinin ciddi ve böbrek sağkalım oranının ise düşük olması beklenmektedir.

Yöntem: 2003 Ocak ile 2013 Aralık tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi (DEÜTF) Nefroloji Bilim Dalı tarafından değerlendirilmiş ve birincil IgA nefropatisi tanısı almış olan 18 yaş ve üzeri 45 hasta bu araştırmaya dahil edilmiştir. 8 hasta biyopsi dokusunun yetersizliği nedeniyle araştırmadan çıkarılmıştır. Hastalar bölüme davet edilip, önceden alınmış olan böbrek biyopsi materyallerinin glomerüler C4d boyanması açısından yeniden değerlendirilmesi ve hastalık öyküsüne ilişkin bilgilerin kullanımı yönünden kendilerinden gönüllü aydınlatılmış onam formu alınmıştır. Hastaların DEÜTF hasta arşivinde yer alan dosyaları retrospektif olarak incelenmiştir. DEÜTF Patoloji Anabilim Dalı tarafından tanı aşamasında değerlendirilmiş olan böbrek dokuları C4d kiti (Cell Marque ® C4d/SP91 monoklonal antikoru) ile yeniden boyanarak glomerüllerde ve glomerül dışı alanlarda boyanma açısından değerlendirilmiştir. Glomerüler C4d boyanma sonucuna göre (pozitif/negatif) hastalar gruplara ayrılmıştır. Bu gruplar demografik (hasta yaşı, cinsiyet), klinik (biyopsi sırasındaki proteinüri miktarı, serum kreatinin düzeyi, kreatinin klerensi, makroskopik hematüri varlığı, hipertansiyon varlığı, immunosupresif ilaç kullanımı, renal replasman tedavisi ihtiyacı) ve histopatolojik (peritübüler kapillerler, interlobüler arterler, glomerüller ve tübüllerde C4d boyanması; Oxford sınıflandırma sistemi kriterleri; mezangial immünglobülin birikimleri; kresent varlığı) özellikler açısından karşılaştırılmıştır. Glomerüler C4d boyanması monoklonal antikor kullanılarak immünohistokimyasal yöntem ile

incelenmiştir. İstatistiksel analizler için SPSS 16.0 programı kullanılmış, p değerinin 0,05'den düşük saptanması durumunda bulgular istatistiksel açıdan anlamlı olarak değerlendirilmiştir. Sayısal veri analizi için ki-kare testi ve Fisher kesin testi, ölçümle belirlenen değişken analizi için Mann-Whitney U testi ve korelasyon analizi kullanılmıştır. Glomerüler C4d boyanmasının renal sağkalım üzerine olan etkisini değerlendirmek için Kaplan-Meier ve Cox oransal risk analizlerinin kullanılması planlanmıştır.

Bulgular: 20 ile 71 yaş arası olduğu gözlenen 37 hastanın 11'inin kadın ve 26'sının erkek olduğu saptanmıştır. 37 hastanın 16'sının C4d-pozitif ve 21'inin C4d-negatif olduğu belirlenmiştir. Ortalama 24.3 ay (minimum <3 ay, maksimum 120 ay) izlenen hastalarda izlem süresince tanı sırasında renal replasman ihtiyacı duyan iki hasta dışında son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) gelişmediğinden renal sağ kalım analizi yapılamamıştır. Glomerüler C4d boyanması pozitif olan hastalarda biyopsi sırasındaki ortalama proteinüri miktarı 2906 mg/gün, negatif olan hastalarda ise 1091 mg/gün olarak saptanmıştır (p=0.002). Negatif grupta biyopsi sırasındaki MDRD (Modification of Diet in Renal Disease)'ye göre glomerüler filtrasyon hızı ortalaması 95 ml/dk (normal referans değerler > 90 mL/dk) ve serum kreatinin düzeyinin ortalaması 1,248 mg/dL iken (normal referans değerler: 0.51-0.95 mg/dL) pozitif grupta bu değerler sırasıyla 54.87 ml/dk (p=0.023) ve 2.1 mg/dL (p=0.022) olarak hesaplanmıştır. Glomerüler C4d pozitifliği'nin tanı sırasında daha yüksek kan basıncı (p=0.022), daha düşük glomerüler filtrasyon hızı (p=0.023), daha şiddetli endokapiller hipersellülarite (p<0.001), daha şiddetli tübüler atrofi (p<0.01) ve siklofosfamid kullanımı (p=0.024) ile birlikteliği gösterilmiştir. C4d-pozitif gruptaki hastaların yaş ortalaması daha yüksek saptansa da (pozitif grupta 45.6, negatif grupta 37.1, tüm hastalarda 40.78) bu durum rastlantısal olarak yorumlanmıştır (p=0.066). Mezangial IgM birikimi'nin glomerüler C4d boyanması, nefrotik düzeyde proteinüri (p=0.055) ve siklofosfamid ihtiyacı (p=0.016) ile birlikte olduğu gözlenmiştir. Kresent formasyonu ile glomerüler C4d boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir birliktelik saptanamamıştır. İnterlobüler arterlerde C4d boyanması ile sellüler kresent formasyonu (p=0.027) ve endokapiller hipersellülarite (p=0.014) arasında birliktelik olduğu görülmüştür.

Sonuçlar: Glomerüler C4d birikimi tanı sırasında daha olumsuz histopatolojik ve klinik bulgular ile birliktedir. Kresent varlığı her ne kadar olumsuz renal sağkalım ile ilişkili olsa da çalışmamızda glomerüler C4d ile istatistiksel olarak anlamlı birliktelik gösterilememiştir. Mezangial IgM birikiminin daha yüksek oranda glomerüler C4d birikimi, daha ileri histolojik

evre ve daha agresif tedavi ihtiyacı ile birlikteliği gösterilmiştir. IgM birikiminin süreçteki rolünün aydınlatılması için daha geniş vaka serilerine ihtiyaç vardır. Glomerül dışı alanlarda C4d birikiminin öneminin değeriendirilmesi için de daha fazla sayıda hastada değeriendirme yapılması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: kompleman C4d, immünglobulin A nefropatisi, immünglobulin M

ABSTRACT

Association of the Presence and Quantity of C4d with the Severity of Kidney Injury and Kidney Longevity In Patients with Primary IgA Nephropathy

Object and hypothesis: The aim of this study is to evaluate the correlation between the glomerular C4d stain status and demographic, clinical and histopathological findings of patients with primary IgA nephropathy. Lectin pathway of the complement system is thought to be activated in patients with C4d positive glomerular staining; in those patients severe renal injury and decreased renal longevity rate is probable.

Methodology: 45 patients with age of 18 years or older who were evaluated and diagnosed as primary IgA nephropathy by Dokuz Eylul University School of Medicine (DEUTF) Department of Nephrology between January 2003 and December 2013 were included in this survey. 8 patients were excluded due to the lack of biopsy specimens. After patients were invited to the department, written informed consent was obtained for staining with C4d on previous kidney biopsy material and quantitative immunoglobulin assay and for using history of disease data. Files of patients were researched retrospectively. Kidney biopsies were analyzed for staining with C4d kit (Cell Marque ®; C4d SP91 monoclonal antibody). Based on glomerular C4d staining results patients were grouped (as positive/negative). Those groups were compared according to their demographic (patient age and sex), clinical (degree proteinuria, serum creatinine level, creatinine clearance, presence of macroscopic hematuria, presence of hypertension, use of immunosuppressive drugs, need for renal replacement therapy) and histopathological (C4d staining in glomerular and extraglomerular sites of kidney; Oxford classification system criteria; mesangial immunoglobulin depositions; presence of crescent formation) findings. Glomerular C4d staining was performed with immunohistochemistry using monoclonal antibody. For statistical analysis SPSS 16.0 was used; findings were evaluated as statistically significant if p value is to be found less than 0.05. For categorical data analysis Chi-square and Fisher's exact test, for analysis of variance Mann-Whitney U test and correlation analysis were used. Kaplan-Meier and Cox proportional hazards analyses were planned to be performed to evaluate the effect of glomerular C4d staining on renal survival.

Results: Of patients who were between ages of 20 and 71, 11 were female and 26 were male. 16 of 37 patients were identified as C4d-positive, and 21 as C4d-negative. During median follow up of 24.3 months (minimum <3 months, maximum 120 months) keeping separately two patients who needed renal replacement therapy at the moment of diagnosis, no patient was shown to progress to end-stage kidney failure, thus renal survival analysis couldn't have been performed. In glomerular C4d-positive group mean proteinuria was 2906 mg/day, and it was 1091 mg/day in negative patients ($p=0.002$). In negative group mean estimated glomerular filtration rate according to MDRD formula was 95 ml/min (normal reference values > 90 ml/min) and serum creatinine was 1,248 mg/dL (normal reference values: 0.51-0.95 mg/dL), while it was 54.87 ml/min ($p=0.023$) and 2.1 mg/dL ($p=0.022$) in positive group, respectively. Glomerular C4d positive staining was associated with higher blood pressure ($p=0.022$), lower glomerular filtration rate ($p=0.023$), more severe endocapillary hypercellularity ($p<0.001$), more severe tubular atrophy ($p<0.01$) and use of cyclophosphamide ($p=0.024$). Although average age was higher in C4d-positive group (45.6 in positive group, 37.1 in negative group, 40.78 in whole group), it was thought to be incidental. Mesangial IgM positivity was found to be concurrent with glomerular C4d staining, nephrotic range proteinuria and use of cyclophosphamide. No statistically significant association was found between glomerular C4d staining and crescent formation. Statistically significant correlation was realised between interlobular arterial C4d staining and cellular crescent formation ($p=0.027$) as between interlobular arterial C4d staining and endocapillary hypercellularity ($p=0.014$).

Conclusions: Glomerular C4d deposition was found to be with more unfavorable histopathological and clinical findings at the time of diagnosis. Although crescent formation is associated with worse renal outcomes, a statistically significant correlation between glomerular C4d deposition couldn't have been demonstrated. It was shown that mesangial IgM deposition is concurrent with glomerular C4d deposition, more severe histologic grade and necessity for more aggressive therapy. More patient series are needed to clarify the role of IgM in process. More patient series should also be analyzed to understand the importance of C4d depositions in extraglomerular sites.

Key words: complement C4d, immunoglobulin A nephropathy, immunoglobulin M

GİRİŞ VE AMAC

İmmünglobülin A (IgA) nefropatisi birincil glomerüler hastalıklar içerisinde sıklık açısından ilk sırada yer almaktadır [1-5]. Japonya ve Çin gibi idrar analizi çalışmalarının yoğun bir şekilde teşvik edildiği ve asemptomatik hematüri hastalara biyopsi yapma eğiliminin daha fazla olduğu ülkelerde bu nedenlerle hastalığın daha sık görüldüğü düşünülmektedir. Çin’de yapılan ve böbrek biyopsisi olan 13.519 hastanın incelendiği bir çalışmada birincil glomerüler hastalıklar arasında IgA nefropatisi sıklığı %45.26 olarak hesaplanmıştır [6]. Önceden masum bir hastalık olarak bilinmesine rağmen 20 yıllık izlemde hastaların yaklaşık üçte birinde SDBY geliştiği gözlemlenmiştir [2-4, 7]. Güncel olan bir çalışmada 1974 ile 2011 yılları arasında böbrek biyopsisi sonrasında birincil IgA nefropatisi almış 1.012 hasta incelenmiş ve 30 yıllık renal sağkalımın %50 dolaylarında olduğu belirlenmiştir [7].

SDBY’ye ilerleme riski yüksek hastalarda immün sistemi baskılayıcı ilaç tedavisi gündeme gelirken böbrek işlev bozukluğu olmayan bir grup hasta genellikle bu tedavi verilmeksizin izlenir. Hastalığın uzun dönemde prognozunu öngörebilecek bazı bulguların varlığı ilaç tedavilerine başlama kararı konusunda yardımcı olabilir. Tanı sırasında kreatinin klirensinin düşük olması, 1 gram/gün üzerinde proteinüri, yüksek sistolik kan basıncı düzeyi, ailede hipertansiyon öyküsü, düşük serum hemoglobin düzeyi, düşük serum albumin düzeyi, yüksek serum fibroblast büyüme faktörü-23 (FGF-23) düzeyi, yüksek serum ürik asit düzeyi ve yüksek histolojik evrenin SDBY gelişimi açısından bağımsız risk faktörleri olduğu çok sayıda çalışmada gösterilmiştir [8, 9]. Son dönemde kompleman sisteminin lektin ve klasik yollarında kullanılan C4 proteininin bir yan ürünü olan C4d molekülünün IgA nefropatisi hastalarında prognoz açısından öngördürücülüğünü değerlendiren bazı çalışmalar yayınlanmıştır [10-12]. Araştırmamızın amacı merkezimizde takip edilmekte olan IgA nefropatisi hastalarında glomerüler C4d varlığının hastaların klinik, demografik ve diğer histopatolojik verileriyle birlikteliğini inceleyerek prognoz üzerine olan öngördürücülüğünü değerlendirmektir.

GENEL BİLGİLER

IgA nefropatisinin tanısı sadece böbrek biyopsisi yapılarak konulabilir. İmmü floresan mikroskopide mezangiumda IgA'dan baskın birikim gözlenir. Birikim mezangium dışında az miktarda glomerüler kapiller duvarda da olabilir. Işık mikroskopisinde fokal ya da diffüz mezangial matriks proliferasyonu ve mezangial genişleme görülebilir. Elektron mikroskopide ise elektron-dens birikimlerin mezangiuma sınırlı olduğu gözlenir [1-5].

Hastalığın patogeneğinde birden fazla aşamanın rolü vardır. **İlk aşama** IgA üreten B lenfositlerinin mukozadan sistemik dolaşıma geçmesiyle başlar. Mukoza kaynaklı bu hücrelerin sistemik dolaşıma göçü genellikle üst solunum yolu infeksiyonu ya da gastroenterit gibi mukozal immün sistem aktivasyonuna yol açabilecek tablolarla aynı döneme rastlar. Bu hücrelerce üretilen **IgA moleküllerinin menteşe bölgelerinde galaktozilasyon eksikliği**, polimerizasyon varlığı gibi yapısal kusurları vardır [13]. Galaktozilasyondan sorumlu enzimi kodlayan genlerdeki kalıtsal değişiklikler bu kusurdan sorumlu tutulmuştur [14]. Diğer bir yandan özellikle tonsillit gibi tabloların nefritojenik IgA1 molekülünün oluşumuna yol açtığı konusunda güçlü şüpheler vardır [15]. IgA yapılarındaki galaktozilasyon kusuru bu moleküllere karşı otoantikor gelişmesine, immü komplekslerin daha kolay ve daha yoğun oluşmasına yol açar. *In vitro* koşullarda galaktozilasyon kusuru olan IgA içeren immü komplekslerin fibronektin ve tip IV kollajene ilgisinin fazla olduğu gösterilmiştir [16]. Bu da hastalıktaki mezangial immü kompleks birikimini açıklamaktadır. **İkinci aşamada** sistemik dolaşımdaki yapısı anormal olan bu immünglobülinlere karşı otoantikor gelişmektedir. Anormal IgA molekülleri ile bunlara karşı gelişmiş otoantikorların birleşmesiyle immü kompleks oluşumu hastalığın gelişiminde **üçüncü aşamayı** oluşturmaktadır. İmmü komplekslerin renal glomerüler mezangiyumda birikmesi bir sonraki aşamadır. **Son basamakta** mezangiyal immü kompleks birikimi kompleman sistem aktivasyonu ve inflamasyona yol açarak doku hasarıyla sonuçlanır [17-20].

Her ne kadar mezangial IgA birikimi patogeneşte önemli olsa da tek başına klinik bulguların ortaya çıkmasına yol açmaz. Hastalığın ortaya çıkması için belirtilen aşamaların hepsinin gerçekleşmesi gerekmektedir. Serum IgA düzeyinin yüksekliği ve glomerüler immü kompleks birikimi siroz, çölyak hastalığı, insan immün yetmezlik virüsü (HIV) infeksiyonu, lenfomalar gibi bazı hastalıkların seyrinde de görülebilir [21]. Kronik karaciğer

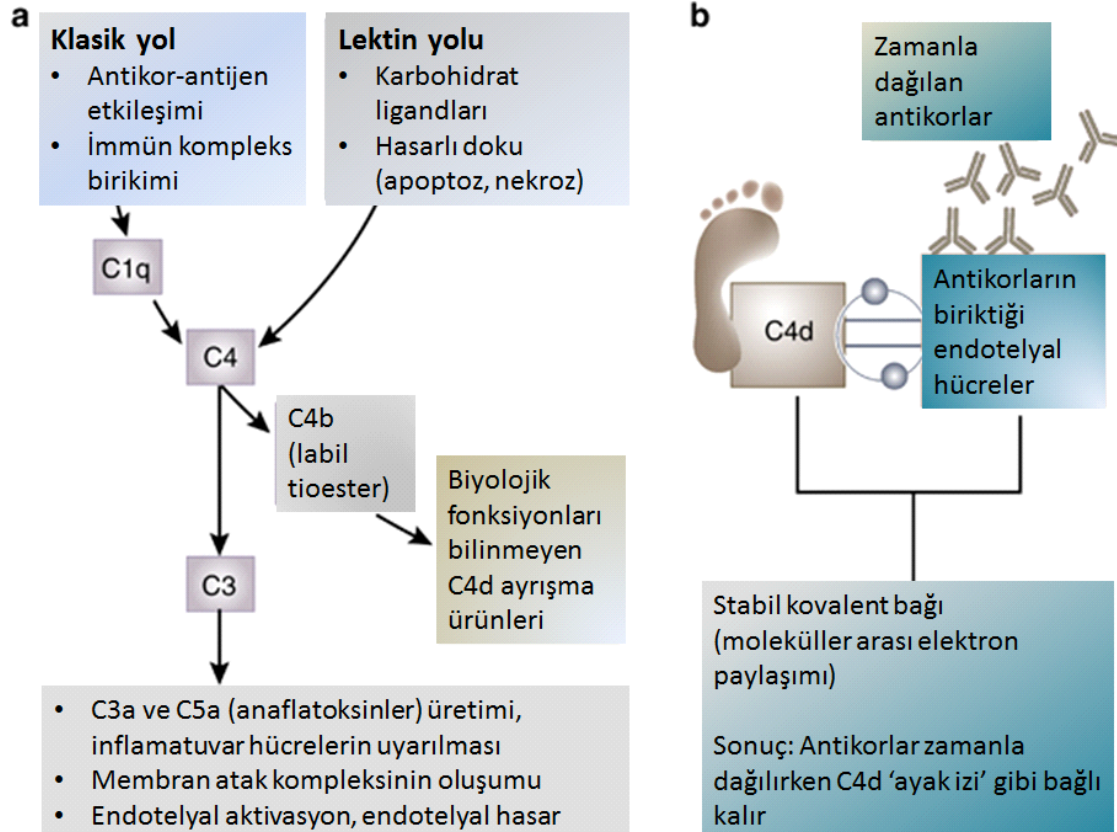
hastalığı olan bireylerin otopsi verilerinde mezangial IgA birikime sıklıkla rastlanmaktadır. Yine HIV enfeksiyonlu bireylerde serumda poliklonal IgA yüksekliği saptanmaktadır. Bu hastalıklarda görülen IgA birikimi mezangial aktivasyon ve glomerüler hasarla genellikle sonuçlanmaz. Yine de bu hastalıklar IgA nefropatisinin ortaya çıkmasını kolaylaştırır ve bu hastalıkların varlığında klinik tablo ikincil IgA nefropatisi olarak adlandırılır. İkincil IgA nefropatisiyle ilişkili hastalıkların bazılarında intestinal inflamasyon sonucu serum IgA üretimi artarken, karaciğer hastalıklarında Kuppfer hücreleri tarafından IgA içeren komplekslerin serumdan uzaklaştırılmasında aksama söz konusudur [22-23]. Sağlıklı popülasyonda da mezangial IgA birikiminin %3-16 arasında olduğu bir çalışmada gösterilmiştir [24]. İnce bazal membran hastalığı, lupus nefriti, minimal değişiklik hastalığı ve diyabetik nefropati gibi diğer bazı glomerüler hastalıklarda IgA birikiminin de bu durumla ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Çalışmamızda dahil edilmesi planlanan hastalar ikincil IgA nefropatisiyle ilişkisi bilinen hastalıklar açısından değerlendirilmiş ve bu hastalıklara sahip olanlar çalışmaya dahil edilmemişlerdir.

IgA nefropatisi patogenezinde belirtildiği üzere mezangial immün birikim sonrası doku hasarı gelişir. Bu immün hasarın gelişiminde rol alan önemli faktörlerden birisi de kompleman sistemidir. Glomerülde immünkompleks birikimi sonrası ortaya çıkan inflamasyonda kompleman sisteminin rolü olduğu bilinmektedir. Kompleman sistemi klasik yol, alternatif yol veya lektin yolu aracılığıyla aktive olabilir. Önceleri IgA nefropatisinde tüm hastalarda kompleman sisteminin alternatif yolunun aktive olduğu düşünülmekteydi. Lektin yolunun tanımlanması sonrası bazı hastaların böbrek biyopsilerinde bakılan C4d komponentinin varlığı alternatif yol dışında lektin yolunun da aktive olabileceğini düşündürmüştür [25-30].

C4 molekülü klasik yol ve lektin yolu aktivasyonlarında kullanılır. Dolayısıyla bu molekülün yan ürünü olan C4d yine klasik yol veya lektin yolunun aktive olduğunun göstergesi olabilir (Şekil 1). IgA nefropatisi olan hastalarda dokuda bakılan klasik yol aktivasyonunun göstergesi olan C1q molekülünün negatifliği nedeniyle klasik yolun aktive olmadığı bilinmektedir. IgA nefropatisi gibi mezengiyumda IgA birikiminin görülebileceği lupus nefritinde ise klasik yol aktivasyonu olduğu bilinmektedir ve IgA birikimine eşlik eden C1q birikimi de bunun kanıtıdır. Bu nedenle böbrek dokusunda C4d açısından pozitif boyanma olan IgA nefropatisi hastalarında komplemanın lektin yolunun aktif olduğu düşünülmektedir. C4d, 90'lı yılların sonlarında böbrek nakli hastalarında antikor aracılı rejeksiyonu göstermek için kullanılmaya başlanan ve renal transplantasyonda kullanılan Banff sınıflandırmasında akut antikor aracılı

rejeksiyon tanı kriterlerinden birisini oluşturacak şekilde bu sınıflandırmaya dahil edilen bir moleküldür. Yapısındaki tiyoester bağı nedeniyle C4 komponentinin yıkılmasıyla oluştuktan sonra özellikle kompleman sisteminin aktif olduğu bölgede dokuya sıkı bir şekilde bağlanır ve antikor gibi yapılara kıyasla çok uzun süre bağlandığı yerde kalır. Bu yüzden C4d molekülü hümoral immün sistem aktivasyonunun 'ayak izi' olarak da tanımlanmıştır [31].

Şekil 1. Kompleman Sisteminde C4d Molekülünün Rolü [31]



Tablo 1. Komplemanın farklı yollarının aktivasyonunda dokuda saptanması beklenen kompleman proteinleri

Kompleman yolu	C1q*	C4d	C3c*
Klasik yol	+/-	+	+/-
Lektin yolu	-	+	+/-
Alternatif yol	-	-	+/-

*Komplemanın C3c ve C1q proteinleri, C4'nin sahip olduğu dokuya uzun süre bağlı kalma özelliğinden yoksundur. Dolayısıyla inflamasyon sonrası zaman geçtikçe ilgili dokuda saptanma olasılıkları azalır.

Literatürde C4d ile ilgili yayınların çoğu renal transplantasyon ile ilgilidir. Son yıllarda ise glomerülofritler ve C4d ile ilgili çalışmalar da gündeme gelmiştir. 2009 yılında yayınlanan 59 hastanın değerlendirildiği bir retrospektif kohort çalışmasında glomerüler C4d boyanması negatif olan IgA nefropatisi hastalarının 10 yıllık renal sağ kalım oranı %90.9 iken, boyanması pozitif olan hastaların renal sağ kalım oranı %43.9 olarak belirlenmiştir [10]. Bu sonuçlara göre glomerüler C4d boyanmasının negatifliğinin agresif tedaviye ihtiyacı olmayacak iyi prognozlu hastaların belirlenmesinde kullanılabileceği öne sürülmüştür. Aynı çalışma grubunun da dahil olduğu 2014 yılında yayınlanan çok merkezli retrospektif bir kohort çalışmasında bu defa 283 hasta değerlendirilmiştir [12]. Bu çalışmada da glomerüler C4d pozitifliğinin IgA nefropatisinde son dönem böbrek yetmezliği gelişimi açısından bağımsız bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir.

IgA nefropasiyle ilgili uzun süredir bir takım sınıflandırma sistemlerinin rutinde kullanımı denenmiş olsa da klinisyenler ve patologlar arasında uyum ile tekrarlanabilirlik gibi ihtiyaçların giderilmesi için 2009 yılında Oxford sınıflandırma sistemi önerilmiştir [32, 33]. Bu sınıflandırma sisteminin belirlediği dört kriterin (mezangial hipersellülarite, endokapiller hipersellülarite, segmental skleroz, interstisyel fibrozis/tübüler atrofi; bu dört kriterden oluşan skorlama sisteminin ismi her bir kriterin ilk harfi kullanılarak ‘MEST’ olarak adlandırılmış) bağımsız şekilde renal sağkalımı öngördürücü potansiyeli olduğu belirtilmiştir (Tablo 2). 2009 yılında sınıflandırma sistemi önerildikten sonra farklı coğrafyalardan bu sistemin uygulanabilirliği konusunda veriler sunulmuş ve Oxford sınıflandırma sistemi dünyaca kabul görmüştür [34, 35].

Tablo 2. IgA Nefropatisinde Oxford Sınıflandırma Sistemi

Değişken	Tanımlama	Skor
Mezangial hipersellülarite (M)	Mezangial alan başına düşen mezangial hücre sayısı: *<4 ise =0 *4-5 ise=1 *6-7 ise=2 *>8 ise=3 Mezangial hipersellülarite skoru tüm glomerüllerin ortalama skorudur	M0=0.5 ve altı M1>0.5
Endokapiller hipersellülarite (E)	Glomerüler kapiller lümeni içinde hücre artışı ve buna bağlı lümen daralması	E0=yok E1=var
Segmental skleroz (S)	Glomerüler yumağın herhangi bir kısmında skleroz olması, fakat global skleroz ile adezyon değerlendirilmemelidir.	S0=skleroz yok S1=skleroz var
İnterstisyel fibrozis Tübüler atrofi (T)	Tübüler atrofi ya da interstisyel fibrozdan ön planda olanın etkilediği kortikal doku oranı	T0=%0-25 T1=%26-50 T2>%50

*Mezengial hipersellülarite skoru PAS (Periodic acid-Schiff) ile boyalı kesitlerde değerlendirilmelidir. Glomerüllerin yarısından fazlası 3'ten fazla hücre içeriyorsa M1 olarak kategorize edilir. Dolayısıyla mezengiyal skorun hesaplanması için her zaman formal hücre sayımı gerekmebilir.

Oxford sınıflandırma sistemi'ne yapılan eleştirilerden birisi kriterler arasında ekstrakapiller proliferasyon'un (kresent) olmamasıdır. Bu nedenle gelecekte sunulacak sınıflandırma sistemine bu kriterin de eklenmesi beklenmekte ve önerilmektedir [36-38].

IgA nefropatili hastalarda C4d varlığının böbrek sağkalımı ile ilişkisini Oxford sınıflandırma sistemi kriterlerine uygun şekilde değerlendiren sadece bir çalışma bulunmaktadır [12]. Espinosa ve arkadaşlarının yaptığı bu çok merkezli retrospektif kohort çalışmasında 20 yıllık renal sağkalım oranı glomerüler C4d boyanması pozitif olan grupta %28 iken glomerüler C4d boyanması negatif olan grupta %85 olarak hesaplanmış; Oxford sınıflandırma sistemi kriterlerinden tübüler atrofi varlığının, proteinüri fazlalığının, tahmini glomerüler filtrasyon hızının düşüklüğünün ve glomerüler C4d boyanmasının son dönem böbrek yetmezliği gelişimi açısından IgA nefropatisi hastalarında bağımsız risk faktörleri olduğu saptanmıştır.

Araştırmamızda glomerüler C4d boyanması ile demografik (hasta yaşı, cinsiyet), klinik (biyopsi sırasındaki proteinüri miktarı, serum kreatinin düzeyi, kreatinin klerensi, makroskopik hematüri varlığı, hipertansiyon varlığı, immunosupresif ilaç kullanımı, renal replasman tedavisi ihtiyacı) ve histopatolojik (peritübüler kapillerler, interlobüler arterler, tübüllerde C4d boyanması; Oxford sınıflandırma sistemi kriterleri; mezangial immünglobülin birikimleri; kresent varlığı) özellikler arasındaki birlikteliği incelemeyi amaçladık. Hipotezimiz, glomerüler C4d pozitifliğinin daha olumsuz klinik ve histopatolojik bulgular ile birlikte olduğu yönündedir.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu tez çalışması, Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı alınarak gerçekleştirilmiştir (Karar No: 2013/19-09 1028-Girişimsel Olmayan Araştırmalar). Etik kurul onayı sonrası Dokuz Eylül Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne yazılı başvuru ile bütçe desteği talebinde bulunulmuştur. Hastaların böbrek biyopsilerinin boyanması, klinik verilerle ilgili geçmiş değerlendirmelerin yeniden gözden geçirilmesi ve tüm verilerin çalışma amacına uygun şekilde değerlendirilmesi konusunda DEÜTF'nin sırasıyla Nefroloji, Patoloji ve Arşiv kayıt bölümlerinin yazılı olarak izinleri alınmıştır. Çalışmaya dahil edilen hastalar DEÜTF Nefroloji Bilim Dalı glomerulonefrit polikliniği'ne davet edilip önceden alınmış olan böbrek biyopsi materyallerinden C4d boyanması ve hastalık öyküsüne ilişkin bilgilerin kullanımı yönünden kendilerinden gönüllü bilgilendirilmiş olur formu alınmıştır.

Hastalar

2003 ile 2013 yılları arasında DEÜTF Patoloji Anabilim Dalı tarafından değerlendirilen böbrek biyopsileri sonucunda IgA nefropatisi tanısı almış ve DEÜTF Nefroloji Bilim Dalı tarafından takibe alınmış olan 18 yaş ve üzeri hastalar bu araştırmaya dahil edilmiştir (Tablo3).

Tablo 3. Araştırmaya dahil edilme kriterleri

18 yaş ve üzeri
Böbrek biyopsisi yapılmış
Biyopsi incelemesi ve klinik değerlendirme sonucu IgA nefropatisi tanısı almış

Çalışmamıza Kidney Disease Improvement Global Outcome (KDIGO) 2012 kılavuzunda da belirtilen solid organ maligniteleri, karaciğer sirozu, HIV-CMV-HBV-HCV ve tüberküloz enfeksiyonları, seronegatif spondilartropatiler, lenfomalar, inflamatuvar barsak hastalıkları ve çölyak hastalığı gibi ikincil IgA nefropatisinden sorumlu tutulabilecek hastalığı olan hastalar dahil edilmemiştir (Tablo 4). Ayrıca böbrek biyopsi dokusu mezangial C4d boyanması açısından incelenebilecek yeterlilikte olmayan hastalar da çalışmadan çıkarılmıştır.

Tablo 4. Araştırmadan dışlama kriterleri

Yetersiz böbrek dokusu (3'ten az sklerotik olmayan glomerül dokusu olan hastalar)
HIV, CMV, HBV, HCV ve tüberküloz enfeksiyonları
Karaciğer sirozu
Solid organ maligniteleri
Lenfomalar
İnflamatuvar barsak hastalıkları, Çölyak hastalığı
Seronegatif spondiloartropatiler
Behçet hastalığı

Hastaların DEÜTF hasta arşivinde yer alan dosyaları demografik, klinik ve histopatolojik veriler açısından retrospektif olarak incelenmiştir (Tablo 5).

Tablo 5. Araştırmada değerlendirilen veriler

Demografik veriler Yaş Cinsiyet Takip süresi
Klinik veriler (Tanı anında ve izlemde) Hipertansiyon ($\geq 140/90$ mm Hg kan basıncı) Proteinüri (<1 g/gün ve >1 g/gün; <3.5 g/gün ve >3.5 g/gün şeklinde iki ayrı sınıflandırma) Serum kreatinin düzeyi Glomerüler filtrasyon hızı Makroskopik hematüri varlığı
Histopatolojik veriler Glomerüler C4d birikimi Tübüler C4d birikimi İnterlobüler arteriyel C4d birikimi Peritübüler kapillerlerde C4d birikimi MEST skoru Mezangial IgG ve IgM birikimi Kresent formasyonu

Çalışmaya dahil edilme kriterlerine uygun olan hastaların DEÜTF Patoloji Anabilim Dalı tarafından önceden değerlendirilmiş olan böbrek biyopsileri C4d kiti (Cell Marque ®; C4d SP91; California, ABD) ile yeniden boyanarak bu açıdan pozitif veya negatif boyanma şeklinde değerlendirilmiştir. Her hasta için renal biyopsi zamanı izlemin başlangıcı olarak kabul edilmiştir. IgA nefropatisi tanısı için renal biyopsideki histopatolojik bulgular değerlendirilmiş; ışık mikroskopisi için hematoksilen-eozin, Masson-trikrom, periyodik asit-Schiff ve methenamin gümüş boyaları kullanılırken immünofloresan analiz için IgG, IgA ve IgM ile C1q, C3, kappa ve lambda proteinlerine karşı antikorlar kullanılmıştır. İncelenen biyopsi kesitlerinde immünofloresan mikroskopide mezangiyumda IgA'dan baskın birikim durumunda IgA nefropatisi tanısı koyulmuştur.

Glomerüler C4d boyanma sonucuna göre (pozitif/negatif) hastalar gruplara ayrılmıştır. Bu gruplarda yer alacak hastalar biyopsi sırasındaki yaş, cinsiyet, hipertansiyon varlığı (kan basıncı>140/90 mmHg ya da antihipertansif kullanımı), makroskopik hematüri varlığı, proteinüri miktarı (mg/gün), serum kreatinin düzeyi, glomerüler filtrasyon hızı (MDRD formülüne göre), glomerüler C4d birikim varlığı, tübüler C4d birikim varlığı, interlobüler arterlerde C4d birikim varlığı, peritübüler kapillerlerde C4d birikim varlığı, MEST skoru, mezangial IgG ve IgM birikimi ile kresent formasyonu açısından karşılaştırılmıştır. Ayrıca C4d pozitif ve negatif olan hastalar biyopsi sonrası izlemde proteinüri miktarı, serum kreatinin düzeyi'nin iki katına çıkma süresi, tahmini glomerüler filtrasyon hızında %50 azalma görülene kadar geçen süre, renal replasman tedavisine başlama zamanı, renin-anjiyotensin sistemini (RAS) baskılayıcı ilaç kullanımı ve immün sistemi baskılayıcı ilaç kullanımı açısından değerlendirilmiştir.

C4d boyaması ve histopatolojik incelemeler

Formalin fikse parafine gömülü dokulardan hazırlanan 3 mikrometrelik kesitler Benchmarck Ultra cihazında, ultraview universal Dab detection kit kullanılarak boyandı. Ultra CCl solüsyonunda 64 dakika 95 derecede antijen retrieval yapıldı. C4d primer antikoru (Cell Morque, C4d-SP91) uygulanarak 32 dakika inkübe edildi.

* C4d immünohistokimyasal boyama sonucu negatif (0) ve pozitif (1) olarak değerlendirilmiştir.

- * Hastaların böbrek biyopsi dokularındaki glomerüllerin %25'inden fazlasının C4d ile boyanması durumunda sonuç pozitif olarak yorumlanmıştır.
- * Boyanan glomerüllerin mezangial alanlarının %50'sinden fazlasının boyanmış olması durumunda sonuç global boyanma olarak değerlendirilirken; mezangial alanların %50'sinden daha azının C4d ile boyanması segmental olarak yorumlanmıştır. Ayrıca interlobüler arterler, glomerül bazal membranı, peritübüler kapillerler ve tübüler epitel ile bazal membranı da C4d boyanması açısından değerlendirilmiştir.
- * Böbrek biyopsi örnekleri Oxford sınıflandırma sisteminde önerildiği şekilde mezangial hipersellülarite (M0/M1), endokapiller hipersellülarite (E0/E1), segmental glomerüloskleroz (S0/S1) ve interstisyel fibrozis/tübüler atrofi (T0, <%25; T1, %26-50; ve T2 >%50) kriterleri açısından incelenmiş ve değerlendirilmiştir.
- * Oxford sınıflandırma kriterlerine ek olarak ekstrakapiller proliferasyon (kresent) bulguları da incelemeye dahil edilmiştir.

İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 16.0 programı kullanılmıştır; p değerinin 0,05'den düşük saptanması durumunda söz konusu bulgular istatistiksel açıdan anlamlı olarak değerlendirilmiştir. Sayısal veri analizi için ki-kare testi ve Fisher kesin testi; ölçümle belirlenen değişken analizi için Mann-Whitney U testi ve korelasyon analizi ile değerlendirme yapılmıştır. İstatistiksel analiz yöntemlerine ilişkin planlamalar DEÜTF Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı ile görüşülerek belirlenmiş; analizler birlikte yapılmıştır.

BULGULAR

Demografik veriler

Çalışmaya dahil edilmesi planlanan 45 hastanın 8'inde Oxford sınıflandırma sisteminin ve glomerüler C4d boyanmasının değerlendirilebilmesi için yeterli miktarda doku olmadığı saptanmıştır. Çalışmaya dahil edilen 37 hastanın 11'inin kadın, 26'sının da erkek olduğu belirlenmiştir. Hastaların tanı sırasında yaş ortalaması 40,78 yıl (en küçük 20, en büyük 71 yaş) olarak saptanmıştır. Hastaların ortalama izlem süresi 24.32 ay (minimum <3 ay, maksimum 120 ay) olarak kaydedilmiştir.

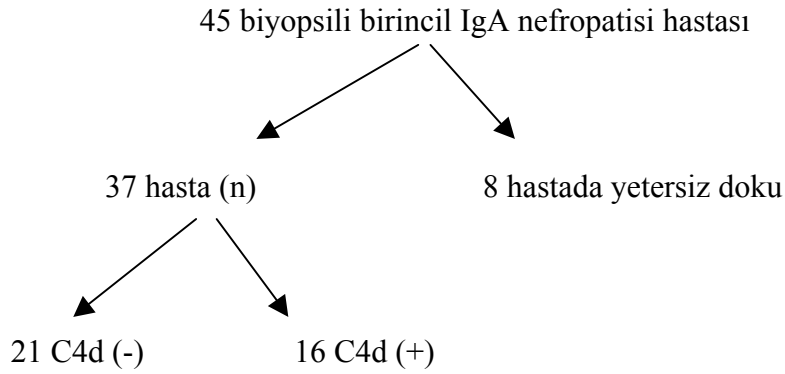
Klinik veriler

Hastalığa tanı koyulduğu sırada 17 hastada hipertansiyon olduğu görülmüştür. Makroskopik hematüri hastaların 11'inde tanımlanmıştır. Hastaların 4 tanesinde mikroskopik düzeyde dahil olmak üzere hematüri gözlenmemiştir. 8 hastada başvuru sırasında nefrotik düzeyde (>3.5 gram/gün) proteinüri saptanmıştır. Hastaların ortalama proteinüri düzeyi 946 mg/gün olduğu görülmüştür. 16 hastada 1 gram/gün altında, 21 hastada da 1 gram/gün üstünde proteinüri saptanmıştır. Tüm hastaların glomerüler filtrasyon hızı ortalaması 70.8 ml/dk (MDRD) olarak hesaplanmıştır.

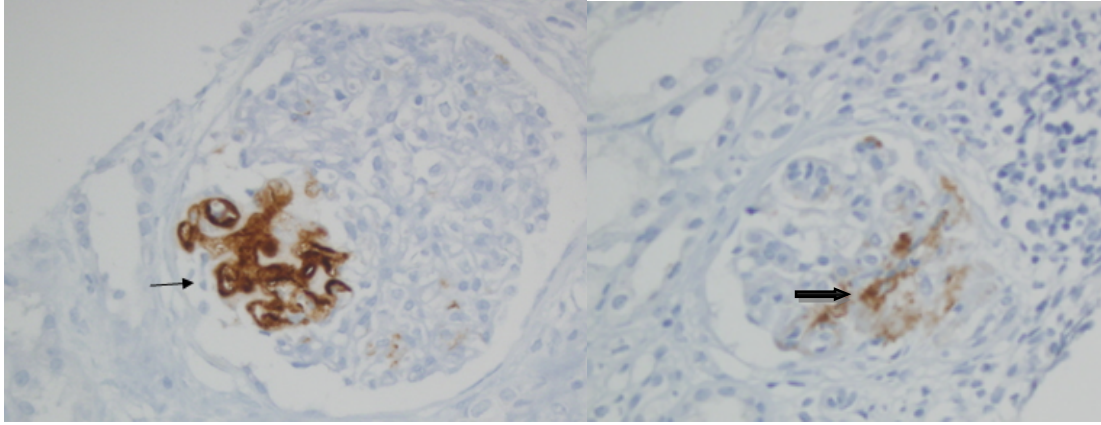
Kompleman boyanması

16 hastada glomerüler C4d boyanması pozitif ve 21 hastada ise negatif olarak rapor edilmiştir (Şekil 2). Glomerüler C4d boyanması pozitif olan 16 hastanın 4'ünde boyanma global ve 12'sinde ise segmental olarak değerlendirilmiştir. Peritübüler kapillerlerde boyanma 1 hastada saptanmıştır. 4 hastada tübüllerde C4d pozitifliği izlenmiştir. Ayrıca 8 hastada interlobüler arterlerde C4d boyanması gözlenmiştir. Hiçbir hastada mezangial C1q boyanması saptanmamıştır.

Şekil 2. Glomerüler C4d boyanması açısından genel hasta profili



Resim 1. Glomerüler C4d boyanması



A.Glomerüler C4d boyanması (ince ok). Mezangiyum'un özellikle segmental sklerotik olan bu alanında boyanma gözlenirken, geri kalan kısımda C4d boyanması görülmemektedir. B.Glomerülde skleroz olmaksızın C4d boyanması görülmektedir (kalın ok).

Histopatolojik veriler

Kresent varlığı olan hasta sayısı 12 olarak belirlenmiştir. Bunların 5 tanesinde kresent yapısı fibrotik/fibrosellüler olarak tanımlanmıştır. Oxford sınıflandırma sistemine göre değerlendirildiğinde glomerüllerin %50'sinden fazlasında mezangial proliferasyon olan (M1) 28 hasta, endokapiller hipersellülaritesi olan (E1) 17 hasta, segmental skleroz görülen (S1) 27 hasta saptanmıştır. Tübüler atrofi/interstisyel fibroz skoru T0 olan 15 hasta, T1 olan 12 hasta ve T2 olan 10 hasta olduğu belirlenmiştir.

Tedaviler

37 hastanın 35 tanesine RAS blokajı sağlayan tedavi verildiği görülmüştür. 27 hastaya immünosupresif tedavi verildiği gözlenmiştir. İmmünosupresif tedavi verilen 27 hastanın hepsi de hastalığın herhangi bir döneminde steroid tedavisi almıştır. Steroid tedavisi yanında 9 hastaya siklofosfamid 4 hastaya mikofenolat mofetil, 3 hastaya azatiyoprin verilmiş olduğu belirlenmiştir. 1 hastaya plazmaferez uygulanmıştır. Renal replasman tedavisi alan 2 hasta olduğu belirlenmiştir. Bu hastalar tanı sırasında renal replasman tedavisine ihtiyaç duymuş olup yaşamlarına kronik hemodiyaliz hastası olarak devam etmişlerdir.

I-Kompleman boyanması ile histopatolojik diğer verilerin birlikteliği

Kresent görülen 12 hastanın 6'sında glomerüler C4d pozitifliği saptanırken kresent görülmeyen 25 hastanın 10 tanesinde glomerüler C4d boyanması pozitif olarak yorumlanmıştır. Bu sonuçlara göre kresent varlığının glomerüler C4d birikimi ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkisi olmadığı saptanmıştır (Tablo 6; $p=0.0565$). Kresent yapıları fibröz ve sellüler şeklinde ayrı ayrı incelendiğinde de glomerüler C4d pozitifliği ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanamamıştır (Tablo 7 ve 8).

Tablo 6. Glomerüler C4d boyanması-kresent formasyonu birlikteliği

Glomerüler C4d	C4d negatif	C4d pozitif
Kresent		
Kresent yok (K0; n=25)	15	10
* Kresent var (K1; n=12)	6	6

* Kresent formasyonu ile glomerüler C4d pozitifliğinin birlikteliği ($p=0.565$)

Tablo 7. Glomerüler C4d boyanması-sellüler kresent (Sel. kres.) birlikteliği

Glomerüler C4d	C4d negatif	C4d pozitif
Sellüler Kresent		
Sel. kres. yok (Ks0; n=30)	19	11
* Sel. kres.var (Ks1; n=7)	2	5

* Sellüler kresent varlığı ile glomerüler C4d pozitifliğinin birlikteliği ($p=0.202$)

Tablo 8. Glomerüler C4d boyanması- fibröz kresent (Fib. kres.) birlikteliği

Glomerüler C4d	C4d negatif	C4d pozitif
Fibröz Kresent		
Fib. kres. yok (Kf0; n=32)	17	15
* Fib. kres. var (Kf1; n=5)	4	1

* Fibröz kresent varlığı ile glomerüler C4d pozitifliğinin birlikteliği (p=0.364)

Oxford sınıflandırma sistemine göre mezangial hipersellülarite skoru (M) M0 olarak değerlendirilen 9 hastanın 1 tanesinde glomerüler C4d pozitif olarak saptanırken, M skoru M1 olan 28 hastanın 15'inde glomerüler C4d pozitifliği belirlenmiştir (Tablo 9; p=0.05).

Tablo 9. Glomerüler C4d boyanması-Glomerüler hipersellülarite (Mez. hip.) birlikteliği

Glomerüler C4d	C4d negatif	C4d pozitif
Mez. hip.		
M0 (n=9)	8	1
* M1 (n=28)	13	15

* M1 skoru ile glomerüler C4d pozitifliğinin birlikteliği (p=0.0565)

Endokapiller hipersellülarite skoru E0 olarak değerlendirilen 20 hastanın 17'sinde glomerüler C4d boyanması negatif saptanmış; E1 olarak değerlendirilen 17 hastanın 13'ünde glomerüler C4d boyanması pozitif olarak belirlenmiştir. C4d pozitif olan 16 hastanın 13'ünde endokapiller hipersellülarite skoru E1 olarak saptanmıştır (Tablo 10; p<0.001).

Tablo 10. Glomerüler C4d boyanması-Endokapiller hipersellülarite (End. hip.) birlikteliği

Glomerüler C4d	C4d negatif	C4d pozitif
End. hip.		
E0 (n=20)	17	3
* E1 (n=17)	4	13

* E1 skoru ile glomerüler C4d pozitifliğinin birlikteliği (p<0.001)

Segmental skleroz skoru S0 olduğu belirlenen 10 hastanın 8'inde glomerüler C4d boyanması negatif olarak yorumlanırken glomerüler C4d pozitifliği saptanan 16 hastanın 14'ünde segmental skleroz skoru S1 olarak saptanmıştır (Tablo 11; p=0.137).

Tablo 11. Glomerüler C4d boyanması-Segmental skleroz (Segm. skler.) birlikteliği

Glomerüler C4d / Segm. skler.	C4d negatif	C4d pozitif
S0 (n=10)	8	2
*S1 (n=27)	13	14

* S1 skoru ile glomerüler C4d pozitifliğinin birlikteliği (p=0.137)

T skoru T0 olan 15 hastanın sadece 1 tanesinde, T1 skoruna sahip 12 hastanın 6'sında ve T skoru T2 olan 10 hastanın 9'unda glomerüler C4d boyanması pozitif olarak yorumlanmıştır (Tablo 12; p<0.001).

Tablo 12. Glomerüler C4d boyanması-Tübüler atrofi/İnterstisyel fibroz (IFTA) birlikteliği

Glomerüler C4d / IFTA	C4d negatif	C4d pozitif
*T0 (n=15)	14	1
^μ T1 (n=12)	6	6
^Ω T2 (n=10)	1	9

* T0 skoru ile glomerüler C4d pozitifliğinin birlikteliği (p<0.001)

^μT1 skoru ile glomerüler C4d pozitifliğinin birlikteliği (p=0.024)

^ΩT2 skoru ile glomerüler C4d pozitifliğinin birlikteliği (p<0.001)

Mezangial IgG, immünglobulin A (≥ 3 (+) birikim), kappa, lambda ve C3c (≥ 3 (+) birikim) boyanmalarının glomerüler C4d boyanması ve klinik verilerle birlikteliği Tablo 12'de gösterilmiştir. Glomerüler IgM boyanması olan 16 hastanın 11'inde C4d pozitifliği saptanırken (mezangial), C4d boyanması pozitif olan yine 16 hastanın 11'inde mezangial IgM boyanması pozitif olarak saptanmıştır (Tablo 13; p=0.006).

Tablo 13. Glomerüler C4d pozitif ve negatif gruplarda mezangial immünglobulin ve kompleman birikimleri

Glomerüler C4d	IgG	IgA $\geq$ 3(+)	IgM	C3c $\geq$ 3(+)	C1q
Pozitif (n=16)	4	6	11	7	0
Negatif (n=21)	7	9	5	2	0
p	0.723	1	0.006*	0.024 $^{\Omega}$	

* Mezangial IgM birikimi ile glomerüler C4d boyanmasının birlikteliği (p=0.006)

$^{\Omega}$ Glomerüler C3c yoğunluğu ile glomerüler C4d boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı birliktelik saptanmıştır (p=0.024)

II-Kompleman boyanması ile klinik bulgular arasındaki ilişki

Biyopsi zamanında yapılan tetkiklere göre değerlendirildiğinde glomerüler C4d boyanması pozitif olan hastalarda ortalama proteinüri miktarı 2906 mg/gün (en düşük 558, en yüksek 8380 mg/gün), negatif olan hastalarda ise 1091 (en düşük 30, en yüksek 4000 mg/gün) mg/gün olarak saptanmıştır (p=0.002). Nefrotik sendrom olduğu belirlenen 8 hastanın 7'sinde glomerüler C4d boyanması pozitif olarak belirlenmiştir. Glomerüler C4d boyanması pozitif olan 16 hastanın 7'sinde nefrotik sendrom saptanmıştır (p=0.012). Negatif grupta MDRD'ye göre glomerüler filtrasyon hızı ortalaması 95 ml/dk (en düşük 26, en yüksek 150 ml/dk) ve serum kreatinin düzeyinin ortalaması 1,248 mg/dL (en düşük 0.5, en yüksek 3.95 mg/dL) iken pozitif grupta bu değerler sırasıyla 54.87 ml/dk (en düşük 9, en yüksek 146 ml/dk) ve 2.1 mg/dL (en düşük 0.7, en yüksek 6.75 mg/dL) olarak hesaplanmıştır (p=0.023).

Tablo 14. Glomerüler C4d boyanması ile proteinüri birlikteliği

Glomerüler C4d Proteinüri	C4d negatif	C4d pozitif
<1 gram/gün (P-) (n=16)	13	3
>1 gram/gün* (P+) (n=21)	8	13

* 1 gram/gün üzerinde proteinüri varlığı ile glomerüler C4d boyanmasının birlikteliği (p=0.009)

Glomerüler C4d boyanması negatif olan hastaların yaş ortalaması 37.1 (en küçük 20, en büyük 67 yaş) iken boyanması pozitif olanlarda yaş ortalaması 45.62 (en küçük 24, en büyük 71) olarak hesaplanmıştır ($p=0.066$).

Hipertansiyonu olmayan 20 hastanın 5 tanesinde glomerüler C4d pozitifliği görülürken, bu oran 17 hipertansif hastanın 11'inde pozitif olarak saptanmıştır ($p=0.015$). Makroskopik hematürisi olmayan 26 hastanın 14'ünde glomerüler C4d pozitif iken, başvuruda makroskopik hematürisi olan 11 hastanın 2'sinde glomerüler C4d pozitif olarak yorumlanmıştır ($p=0.071$).

Glomerüler C4d boyanması ile birlikteliği saptanmış olan mezangial IgM birikimi proteinüri sınırı 1 gram olarak alındığında 1 g/gün üzerinde proteinüri ile birlikteliği gösterilememiş olsa da nefrotik sendrom açısından değerlendirildiğinde mezangial IgM birikiminin nefrotik sendrom ile birlikteliği sınırda istatistiksel anlamlılığa ulaşmıştır ($p=0.055$). Nefrotik sendromlu 8 hastanın 6'sında mezangial IgM birikimi görülmüştür. Nefrotik sendromu olmayan 29 hastanın ise 10 tanesinde mezangial IgM birikimi olduğu saptanmıştır.

III-Kompleman boyanması ile tedavi gerekliliğinin birlikteliği

RAS blokajı verilmeyen 2 hastanın glomerüler C4d boyanması negatif olarak rapor edilmiştir. Steroid almayan 10 hastanın 3 tanesinde glomerüler C4d pozitif iken, glomerüler C4d pozitif olan 16 hastanın 13'ünde steroid tedavisine ihtiyaç duyulmuştur ($p=0.461$).

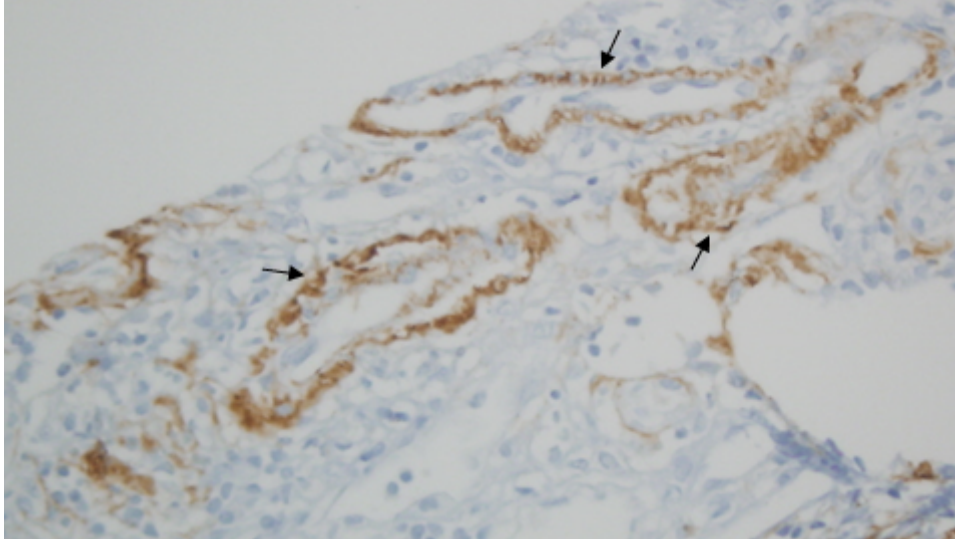
Siklofosfamid alan 9 hastanın 7'sinde glomerüler C4d boyanması pozitif saptanırken, glomerüler C4d boyanması negatif saptanan 21 hastanın 2'sinde siklofosfamid ihtiyacı olmuştur (0.024).

Glomerüler C4d boyanması ile birlikteliği saptanmış olan mezangial IgM birikimi tedavi ihtiyacı açısından değerlendirildiğinde mezangial IgM pozitif olan 16 hastanın 7'sinde siklofosfamid verildiği tespit edilirken, siklofosfamid almış olan toplam 9 hastanın 7'sinde mezangial IgM pozitifliğine rastlanmıştır ($p=0.024$).

Glomerül dışındaki bölgelerde C4d birikimi

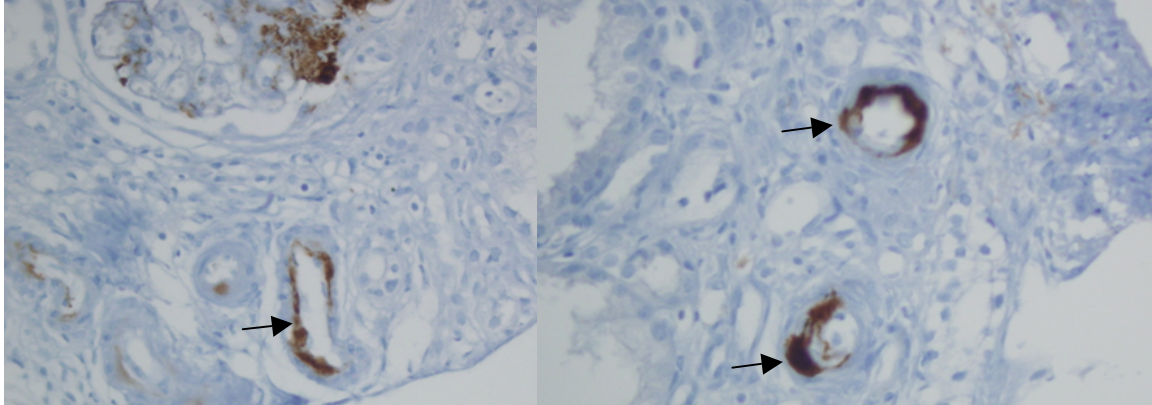
4 hastada tübüler bazal membran ve tübül epitelinde; 8 hastada interlobüler arterlerde C4d birikimi saptanmıştır. Tübüler C4d birikimi görülen olguların hepsinde de mezangial IgM birikimi görülmüştür ($p=0.028$). Tübüler birikim ile diğer demografik, klinik ve histopatolojik bulgular arasında istatistiksel olarak anlamlı birliktelik gösterilememiştir. İnterlobüler arteriyel C4d birikimi ile endokapiller hipersellülarite skoru ($p=0.014$), sellüler kresent varlığı ($p=0.027$) ve nefrotik sendrom varlığı ($p=0.049$) birliktelikleri istatistiksel anlamlılığa ulaşmıştır.

Resim 2. Tübüler C4d boyanması



Tübüler bazal membran ve tübül epitelindeki C4d boyanması (oklar)

Resim 3. İnterlobüler arterlerde C4d boyanması



İki ayrı kesitte interlobüler arterlerde C4d boyanması görülmektedir (oklar).

Tablo 15. Glomerüler C4d pozitif ve negatif hasta gruplarının tanı sırasındaki genel verileri

Değişken	Toplam (n=37)	C4d-Pozitif (n=16)	C4d-Negatif (n=21)	p değeri
Yaş				0.066
Ortalama	40.78	45.6	37.1	
Minimum	20	24	20	
Maksimum	71	71	67	
Erkek sayısı	26	12	14	uygulanabilir değil
Makroskopik Hematüri	11	2	7	0.071
Hipertansiyon (>140/90 mm Hg ya da antihipertansif kullanımı)	17	11	6	0.022 [*]
GFR (MDRD)				0.023 ^Ω
Ortalama	70.8	54.9	82.9	
Minimum	9	9	19	
Maksimum	206	146	206	
Proteinüri (mg)				0.02 ^μ
Ortalama	1847	2906	1091	
Minimum	30	558	30	
Maksimum	8380	8380	4000	
< 1 gram	16	3	13	
>1 gram	21	13	8	
Oxford Sınıf				
M0/M1	9/28	1/15	8/13	0.0565
E0/E1	20/17	3/13	17/4	<0.001 ^π
S0/S1	10/27	2/14	8/13	0.137
T0/T1/T2	15/12/10	1/6/9	14/6/1	<0.001/0.024/<0.001 ^π
Kresent varlığı	12	6	6	0.565
RAS blokajı	35	16	19	uygulanabilir değil
Kortikosteroid	27	13	14	0.461
Siklofosfamid	9	7	2	0.024
RRT				
tanı anında	2	2	0	uygulanabilir
izlemde	0	0	0	değil

* Kan basıncı yüksekliği ile glomerüler C4d pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı birliktelik saptanmıştır.

Ω Tanı sırasında glomerüler C4d boyanması olan grupta kreatinin klirensi anlamlı şekilde daha düşük saptanmıştır.

μ Tanı sırasındaki ortalama proteinüri miktarı glomerüler C4d boyanması olan hastalarda istatistiksel olarak anlamlılığa ulaşacak düzeyde daha fazladır.

π Oxford sınıflandırma sistemi kriterlerinden endokapiller hipersellülerite ile glomerüler C4d boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı birliktelik saptanmıştır. Ayrıca glomerüler C4d boyanması olan hastalarda tübüler atrofi şiddeti daha fazladır.

Tablo 16. Glomerüler C4d pozitif ve negatif hasta gruplarının izlemdeki klinik verileri

Glomerüler C4d		Pr0	Pr6	Pr12	Pr36	Kr0	Kr6	Kr12	Kr36
Negatif	Ortalama	1091,3	514,8	993,8	701,1	1,248	1,011	0,994	1,215
	n	21	16	16	9	21	19	19	9
	minimum	30	50	104	100	0,50	0,57	0,60	0,60
	maksimum	4000	2780	4000	3000	3,95	2,95	2,40	2,73
Pozitif	Ortalama	2906,0	1522,2	606,7	422,5	2,098	1,606	1,590	1,550
	n	16	12	11	4	16	14	14	4
	minimum	558	131	80	168	0,70	0,68	0,72	1,15
	maksimum	8380	5960	2241	690	6,75	6,24	5,40	1,84
Tüm hastalar	Ortalama	1847,4	946,5	836,1	615,3	1,616	1,264	1,247	1,319
	n	37	28	27	13	37	33	33	13
	minimum	30	50	80	100	0,50	0,57	0,60	0,6
	maksimum	8380	5960	4000	3000	6,75	6,24	5,40	2,73
	p	0,002	0,012	0,882	0,440	0,022	0,015	0,019	0,165

Pr0: tanı sırasındaki proteinüri miktarı (mg/gün); Pr6: altıncı aydaki proteinüri; Pr12: birinci yıl sonundaki proteinüri; Pr36: üçüncü yıl sonundaki proteinüri; Kr0: tanı sırasındaki serum kreatinin düzeyi (mg/dL); Kr6: altıncı aydaki serum kreatinin düzeyi; Kr12: birinci yıl sonundaki serum kreatinin düzeyi; Kr36: üçüncü yıl sonundaki serum kreatinin düzeyi; n: hasta sayısı.

TARTIŞMA

Araştırmamızda glomerüler C4d pozitifliğinin Oxford sınıflandırma sistemi kriterleri ile birlikteliği değerlendirildiğinde, biyopsi sırasında endokapiller hipersellülarite ve tübüler atrofi/interstisyel fibrozis dereceleri ile glomerüler C4d boyanmasının birlikteliği gösterilmiştir. Bu nedenle glomerüler C4d pozitif grubun sadece kötü klinik göstergelerle değil, aynı zamanda geçerliliği dünyaca kabul görmüş bir sınıflandırma sisteminin histopatolojik kriterleriyle de birlikteliği saptanmıştır. Biyopsi sırasındaki tübüler atrofi ve interstisyel fibrozisin renal sağkalım üzerine en güçlü öngördürücü histolojik kriter olduğu net olarak tanımlanmıştır [39]. İspanyol glomerülonefrit çalışma grubunun çok merkezli çalışmasında da tübüler atrofi skorunun T2 olması renal sağkalımı öngörme açısından bağımsız prediktif değere sahip olarak tanımlanmıştır. Araştırmamızda glomerüler C4d pozitifliği olan hastaların T2 skoru ile birlikteliği istatistiksel olarak belirgin şekilde anlamlı bulunmuştur. Tübüler atrofi skorunun T0 olması ile glomerüler C4d negatifliğinin birlikteliği de net bir şekilde gösterilmiştir. Bu da glomerüler C4d boyanmasının olumsuz renal sağkalımın bir göstergesi olduğuna dair dolaylı yoldan bir kanıt olabilir.

Daha önce bu konuda yapılan iki çalışma ile karşılaştırıldığında [10,12] hastalarımız içerisinde glomerüler C4d pozitif olanların oranı %43.2 ile benzer oranda bulunmuştur (çalışmalarda sırasıyla %32.5 ve %38.5).

Bu sonuçlarla birincil IgA nefropatili hastalarda glomerüler C4d birikiminin hastalık tanısı sırasında daha fazla proteinüri, daha düşük glomerüler filtrasyon hızı, daha yüksek histolojik evre ve daha yüksek oranda siklofosamid kullanımı ile birlikteliği de gösterilmiştir. Bu birliktelik proteinüri için izlemin 6. ayında, düşük glomerüler filtrasyon hızı için 1. yılında da istatistiksel olarak anlamlıydı. Bu olumsuz sonuçlara C4d molekülünün doğrudan bir etkisinin olup olmadığını kesin olarak kanıtlayacak bir bulgu halen bulunmamaktadır. Bu nedenle C4d molekülünün bu immün süreçte aktif rol oynamaktan çok, daha kötü klinik bulgulara yol açan süregelen immün yanıtın bir göstergesi -masum bir izleyicisi- olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamıza dahil edilen hastaların ortalama yaşı 40.78 iken mezangial C4d boyanması pozitif olarak saptanan hasta grubunun yaşı belirgin olarak daha yüksek saptanmıştır (45.6'ya karşı 37.1), yine de bu durum istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmamıştır ($p=0.066$). IgA nefropatisiyle ilgili epidemiyolojik verilerle kıyaslandığında araştırmamızdaki hasta grubunun

tanı sırasında yaş ortalamasının daha yüksek olduğu söylenebilir. Bu durum ülkeler arası tarama programlarındaki farklı yaklaşımlara bağlanabilir. Hastalığın prevalansının sık olduğu yerlerde ortalama görülme yaşının düşük olması bu hipotezi desteklemektedir.

IgA nefropatisinde hastaların %5'inden azında görüldüğü belirtilen nefrotik sendrom bu çalışma serisinde %21.7 gibi bir oranda saptanmıştır. Bu durum çalışmaya dahil edilen hastaların biyopsi sonucu ile tanısı koyulmuş IgA nefropatisi hastaları olmalarına bağlanmıştır. Nefrotik sendromun nadir görüldüğüne dair verilerin sunulduğu toplumlarda böbrek biyopsisi endikasyonlarının daha esnek olması serimizdeki nefrotik sendrom sıklığının artışı desteklemektedir. Diğer bir yandan klinik verilerin sıklığını değerlendirmek için bu çalışmaya dahil edilen hasta sayısı oldukça azdır. IgA nefropatisinde nefrotik sendrom yoğun glomerüler immün birikim ya da ekstrakapiller proliferasyon varlığına bağlanmıştır. Nefrotik sendrom olan IgA nefropatisi hastalarında bu bulguların yokluğunda IgA nefropatisine eşlik eden minimal değişiklik hastalığının olabileceği belirtilmektedir [40]. Çalışmamızda nefrotik sendrom olduğu belirlenen 8 hastanın hepsinde MEST skoru yüksek olduğundan nefrotik düzeyde proteinüriyi bu durumun açıklayacağı düşünülmüştür.

Çalışmamızın öncelikli amacı glomerüler C4d varlığının ve yoğunluğunun renal sağkalım üzerine etkisini araştırmaktır. Fakat izlemde SDBY gelişen hasta olmaması nedeniyle renal sağkalım analizi yapılamamıştır. SDBY gelişen hasta olmaması, düzenli takip ve hastaların tedaviye uyumu gibi faktörlere bağlı olabileceği gibi; IgA nefropatisinin doğal sürecinde böbrek fonksiyonlarında bozulma olduğunda bu sürecin yıllar içerisinde ortaya çıkmasına bağlı da olabilir. Tüm hasta grubunda 3 yıllık izlemde ortalama proteinüri ve glomerüler filtrasyon hızında düzelme gözlenmiştir. Bu durum da öncelikle izlem süresinin kısalığına bağlanmıştır. Diğer bir yandan hem proteinüri hem de GFR'deki düzelme glomerüler C4d boyanması pozitif olan grupta da görülmüş, hatta daha belirgin olmuştur. Bunun nedeni bu gruptaki hastaların başlangıçta daha fazla proteinüri ve daha düşük GFR'ye sahip olmaları, ayrıca daha fazla miktarda immunosupresif tedavi almış olmalarına bağlanabilir. Tanı sırasında renal replasman ihtiyacı olan 2 hastanın da glomerüler C4d pozitif gruptan olduğu gözlemlendi. Bu açıdan değerlendirme için hasta sayısı az da olsa bu bulgu da lektin yolunun olumsuz hastalık prognozuyla ilişkisini akla getirmektedir.

İspanyol glomerüler hastalıklar çalışma grubunun çok merkezli çalışmasında [12] glomerüler C4d boyanmasının herhangi bir tedavi ile istatistiksel olarak anlamlı düzeye varan bir ilişki

içinde olmadığı belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda da hastaların büyük çoğunluğu kortikosteroid tedavi almış olup glomerüler C4d pozitifliği ile kortikosteroid ihtiyacı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir birliktelik saptanmamıştır. Diğer bir yandan siklofosfamid tedavisi alan hastaların büyük çoğunluğu glomerüler C4d pozitif gruptandır ve bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Bu sonuç da siklofosfamid almış olan hastaların daha olumsuz klinik verilere sahip olmasına bağlanmıştır.

İlginç olarak kresent varlığı ile glomerüler C4d boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlılık oluşturacak düzeyde birliktelik bulunmamıştır. Sellüler kresenti olan hastalar fibröz kresenti olanlardan ayrı olarak değerlendirildiğinde de anlamlı ilişki gözlenmemiştir. Bu durum öncelikle kresenti olan hasta sayısının azlığına bağlı olabilir. Diğer bir yandan kresent formasyonu oluşumunda kompleman sisteminden çok hücrel immünitinin rolünün daha ön planda olduğu gösterilmiştir [41]. Araştırmamızda interlobüler arterlerde C4d birikimi ile sellüler kresent oluşumunun birlikteliği istatistiksel anlamlılığa ulaşmıştır. İnterlobüler arterlerde C4d boyanması ile endokapiller hipersellülerite birlikteliğinin de istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür. İnterlobüler arterlerdeki C4d boyanması, kresent formasyonunun başlangıcı için gerekli endotelyal hasarın bir göstergesi olabilir. Araştırmamızda sellüler kresent formasyonunun Oxford sınıflandırma sistemi kriterlerinden sadece endokapiller hipersellülerite ile ilişkili olarak saptanmış olması bu durumun indirekt bir kanıtı olabilir.

Çalışmamızda mezangial IgM birikimi daha yüksek oranda glomerüler C4d pozitifliği ile birlikte bulunmuş olup bu bulgunun istatistiksel olarak da anlamlı olduğu belirlenmiştir. IgM ve IgG'nin komplemanın klasik yolunu aktive ettiği çok iyi tanımlanmıştır. Lektin yolunun ise her ne kadar bakteri ve maya yapısındaki karbohidratlarla etkileşime giren serumdaki mannoz bağlayıcı lektin (MBL) yoluyla aktive olduğu bilinse de, IgM'nin de lektin yolunu aktive edebileceği bildirilmiştir [42]. Mezangial C4d pozitifliğinin çalışmamızda mezangial IgM birikimi ile birlikteliği bu durum ile açıklanabilir. Mezangial IgM birikiminin ayrıca tübüler atrofi skorunun T2 olması, endokapiller hipersellülerite skorunun E1 olması, tübüler C4d boyanması ve siklofosfamid ihtiyacı ile de birlikteliğinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu gösterilmiştir. Fakat mezangial IgM birikiminin hipertansiyon, düşük glomerüler filtrasyon hızı ve proteinüri ile birlikteliği gösterilememiştir. Olumsuz histopatolojik kriterler ve daha agresif tedavi ihtiyacı ile mezangial IgM birlikteliği IgM'nin doğrudan lektin yolunu aktive edebilme potansiyeline bağlı olabileceği gibi mezangial IgM birikimi yoğun immün depozitlerin dolaylı bir göstergesi de olabilir. Diğer bir yandan bu konu ile ilgili yapılmış

diğer çalışmalarda [10] mezangial IgM birikimi olan hastaların çok daha az sayıda olması ilginçtir. Kiryluk ve arkadaşlarının yaptığı geniş kapsamlı genom çalışmasında [43] IgA nefropatisi için tanımlanmış 7 farklı tek nükleotid polimorfizminin farklı etnik kökenler arasında farklı dağılımı olduğu net bir şekilde gösterilmiştir. Mezangial IgM birikimi ile ilgili çalışmalar arasındaki farklı sonuçlar da etnik kökenler arasında hastalıktan sorumlu farklı genlerin etkisine bağlı olabilir.

Mezangial IgA birikiminin yoğunluğunun glomerüler C4d boyanması ile birlikteliği istatistiksel anlamlılığa ulaşmazken, glomerüler C3c birikiminin yoğunluğunu glomerüler C4d boyanması ile ilişkisi gösterilmiştir. Bu bulgu da indirekt olarak lektin yolu aktive olduğunda kompleman sisteminin daha aktif olduğunu göstermektedir. Diğer bir yandan C4d molekülünün en önemli özelliklerinden birisi bulunduğu dokuya uzun süre bağlı kalması iken C3c'nin böyle bir özelliği yoktur. Dolayısıyla C3c'nin birikim yoğunluğu biyopsi yapılması ile inflamasyonun yoğun olduğu dönem arasındaki zamandan da etkilenecektir. Bu nedenle birincil IgA nefropatisi olgularında C3c'nin negatif saptanması yanıtıcı olarak değerlendirilmemelidir.

IgA nefropatisinin mezangial C4d birikimi ile birlikteliğini konu alan çalışmalarda renal transplantlarda görülen antikör aracılı rejeksiyonda olduğu gibi peritübüler kapillerlerde boyanma olmadığı belirtilmiştir. Fakat C4d molekülünün glomerül dışında, örneğin böbrek tübüler bazal membran ve tübüler epitelde birikiminin de hastalık şiddeti ile ilişkili olabileceğini düşündüren bir çalışma yayınlanmıştır [44]. Yazarlar çalışma bulgularını sadece glomerülün yapısındaki kompleman birikiminin değil, tübüler epiteldeki C4d birikiminin de daha ileri histopatolojik evre ve daha fazla proteinüri ile ilişkili olduğu şeklinde yorumlamışlardır. Farklı olarak bu çalışmada Oxford sınıflandırma sistemi değil, Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) önerdiği sınıflandırma kullanılmıştır. Bizim çalışmamızda tübüler C4d birikimi olan 4 hasta saptanmıştır. Fakat tübüler C4d birikiminin hastalığın şiddetini temsil eden klinik verilerle ve daha ileri histolojik evre ile birlikteliği istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır. Diğer bir yandan tübüler C4d birikimi olan 4 hastanın hepsinde mezangial IgM birikimi de görülmüş, bu iki bulgunun birlikteliği istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Bu açıdan bakıldığında önceden tartıştığımız mezangial IgM birikimi gerçekten eşlik eden yoğun immün depozitlerin sadece dolaylı bir göstergesi ise tübüler C4d birikimi için de aynı durum söz konusu olabilir. Yine de tübüler C4d'nin önemini araştırmak için hasta sayısının oldukça az olduğu düşünülmüştür.

Araştırmamızda ayrıca 8 hastada interlobüler arterlerde de C4d birikimi olduğu gösterilmiş ve bu birikimin Oxford sınıflandırma sistemi kriterlerinden endokapiller hipersellülarite,

sellüler kresent varlığı ve nefrotik sendrom varlığı ile birlikteliği gösterilmiştir. Glomerüler C4d varlığının kresent varlığı ile birlikteliğinin istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmadığı belirtilmiştir. Önceden belirttiğimiz üzere interlobüler arterlerdeki birikimin sellüler kresent ve daha ileri derece endokapiller hipersellülarite ile birlikteliği kresent formasyonunda farklı mekanizmaların etkili olmasına bağlanabilir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Glomerüler C4d birikimi önceki çalışmalarda da belirtildiği üzere tanı sırasında daha olumsuz histopatolojik ve klinik bulgular ile birliktedir. Mezangial IgM birikiminin mezangial C4d ile birlikteliği yeni bir bulgu olarak karşımıza çıkmaktadır. Siklofosfamid kullanan hastalarda mezangial IgM birikimine daha yüksek oranda rastlanmış olduğu düşünüldüğünde bu bulgu daha agresif tedaviye ihtiyaç olan hastalarda görülen yoğun immün birikimin dolaylı bir göstergesi olabileceği gibi, IgM'nin lektin yolu aktivasyonuna yol açabilme potansiyeli nedeniyle patogeneizde doğrudan rolünün de habercisi olabilir. IgM'nin IgA nefropatisi hastalarında lektin yolu ile birlikteliğinin doğrulanması için başka çalışmalarda da değerlendirilmesi gerekmektedir. İnterlobüler arterlerde C4d birikiminin endokapiller hipersellülarite ve sellüler kresent formasyonu ile anlamlı istatistiksel birlikteliği, kresent formasyonunun patogenezinde erken dönemde görülen endotelyal hasarı temsil eden verilerdir. Glomerül dışı alanlarda C4d birikiminin diğer verilerle karşılaştırılması için daha büyük hasta serilerine ihtiyaç vardır.

Bu konuda yapılacak çalışmalarda ikincil IgA nefropatili hastalar da çalışmalara dahil edilebilir. Bu şekilde hasta sayısının artması dışında, farklı etyolojik faktörlerin IgA nefropatisine yol açarken kompleman sistemi üzerine etkisi gözlemlenebilir. Diğer bir yandan hastaların antijenle karşılaştıkları düşünülen intestinal sistem gibi bölgelerde de kompleman ve immünglobulin boyanması incelenebilir. Üstelik bu şekilde örneğin inflamatuvar barsak hastalığının prognozu üzerine intestinal sistemdeki C4d boyanmasının etkisi de araştırılabilir. İntestinal sistemin yoğun antijenik stimülasyon olan bir bölge olması, inflamatuvar barsak hastalığı sürecinde hastalarda saptanan farklı antikorların varlığı dolayısıyla bu hastalarda komplemanın klasik yolu da aktive olabileceğinden belki de hastaların büyük çoğunluğunda C4d boyanmasına rastlanabilir. Yine de bu konudaki patogenetik süreçlerin anlaşılabilmesi için çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- [1] D'Amico G. The commonest glomerulonephritis in the world: IgA nephropathy. *Quarterly Journal of Medicine*, 1987; vol. 64, no. 245, pp. 709–27.
- [2] Galla J. H. IgA Nephropathy. *Kidney International*, 1995; vol. 47, no. 2, pp. 377–87.
- [3] Donadio JV, Grande JP. IgA nephropathy. *N Engl J Med* 2002; 347:738.
- [4] Wyatt RJ, Julian I. BA. IgA nephropathy. *N Engl J Med* 2013; 368:2402.
- [5] Barratt J, Feehally J. IgA nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16:2088.
- [6] Li PK, Ho KK, Szeto CC, Yu L ve ark. Prognostic indicators of IgA nephropathy in the Chinese—clinical and pathological perspectives. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 64–69.
- [7] Moriyama ve ark. Prognosis in IgA nephropathy: 30-Year Analysis of 1,012 Patients at a Single Center in Japan. *Plos One*, March 2014 21;9(3):e91756.
- [8] Xie J, Kiryluk K, Wang W, Wang Z ve ark. Predicting Progression of IgA Nephropathy: New Clinical Progression Risk Score. *Plos One* 2012, 7(6): e38904.
- [9] Lundberg S, Qureshi AR, Olivecrona S, Gunnarsson I ve ark. FGF23, albuminuria, and disease progression in patients with chronic IgA nephropathy. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012 May;7(5):727-34.
- [10] Espinosa M, Ortega R, G'omez-Carrasco J M, L'opez-Rubio F ve ark. Mesangial C4d deposition: a new prognostic factor in IgA nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24: 886–91.
- [11] Roos A, Rastaldi MP, Calvaresi N, Oortwijn BD ve ark. Glomerular Activation of the Lectin Pathway of Complement in IgA Nephropathy Is Associated with More Severe Renal Disease. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 1724–34.
- [12] Espinosa M ve ark. Association of C4d deposition with clinical outcomes in IgA nephropathy. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2014 May;9(5):897-904.
- [13] Suzuki H, Moldoveanu Z, Hall S. ve ark. IgA1-secreting cell lines from patients with IgA nephropathy produce aberrantly glycosylated IgA1. *Journal of Clinical Investigation*, 2008; vol. 118, no. 2, pp. 629–39.
- [14] Gharavi AG, Moldoveanu Z, Wyatt RJ ve ark. Aberrant IgA1 glycosylation is inherited in familial and sporadic IgA nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19:1008.
- [15] Lai KN. Pathogenesis of IgA nephropathy. *Nat Rev Nephrol*. 2012 Mar 20;8(5):275-83.
- [16] Kokubo T, Hiki Y, Iwase H, ve ark. Protective role of IgA1 glycans against IgA1 self-aggregation and adhesion to extracellular matrix proteins. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9:2048.

- [17] Narita I, Gejyo F. Pathogenetic significance of aberrant glycosylation of IgA1 in IgA nephropathy. *Clinical and Experimental Nephrology*, 2008; vol. 12, no. 5, pp. 332–8.
- [18] Mestecky J, Hashim O.H, Tomana M. Alterations in the IgA carbohydrate chains influence the cellular distribution of IgA1. *Contributions to Nephrology*, 1995; vol. 111, pp. 66–71.
- [19] Novak J, Tomana M, Matousovic K ve ark. IgA1-containing immune complexes in IgA nephropathy differentially affect proliferation of mesangial cells. *Kidney International*, 2005; vol. 67, no. 2, pp. 504–13.
- [20] Tomana M, Novak J, Julian B. A, Matousovic K ve ark. Circulating immune complexes in IgA nephropathy consist of IgA1 with galactose-deficient hinge region and antiglycan antibodies. *Journal of Clinical Investigation*, 1999; vol. 104, no. 1, pp. 73–81.
- [21] Pouria S, Barratt J. Secondary IgA nephropathy. *Semin Nephrol*. 2008 Jan;28(1):27-37.
- [22] Pouria S, Feehally J. Glomerular IgA deposition in liver disease. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14:2279.
- [23] Amore A, Coppo R, Roccatello D ve ark. Experimental IgA nephropathy secondary to hepatocellular injury induced by dietary deficiencies and heavy alcohol intake. *Lab Invest* 1994; 70:68.
- [24] Suzuki K, Honda K, Tanabe K, ve ark. Incidence of latent mesangial IgA deposition in renal allograft donors in Japan. *Kidney Int* 2003; 63:2286.
- [25] Matsuda M, Shikata K, Wada J, Sugimoto H ve ark. Deposition of mannan binding protein and mannan binding protein-mediated complement activation in the glomeruli of patients with IgA nephropathy. *Nephron*, 1998; 80: 408 – 13.
- [26] Endo M, Ohi H, Ohsawa I, Fujita T ve ark. Glomerular deposition of mannose-binding lectin (MBL) indicates a novel mechanism of complement activation in IgA nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13:1984 –90.
- [27] Hisano S, Matsushita M, Fujita T, Endo Y ve ark. Mesangial IgA2 deposits and lectin pathway-mediated complement activation in IgA glomerulonephritis. *Am J Kidney Dis*, 2001; 38: 1082–8.
- [28] Lhotta K, Wurzner R, Konig P. Glomerular deposition of mannose-binding lectin in human glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant*, 1999; 14: 881– 6.
- [29] Roos A, Bouwman LH, van Gijlswijk-Janssen DJ, Faber-Krol MC ve ark. Human IgA activates the complement system via the mannan-binding lectin pathway. *J Immunol*, 2001; 167: 2861–8.

- [30] Petersen SV, Thiel S, Jensen L, Steffensen R ve ark. An assay for the mannan-binding lectin pathway of complement activation. *J Immunol Methods*. 2001; 257: 107–16.
- [31] Cohen D, Colvin RB, Daha MR, Drachenberg CB ve ark. Pros and cons for C4d as a biomarker. *Kidney Int*. 2012; 81(7):628-39.
- [32] Cattran DC, Coppo R, ve ark. Working Group of the International IgA Nephropathy Network and the Renal Pathology Society, The Oxford classification of IgA nephropathy: rationale, clinico-pathological correlations, and classification. *Kidney Int* 2009; 76:534.
- [33] Roberts IS, Cook HT, ve ark. Working Group of the International IgA Nephropathy Network and the Renal Pathology Society, The Oxford classification of IgA nephropathy: pathology definitions, correlations, and reproducibility. *Kidney Int* 2009; 76:546.
- [34] Coppo R, Troyanov S ve ark. Working Group of the International IgA Nephropathy Network and the Renal Pathology Society, The Oxford IgA nephropathy clinicopathological classification is valid for children as well as adults. *Kidney Int* 2010; 77:921.
- [35] Troyanov S, Fervenza FC. Validating the Oxford Classification of IgA Nephropathy. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011; 6: 2335–6.
- [36] Rafieian-Kopaei M, Baradaran A, Nasri H, Significance of extracapillary proliferation in IgA-nephropathy patients with regard to clinical and histopathological variables. *Hippokratia* 2013, 17, 3: 258-261.
- [37] Nasri H, Mortazavi M, Ghorbani A, Shahbazian H ve ark. Oxford-MEST classification in IgA nephropathy patients: A report from Iran. *J Nephropathology*. 2012; 1(1): 31-42.
- [38] Katafuchi R, Ninomiya T, Nagata M, Mitsuiki K ve ark. Validation study of oxford classification of IgA nephropathy: the significance of extracapillary proliferation. *Clin J Am Soc Nephrol* 6: 2806–2813, December, 2011.
- [39] Roberts ISD. Pathology of IgA Nephropathy. *Nature Reviews Nephrology* 10,445–454 (2014)
- [40] Herlitz LC, Bomback AS, Stokes MB, Radhakrishnan J, D'Agati VD, Markowitz GS. IgA nephropathy with minimal change disease. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2014 Jun 6;9(6):1033-9.
- [41] Kitching AR, Holdsworth SR, Tipping PG. IFN-gamma mediates crescent formation and cell-mediated immune injury in murine glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10:752.

- [42] McMullen ME, Hart ML, Walsh MC, Buras J, Takahashi K, Stahl GL. Mannose-binding lectin binds IgM to activate the lectin complement pathway in vitro and in vivo. *Immunobiology* 2006;211:759–766.
- [43] Kiryluk ve ark. Geographic Differences in Genetic Susceptibility to IgA Nephropathy: GWAS Replication Study and Geospatial Risk Analysis. *PLoS Genet.* Jun 2012; 8(6): e1002765.
- [44] Maeng YI, Kim MK, Park JB, Cho CH, Oh HK, Sung WJ, Park KK. Glomerular and tubular C4d depositions in IgA nephropathy: relations with histopathology and with albuminuria. *Int J Clin Exp Pathol* 2013;6(5):904-910.