

**T.C.**  
**NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ**  
**MERAM TIP FAKÜLTESİ**  
**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**IGA NEFROPATİLİ HASTALARIN PROGNOZUNDA**  
**BÖBREK BİYOPSİSİNİN ROLÜ**

**DR. CEMİLE FEYZA ELBİSTAN**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**KONYA 2023**



**T.C.**  
**NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ**  
**MERAM TIP FAKÜLTESİ**  
**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**IGA NEFROPATİLİ HASTALARIN PROGNOZUNDA**  
**BÖBREK BİYOPSİSİNİN ROLÜ**

**DR. CEMİLE FEYZA ELBİSTAN**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN: PROF. DR. KÜLTİGİN TÜRKMEN**

**KONYA 2023**

## TEŞEKKÜR

Bilimsel yönü güçlü olan bu çalışmayı yapma şansını veren, bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren, tecrübesini ve zamanını paylaşmakta tereddüt etmeyen tez danışmanım sayın Prof. Dr. Kültigin TÜRKMEN 'e,

İç Hastalıkları uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlanma fırsatı bulduğum başta Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Nedim Yılmaz SELÇUK olmak üzere tüm değerli öğretim üyelerine,

Tez çalışmam boyunca bilgisini ve desteğini paylaşan Patoloji Bilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Hacı Hasan ESEN'e,

Tezimi hazırlarken destekleri ile bana her daim yardımcı olan Doç. Dr. İsmail BALOĞLU ve Uzm. Dr. Hakan ÖZER'e,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, dostluklarını benden esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Dr. Hilal YANAÇ, Dr. Seda ÇOBAN ve Dr. Halil İbrahim BAYRAKTAR' a,

Uzmanlık eğitimim süresince birlikte çalıştığım tüm değerli uzmanlarımıza ve asistan arkadaşlarıma,

Varlıklarıyla bana her zaman güç veren, yaptığım her işte emeği ve desteği olan sevgili annem, babam, kardeşlerime en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

DR. CEMİLE FEYZA ELBİSTAN

KONYA,2023

## ÖZET

### IgA Nefropatili Hastaların Prognozunda Böbrek Biyopsisinin Rolü

Dr. Cemile Feyza Elbistan, Uzmanlık Tezi, 2023, Konya

**Amaç:** Bu çalışmada, IgA nefropatisi tanısı almış hastaların biyopsi materyallerinin patogenezele ilişkisi olduğu bilinen C4d, IL-10, PDGF ve TGF- beta immunhistokimyasal boyalarıyla boyanmasının demografik, histopatolojik ve klinik verilerle beraber değerlendirildiğinde son dönem böbrek yetmezliğine ilerleyişi ve erken dönemde tedavi modalitesini belirlemede katkısının olup olmayacağı hedeflenmiştir.

**Materyal ve Metot:** Çalışmamıza 2015 Ocak ve 2022 Ocak tarihleri arasında Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Nefroloji Kliniğinde böbrek biyopsisi yapıp primer IgA nefropatisi tanısı alan 18 yaş ve üzeri 59 hasta dahil edildi. Hastaların biyopsi esnasında bakılan yaş, cinsiyet, kan grubu gibi demografik verileri ile üre (mg/dL), kreatinin (mg/dL), eGFR (50 mL/dk/1,73 m<sup>2</sup>), 24 saatlik idrarda proteinüri (mg/dL) değerleri, biyopsiden 1 yıl sonra ve sistemde bulunan en son laboratuvar değerleri karşılaştırmaya alınmıştır. C4d, IL-10, PDGF ve TGF- β immunhistokimyasal boyanması pozitif ve negatif olanlar ve tanı anındaki GFR düzeyleri, MEST-C skoru, yıllık GFR ve proteinüri değişimleri, tedavi yanıtları, 1 ve 5 yıllık süreleri içeren IgA prediction tool oranları ile ilişkisi değerlendirildi.

**Bulgular:** Çalışmaya primer IgA nefropatisi tanısı alan 59 hasta dahil edilmiştir. Hastaların 24'ü kadın, 35'i erkekti. Tüm hastaların yaş ortalaması 39.48±14,81 ve ortalama tanı yaşı 37.61±12,82 yıldır. Hipertansiyon %70 (n=41) hastada mevcut olup, başka ek hastalık yoktu. Takip edilme süreleri ortalama 42,98±23,5 aydır. Tanı anında bakılan ortalama GFR 66,61±29,7 ml/dk, kreatinin 1,43±0,8 mg/dL, proteinüri 2670±2110 mg/dL ve CRP 7,51±11,5 mg/dL olarak bulundu. 59 hastanın tümü RAS blokörü kullanmaktaydı ve %69'una (n=40) immunsupresif tedavi eklendiği görüldü. 59 hastanın patoloji bloklarının hepsi TGF-beta ile boyandı. Blokların %56'sı (n=33) C4d, %96,6'sı (n=57) PDGF ve %62,7'si (n=37) IL-10 ile boyandı. TGF-beta, PDGF ve IL-10 ile boyananlar, boyanmamın şiddetine göre numaralandırıldı. Şiddetine göre boyanan TGF-betanın %30,5'i (n=18) hafif dereceli, %45,8'i (n=27) orta dereceli, %23,7'si (n=14) ciddi dereceliydi. . PDGF ile boyananların %50,8'i (n=30) hafif dereceli, %37,3'ü (n=22) orta dereceli ve %8,5'i(n=5) ciddi dereceliydi. IL-10 ile boyananların %39'u (n=23) hafif dereceli, %20,3'ü (n=12) orta dereceli ve %3,4'ü(n=2) ciddi

dereceliydi. C4d antikoru ile boyanma, boyanın lokalizasyonu ve boyandığı lokalizasyonun boyanma yüzdesine göre değerlendirildi. Lokalizasyonlar glomerüllerde mesengial/perimesengial(m/pm) boyanma, periferel boyanma ve sklerotik glomerülerde non spesifik boyanma olarak üç bölümde gruplandı. Boyanan lokalizasyon eğer %50'nin altında boyama gösteriyorsa fokal, %50'nin üstünde boyama gösteriyorsa diffüz olarak değerlendirildi. M/pm boyaması olup glomerüllerin %50'sinden fazla boyananlar 10 blok, m/pm boyaması olup glomerüllerin %50'sinden azı boyananlar 7 bloktu. Glomerüllerin periferel %50'den fazla boyandığı blokların sayısı 7, glomerüllerin periferel %50'den az boyandığı blok sayısı ise 2 adetti. Sklerotik glomerüler segmentte non spesifik boyanması %50'den az olan 7 adet bloktu. GFR değeri 60 altında ve üstünde olan hastalar karşılaştırıldığında, GFR< 60 olan hastalarda TGF-beta ve PDGF ile boyanma şiddetinin daha yüksek olduğu bulundu (sırasıyla p=0,004, p=0,008). Ciddi boyanan TGF-beta ve PDGF boyalarının 1 yıl sonra son dönem böbrek yetmezliğine ilerleme hızı daha fazlaydı (sırasıyla p=0,002, p=0,001). GFR değeri 60 altında olan hastaların C4d ve IL-10 ile boyanma oranı, biyopsi esnasındaki GFR değeri 60 üzerinde olan gruba göre daha fazlaydı (sırasıyla p=0,002, p=0,033). C4d boyanan grupta, 1 yıllık ve 5 yıllık IgA Prediction Tool formülü ile hesaplanan SDBY'ne ilerleme oranı C4d boyanmayan gruba göre daha yüksekti (sırasıyla p=0,001, p=0,001). IL-10 boyanan grubun, 1 yıllık ve 5 yıllık IgA Prediction Tool formülü ile hesaplanan SDBY'ne ilerleme oranı IL-10 ile boyanmayan gruba göre daha yüksekti (sırasıyla p=0,001, p=0,001). Binary regresyon analizine geleneksel kriterlerden cinsiyet, tanı yaşı, tanı esnasındaki GFR ve proteinüri değerleriyle, immunhistokimyasal boyalar dahil edildi. Klinik progresyonun bağımsız ön gördürücüsü olarak IL-10 tespit edildi. IL-10 boyanan grubun, boyanmayan gruba göre 4,9 kat daha fazla tedaviye yanıtızsız olduğu saptandı (p= 0,008).

**Sonuç:** Çalışmamızda renal biyopsi preparatının IL-10 ile immunhistokimyasal boyanmasının olumsuz renal sağkalım ile ilişkili olduğu bulunmuştur. IL-10'nun IgA nefropatisinin erken dönemde prognozunu tahmin etme açısından yol göstermesi, umut vadedicidir. Ancak çalışmamızda hasta sayısı sınırlı olduğundan, daha geniş hasta popülasyonunun yer aldığı çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** IgA nefropatisi, C4d, IL-10, PDGF, TGF- $\beta$  immunhistokimyasal boya, MEST-C, IgAN prediction tool, Son dönem böbrek yetmezliği, Renal sağ kalım

## ABSTRACT

### The Role of Renal Biopsy in The Prognosis of Patients with IgA Nephropathy

Dr. Cemile Feyza Elbistan, Specialty Thesis, 2023, Konya

**Aim:** In this study, we aimed to determine whether the staining of biopsy materials of patients diagnosed with IgA nephropathy with C4d, IL-10, PDGF and TGF-beta immunohistochemical stains, which are known to be associated with pathogenesis, would contribute to the determination of progression to end-stage renal failure and early treatment modality when evaluated together with demographic, histopathological and clinical data.

**Materials and Method:** Our study included 59 patients aged 18 years and older who were diagnosed with primary IgA nephropathy after kidney biopsy at Necmettin Erbakan University Meram Medical Faculty Nephrology Clinic between January 2015 and January 2022. Demographic data of the patients such as age, gender, blood group examined during biopsy, and urea (mg/dL), creatinine (mg/dL), eGFR (50 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>), 24-hour urine proteinuria (mg/dL) values, 1 year after biopsy, and the latest laboratory values found in the system were compared. C4d, IL-10, PDGF and TGF-β immunohistochemical staining was positive and negative, and its relationship with IgA prediction tool rates including GFR levels at the time of diagnosis, MEST-C score, annual GFR and proteinuria changes, treatment responses, and 1 and 5-year periods were evaluated.

**Results:** The study included 59 patients diagnosed with primary IgA nephropathy. 24 of the patients were female and 35 were male. The mean age of all patients was 39.48±14.81 years and the mean age at diagnosis was 37.61±12.82 years. Hypertension was present in 70% (n=41) patients and there were no other comorbidities. The mean follow-up period was 42.98±23.5 months. The mean GFR at the time of diagnosis was 66.61±29.7 ml/min, creatinine 1.43±0.8 mg/dL, proteinuria 2670±2110 mg/dL and CRP 7.51±11.5 mg/dL. All 59 patients were on RAS blockers and 69% (n=40) were added immunosuppressive therapy. All pathology blocks of 59 patients were stained with TGF-beta. 56% (n=33) of the blocks were stained with C4d, 96.6% (n=57) with PDGF and 62.7% (n=37) with IL-10. Those stained with TGF-beta, PDGF and IL-10 were numbered according to the intensity of the staining. TGF-beta stained according to severity was mild in 30.5% (n=18), moderate in 45.8% (n=27), and severe in 23.7% (n=14). . Of those stained with PDGF, 50.8% (n=30) were mild, 37.3% (n=22) were moderate, and 8.5% (n=5) were severe. Of those stained with IL-10, 39% (n=23) were mild,

20.3% (n=12) were moderate, and 3.4% (n=2) were severe. Staining with C4d antibody was evaluated according to the localization of the dye and the percentage of staining of the stained localization. Localizations were grouped into three sections as mesengial/perimesengial (m/pm) staining in glomeruli, peripheral staining and non-specific staining in sclerotic glomeruli. The stained localization was considered focal if it showed less than 50% staining, and diffuse if it showed more than 50% staining. Those with M/pm staining and staining more than 50% of the glomeruli were 10 blocks, while those with m/pm staining less than 50% of the glomeruli were 7 blocks. The number of blocks with more than 50% peripheral staining of the glomeruli was 7, and the number of blocks with less than 50% peripheral staining of the glomeruli was 2. There were 7 blocks with less than 50% non-specific staining in the sclerotic glomerular segment. When patients with GFR values below and above 60 were compared, it was found that the intensity of staining with TGF-beta and PDGF was higher in patients with GFR < 60 (p=0.004, p=0.008, respectively). Severely stained TGF-beta and PDGF stains had a higher rate of progression to end-stage renal disease after 1 year (p=0.002, p=0.001, respectively). The rate of staining with C4d and IL-10 in patients with a GFR below 60 was higher than the group with a GFR above 60 at the time of biopsy (p=0.002, p=0.033, respectively). The rate of progression to ESRD, calculated with the 1-year and 5-year IgA Prediction Tool formula, was higher in the C4d-stained group than in the non-C4d-stained group (p=0.001, p=0.001, respectively). The rate of progression to ESRD, calculated with the 1-year and 5-year IgA Prediction Tool formula, was higher in the IL-10 stained group than in the IL-10 unstained group (p=0.001, p=0.001, respectively). Traditional criteria such as gender, age at diagnosis, GFR and proteinuria at diagnosis, and immunohistochemical stains were included in the binary regression analysis. IL-10 was identified as an independent predictor of clinical progression. It was determined that the IL-10 stained group was 4.9 times more unresponsive to treatment than the unstained group (p=0.008).

**Conclusions:** In our study, immunohistochemical staining of renal biopsy preparation with IL-10 was found to be associated with unfavourable renal survival. It is promising that IL-10 provides a guide to predict the prognosis of IgA nephropathy in the early period. However, since the number of patients in our study was limited, studies involving a larger patient population are needed.

**Key words:** IgA nephropathy, C4d, IL-10, PDGF, TGF- $\beta$  immunohistochemical staining, MEST-C, IgAN prediction tool, End-stage renal failure, Renal survival

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET .....	iv
ABSTRACT .....	vi
İÇİNDEKİLER.....	viii
TABLolar .....	x
RESİMLER.....	xii
KISALTMALAR.....	xiii
1.GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2.GENEL BİLGİLER .....	2
2.1.Tanım .....	2
2.2.Epidemiyoloji.....	2
2.3.Son Dönem Böbrek Yetmezliğine İlerleme Oranı.....	2
2.4.Biyopsi bulguları .....	3
2.5.Tedavi.....	3
2.6.Tedavi endikasyonu .....	3
2.7. Glomerülonefritlerin Prognoz Ölçütleri .....	4
2.8.Patofizyoloji .....	4
2.9. Oxford Sınıflaması (MEST-C Skoru) .....	6
2.10.Yetişkin IgAN Biyopsisinde Uluslararası Tahmin Aracı (International IgAN Prediction Tool at Biopsy-Adults) .....	7
2.11.C4d .....	8
2.12. IL-10 (İnterlökin-10).....	8
2.13. PDGF (Platelet-derived Growth Factor) .....	9
2.14. TGF- $\beta$ (Transforming growth factor beta).....	10

<b>3. GEREÇ VE YÖNTEMLER</b> .....	11
<b>3.1.Çalışmaya Dahil Edilen Hastalar</b> .....	11
<b>3.2.Tanı Esnasında ve İzlemede Bakılan Parametreler</b> .....	12
<b>3.3. C4d boyanması ve histopatolojik incelemeler</b> .....	12
<b>3.4. IL-10 boyanması ve histopatolojik incelemeler</b> .....	13
<b>3.5. PDGF boyanması ve histopatolojik incelemeler</b> .....	13
<b>3.6. TGF- <math>\beta</math> boyanması ve histopatolojik incelemeler</b> .....	13
<b>3.7. İstatistiksel Analiz</b> .....	14
<b>4. BULGULAR</b> .....	15
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	33
<b>6. SONUÇLAR ve ÖNERİ</b> .....	40
<b>7. KAYNAKÇA</b> .....	41

## TABLULAR

<b>Tablo 1:</b> Tanımlar ve Skorlama ile Oxford IgAN sınıflandırılması [7] .....	7
<b>Tablo 2:</b> Hastalara ait demografik, klinik ve laboratuvar özelliklerin dağılımı .....	15
<b>Tablo 3:</b> Hastaların tedavilerinin dağılımı .....	16
<b>Tablo 4:</b> Hastalara ait patoloji bloklarının güncel Oxford sınıflandırılmasına (MEST-C) göre skor dağılımı.....	16
<b>Tablo 5:</b> Patoloji bloklarının immunhistokimyasal TGF-beta boyama ile dağılımı .....	17
<b>Tablo 6:</b> Tanı anındaki GFR<60 ve GFR>60 olan hastaların TGF-beta boyamayla değerlendirilmesi.....	17
<b>Tablo 7:</b> Hastaların 1 yıllık ve 5 yıllık hesaplanan ‘IgA Prediction Tool’ değeri ile TGF-beta boyanmanın ile karşılaştırılması.....	18
<b>Tablo 8:</b> Hastaların 1 yıl sonraki ve son GFR değerinin TGF-beta boyanma ile karşılaştırılması .....	18
<b>Tablo 9:</b> Patoloji bloklarının immunhistokimyasal C4d boyama ile dağılımı .....	20
<b>Tablo 10:</b> Tanı anındaki GFR<60 ve GFR>60 olan hastaların C4d boyama ile değerlendirilmesi.....	21
<b>Tablo 11:</b> Hastaların 1 yıllık ve 5 yıllık hesaplanan ‘IgA Prediction Tool’ değeri ile C4d boyanmanın ile karşılaştırılması.....	21
<b>Tablo 12:</b> Hastaların 1 yıl sonraki ve son GFR değerinin C4d boyanma ile karşılaştırılması .....	22
<b>Tablo 13:</b> Patoloji bloklarının immunhistokimyasal PDGF boyama ile dağılımı.....	25
<b>Tablo 14:</b> Tanı anındaki GFR<60 ve GFR>60 olan hastaların PDGF boyama ile değerlendirilmesi.....	25
<b>Tablo 15:</b> Hastaların 1 yıllık ve 5 yıllık hesaplanan ‘IgA Prediction Tool’ değeri ile PDGF boyanmanın ile karşılaştırılması.....	26
<b>Tablo 16:</b> Hastaların 1 yıl sonraki ve son GFR değerinin PDGF boyanma ile karşılaştırılması .....	26
<b>Tablo 17:</b> Patoloji bloklarının immunhistokimyasal IL-10 boyama ile dağılımı.....	28
<b>Tablo 18:</b> Tanı anındaki GFR<60 ve GFR>60 olan hastaların IL-10 boyama ile değerlendirilmesi.....	28
<b>Tablo 19:</b> Hastaların 1 yıllık ve 5 yıllık hesaplanan ‘IgA Prediction Tool’ değeri ile IL-10 boyanmanın ile karşılaştırılması.....	28

<b>Tablo 20:</b> Hastaların 1 yıl sonraki ve son GFR değerinin IL-10 boyanma ile karşılaştırılması .....	29
<b>Tablo 21:</b> Klinik Yanıtın Değerlendirilmesinde Bağımsız Ön Grdrclerin Tespiti .....	31

## RESİMLER

<b>Resim 1:</b> IgAN patogenezindeki çoklu vuruş mekanizması.....	5
<b>Resim 2:</b> 100'lük büyütmede TGF-beta ile hafif derecede boyanma (1) .....	19
<b>Resim 3:</b> 100'lük büyütmede TGF-beta ile orta derecede boyanma (2) .....	19
<b>Resim 4:</b> 100'lük büyütmede TGF-beta ile şiddetli derecede boyanma (3).....	19
<b>Resim 5:</b> 100'lük büyütmede boyanmayan glomerül.....	23
<b>Resim 6:</b> 50'lik büyütmede glomerüllerin <%50 ve >%50'sini içeren mesengial/perimesengial C4d boyanması (1F/1D) .....	23
<b>Resim 7:</b> 50'lik büyütmede glomerüllerin periferal <%50 ve >%50'sini C4d boyanması (2F/2D).....	24
<b>Resim 8:</b> 50'lik ve 100'lük büyütmede sklerotik glomerüler segmentte <%50 non spesifik C4d boyanması (3F).....	24
<b>Resim 9:</b> 100'lük büyütmede PDGF ile hafif derecede boyanma (1) .....	27
<b>Resim 10:</b> 100'lük büyütmede PDGF ile orta derecede boyanma (2).....	27
<b>Resim 11:</b> 100'lük büyütmede PDGF ile şiddetli derecede boyanma (3) .....	27
<b>Resim 12:</b> 100'lük büyütmede IL-10 ile hafif derecede boyanma (1).....	30
<b>Resim 13:</b> 100'lük büyütmede IL-10 ile orta derecede boyanma (2).....	30
<b>Resim 14:</b> 100'lük büyütmede IL-10 ile şiddetli derecede boyanma (3).....	30

## KISALTMALAR

<b>IgA</b>	İmmunglobulin A
<b>IgG</b>	İmmunglobulin G
<b>IgA1</b>	İmmunglobulin A1
<b>Gd-IgA1</b>	Galaktoz eksik anormal glikozilenmiş immunglobulin A1
<b>AntiGd-IgA1-IgG</b>	Anti glikan immunglobulinA1-G antikor
<b>Gd-IgA1-IC</b>	İmmunkompleks IgA1
<b>MBL</b>	Mannoz bağlayıcı lektin
<b>MASP</b>	Mannose-associated serin protease (MBL ilişkili serin proteaz)
<b>IgAN</b>	İmmunglobulin A Nefriti ya da Nefropatisi
<b>SDBY</b>	Son dönem böbrek yetmezliği
<b>GFR</b>	Glomerular Filtration Rate (Glomerüler Filtrasyon Hızı)
<b>eGFR</b>	Estimated Glomerular Filtration Rate (Tahmini Glomerüler Filtrasyon Hızı)
<b>IL-10</b>	İnterlökin-10
<b>PDGF</b>	Platelet-derived growth factor (Trombosit kaynaklı büyüme faktörü)
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	Transforming growth factor beta (Dönüştürücü büyüme faktörü beta)
<b>KDIGO</b>	Kidney Disease Improving Global Outcomes (Böbrek Hastalıkları Küresel Sonuçların İyileştirilmesi Vakfı)
<b>TNF</b>	Tumor necrosis factor (Tümör nekroz faktörü)
<b>IL-6</b>	İnterlökin 6
<b>IgA Prediction Tool</b>	International IgAN Prediction Tool at Biopsy-Adults (Yetişkin IgAN Biyopsisinde Uluslararası Tahmin Aracı)
<b>M</b>	Mesengial hiperselülarite
<b>E</b>	Endokapiller proliferasyon

- S** Segmental Skleroz
- T** Tübüler Atrofi/ İnterstisyel fibrozis
- C** Cresent ( Kresent/hilal )
- RAS** Renin Anjiotensin Sistemi
- ACE** Angiotensin converting enzyme (anjiotensin dönüştürücü enzim)
- IFN- $\gamma$**  İnterferon gama
- Breg** B regülatuar
- Treg** T regülatuar
- Th, Th1, Th2** T helper, T helper1, T helper2
- TIM-1+ B reg** T hücre Immunglobulin ve musin domain protein 1 B regülatuar hücre

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

IgA nefropatisi, 1968 yılında Jean Berger tarafından tanımlanmış olup, dünyadaki en yaygın primer glomerülonefrittir. Renal biyopsi ile tanı konulan hastalığın klinik prezantasyonunun asemptomatik bulgulardan renal replasman tedavisi alacak kadar geniş olması, patogenezinin net bilinmemesi, yaygın bir demografik dağılım göstermesi hastalık hakkında çok fazla araştırma yapılmasını gerekli kılmaktadır. Hastalığın son dönem böbrek yetmezliğine ilerleme hızı tanıdan 5 yıl sonra %5-15 ya da 20 yıl sonra %10-50 oranında görülebilmektedir [1].

Patojenik IgA1 sentezinden başlayan çok vuruşlu patogeneizde, antiglikan antikorlarla birleşen patojenik IgA1'lerin meydana getirdiği immun kompleks yapıların mezengiumda birikmesiyle kompleman sistemi aktivasyonu, çeşitli profibrotik büyüme faktörleri ve inflamatuvar sitokinlerin salınımı gerçekleşir. Sonunda renal doku hasarı oluşur. Çok vuruşlu patogenezi, otoimmün disregülasyona sebep olacak hangi genetik, demografik ve çevresel etkenin tetiklediği bilinmemektedir [2].

Biyopsiyle IgA nefropatisi (IgAN) tanısının MEST-C histolojik skorlama sistemiyle doğrulanmasının ardından, hastalığın prognozunun değerlendirilmesi esastır. Calculate by QxMD'de bulunan Uluslararası IgAN Tahmin Aracı da prognozu tahmin etmede önemli bir formüldür. Fakat ne bu hesaplayıcının ne MEST-C skorunun şu anda herhangi bir tedavi yaklaşımını belirleme gücü yoktur. IgA nefropatili hastaların prognozlarını öngörmek ve tedavi kararlarını iyileştirmek için kişiselleştirilmiş bir yaklaşıma ihtiyaç vardır [2] [3]

IgA nefropatili hastaların son dönem böbrek yetmezliğine gidişini erken tespit edebilirsek uygun medikal tedaviyle renal replasman tedavi ihtiyacını ve mortaliteyi en az orana indirebiliriz. Bu sebeple, tanı için kullandığımız böbrek biyopsi preparatlarını, hastalığın patogeneziyle güçlü ilişkisi olan spesifik C4d, IL-10, PDGF ve TGF-beta immunhistokimyasal boyalarıyla boyamanın bize fayda sunmasını amaçladık.

## **2.GENEL BİLGİLER**

### **2.1.Tanım**

Klinik olarak asemptomatik bulgulardan, hızlı ilerleyici glomerülonefrit ya da son dönem böbrek yetmezliğine kadar geniş bir aralıkta takip edilen, 50 yıl önce tanımlanmış olmasına rağmen hangi mekanizmanın otonomik immün disregülasyon yaptığı bilinmeyen ve patogenezi çoklu vuruş hipotezine dayandırılan, hala tedavisi terapötik olarak yapılamayan dünyada en sık görülen primer glomerülonefrittir [4]

### **2.2.Epidemiyoloji**

Hastalığın tanısı böbrek biyopsisi ile konulduğundan ülkelerde uygulanan sağlık politikalarının farklılığı hastalığın prevalansını değiştirmektedir. Gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerde, hematürisi ve hafif proteinürisi olan hastalara böbrek biyopsisi yapılmayabilir. Bu durum hastalığın az görülme insidansına sahip olduğunu değil aksine tanı koymadaki yetersizliği gösterir. IgAN Afrika kökenli insanlarda nadirdir fakat çoğu Afrikalı bireyin sağlık hizmetlerine ulaşımını, semptomlarına yönelik tahlil ve böbrek biyopsisi yaptırma imkanının zorluğunu göz önünde bulundurmak gerekir. Tek merkezli yerel bölgelerde bulunan böbrek biyopsi sonuçlarının dahil olmaması da prevalansta farklılığa sebep olur.

Avrupa ve Asya ülkelerinde çocukluk çağından itibaren yapılan rutin taramadaki idrar tahlilinde tespit edilen proteinüri, hematüri erken tanı için fark yaratır. IgA nefropatisi gelişmiş Asya ülkelerinde %40-50, Avrupa ülkelerinde %20-30 ve Amerika Birleşik Devletleri'nde %10-20 oranında görülmektedir. Genç erişkin ve çocuklarda görülme sıklığı yaşlılara göre fazladır ve erkek cinsiyetin baskınlığı mevcuttur [5] [6].

### **2.3.Son Dönem Böbrek Yetmezliğine İlerleme Oranı**

Son dönem böbrek yetmezliğine (SDBY) ilerleme hızı, tanı anında eGFR düşüklüğünün, hipertansiyonunun, orta şiddetle proteinürinin ve persistan hematürinin olmasıyla artar. Tanı konulduktan sonra 20-30 yıl içerisinde SDBY ilerleme oranı yaklaşık %30-40 kadardır [5].

## **2.4.Biyopsi bulguları**

IgA nefropatisinin temel patolojik bulgularında mezangial alanda diffüz dominant ya da kodominant IgA birikimi vardır. Bazı çalışmalar subendotelyal kapiller alanda IgA ve IgG bulunduğunu da göstermiştir [7].

Periyodik Asit-Schiff boyası ile boyanan biyopsi preparatlarına ışık mikroskopisi ile baktığımızda mezangial alanda hiperselülarite, segmental glomerülosklerozis, endokapiller proliferasyon, glomerüler kresent, tübüler atrofi ve interstisyel fibrozis görürüz. Mezangial, paramezangial, glomerüler bazal membranların subepitelyal ve subendotelyal bölgelerine immunfloresan mikroskopla baktığımızda ise IgA, IgG, C3 ve immun komplekslerin biriktiğini görmekteyiz [4].

## **2.5.Tedavi**

2021 KDIGO glomerüler hastalık yönetimi rehberinde, birinci basamak IgAN hastalarının tedavisinde, RAS (renin anjiotensin sistemi) blokörü kullanımı, kardiyovasküler hastalık riskini azaltıcı tavsiyeler özellikle hipertansiyonun kontrol altına alınması, sigaranın bırakılması, sağlıklı beslenme, yaşa uygun egzersiz ve kilo kontrolü önerilmektedir. Beslenmede sodyum kısıtlaması dışında yapılan bir değişikliğin faydası gösterilememiştir.

Tahmini SDBY ilerleyişi hızlı olan IgAN hastalarında sodyum-glukoz ko-transporter(SGLT-2) inhibitörleri, sparsentan, hidroksiklorokin, rapamisin, rituksimab, kompleman inhibitörleri gibi bir takım yeni tedaviler araştırılmaktadır.

## **2.6.Tedavi endikasyonu**

0.5 g/gün üzerinde proteinüri olması halinde hastaya hipertansiyondan bağımsız RAS blokörü başlanmalıdır. En az 3 aylık tedaviye rağmen proteinüri 0,75-1 g/gün üzerinde seyretmeye devam ederse, o zaman hastanın son dönem böbrek hastalığına (SDBH) ilerleme riski yüksektir ve tercihen 6 aylık steroid tedavisi ya da uygun immunsupresif ajanlar hastanın durumu gözetilerek başlanabilir.

IgAN hastalarında glukokortikoid ve seçilen vakalarda siklofosfamid hariç, diğer immunsupresif ajanların (azatiopurin, kalsinörin inhibitörleri, rituksimab) kullanılması

önerilmemektedir. Asya kökenli olmayan hastalarda mikofenolat mofetil kullanımı tavsiye edilmezken, Japon hastalarda tonsillektominin faydası görülmüştür. eGFR <50 ml/dak/1.73 m<sup>2</sup> olan hastalarda ilaç yan etkisi düşünülerek immunsupresyon uygulamak için dikkatli olunmalıdır [3].

## 2.7. Glomerülonefritlerin Prognoz Ölçütleri

KDIGO'da glomerülonefritlerin tedavi etkinliğini değerlendiren kabul görmüş prognoz ölçütleri belirlenmiştir. Proteinürinin 300 mg/24 saat altına düşmesi tam remisyondur. Kısmi ya da parsiyel remisyon, proteinüri miktarının 0,3-3,5 gr/24 saat aralığında proteinürinin %50'den fazla azalması ve glomerüler filtrasyon hızının stabil seyretmesidir. Bu kriterlerin dışında kalanlar ise yanıtız olarak değerlendirilmiştir [3].

## 2.8. Patofizyoloji

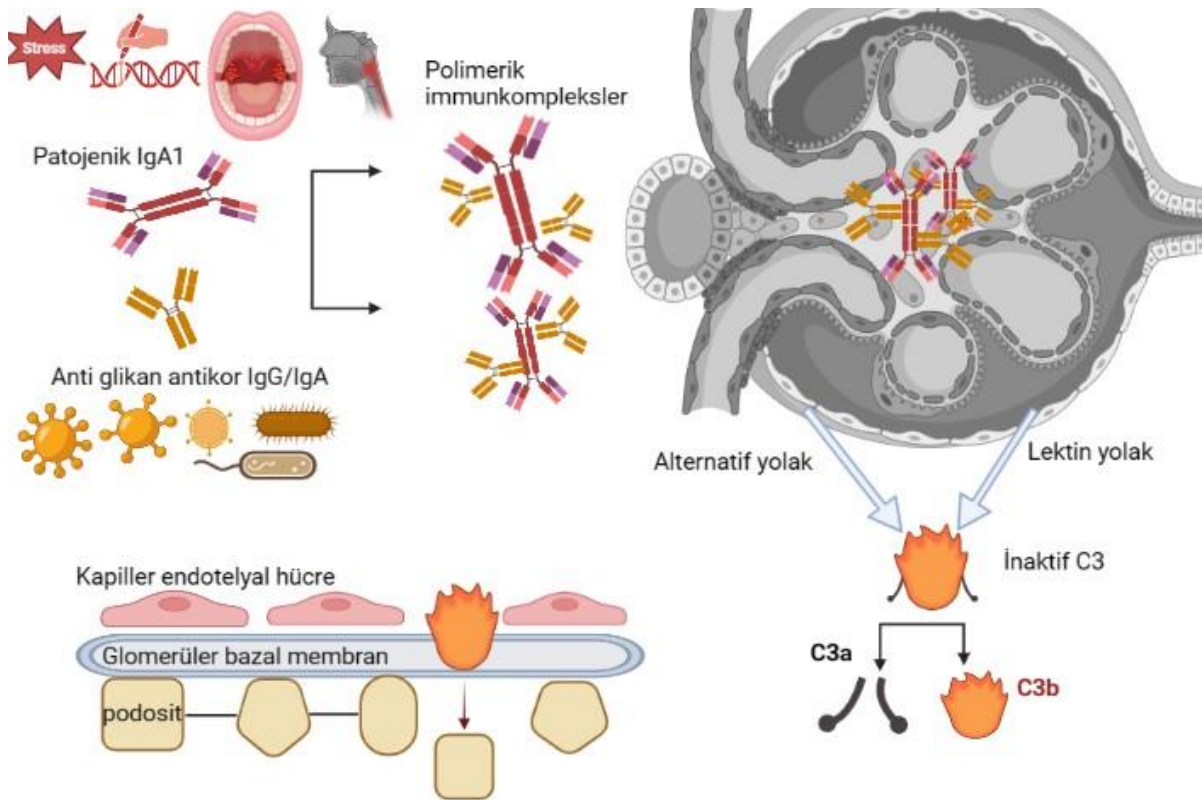
Araştırmalardan elde edilen verilerle, IgAN patogeneğinde sürekli geliştirilen 'multi-hit' hipotezi öne sürülmektedir. Genom düzeyinde yapılan klinik çalışmalarda, genetik varyantların kompleman sistemini etkileyerek otoimmün bir etkiye sebep olduğu düşünülmektedir.

5 adet immunglobulin sınıfının %15'ini IgA oluşturur. IgA hem monomerik hem dimerik yapıda olabilir. IgA1 ve IgA2 olmak üzere iki alt tipi vardır. Monomerik yapıdaki IgA1, hücrelere ve komplemana bağlanmayı sağlayan (Fc) ve antijen tanıyan (Fab) bölgelerini birleştiren gevşek yapıdaki N ve O glikanlarını içerir. IgAN' de **birinci vuruş**, IgA1'in bağlayıcı bölgesindeki O glikanın galaktoz eksikliği sonucu anormal glikolizasyonu ile patojenik IgA1 (Gd-IgA1) oluşmasıdır. Patojenik IgA1, mukozal veya üst solunum yolu enfeksiyonu ile aktive olan B lenfositlerden salınır. **İkinci vuruş**, sık geçirilen viral ve bakteriyel enfeksiyonların yarattığı immun disregülasyon ile Gd-IgA1'e bağlanacak olan IgA veya IgG yapısındaki spesifik anti glikan antikörlerin (antiGd-IgA1-IgG) üretilmesidir. **Üçüncü vuruş**, Gd-IgA1 ve antiGd-IgA1-IgG birbirine bağlanarak immun komplekslerin (Gd-IgA1-IC) meydana gelmesidir. Son olarak bu immun kompleksler glomerüler mezengial hücrelerde birikerek profibrotik, proinflamatuvar sitokinleri, büyüme faktörlerini, reaktif oksijen radikallerini, ekstraselüler matriks bileşenlerinin üretimini ve kompleman aktivasyonunu uyarır. Birçok kaskadın uyarılmasıyla beraber anlaşılammış humoral 'çapraz yolla' sinyaller podosit ve proksimal tübül hücrelerinde hasar oluşturur. Podositlerin hasarlanmasıyla

glomerüler bazal membran bariyerininin bütünlüğü bozulur, Gd-IgA1-IC'ler Bowman aralığına geçerek glomerüloskleroz yapar. Proksimal tübül hücrelerindeki hasar ise tübüler atrofi ve interstisyel fibrosise neden olur.

Mezengial hücrelerden salınan TNF, IL-6, TGF- $\beta$  ve anjiyotensin II glomerüler bazal membran sürekliliği bozan ve tübülointerstisyel hasar yapan önemli mediatörlerdir.

Vuruş mekanizmasının temel özelliği birinci vuruşta oluşan Gd-IgA1'in direkt patojenik olmamasıdır. Hastalık ikinci ve üçüncü vuruşun gerçekleşmesi ile ortaya çıkar. Çoklu vuruş, IgaN biyopsisindeki MEST skorunu ve klinik prezentasyonunu açıklayan en kabul görmüş mekanizmadır. Renal transplant sonrası IgA nefropatisinin nüks etmesinin sebebi de mezengiumdaki sürecin öncesinde sistemik immunkompleks yapıların oluşmasının tetiklenmesidir [6] [8].



**Resim 1:** IgAN patogenezindeki çoklu vuruş mekanizması

## 2.9. Oxford Sınıflaması (MEST-C Skoru)

Işık mikroskopundaki özelliklerin derecelendirilmesini standartlaştırmak için uluslararası bir panelde nefrologlar ve nefropatologlar Oxford IgA nefropatisi sınıflamasını geliştirmiştir [9]. Bu sınıflamada biyopsi materyalinde en az 8 glomerül bulunmalı, diffüz ve fokal glomerüloskleroz, endokapiller proliferasyon selüler/fibroselüler kresent ve nekroz içeren glomerüller belirtilmelidir. IgAN için Oxford sınıflamasının 2016 yılı en son versiyonunda patolojik lezyonlar arasına kresent oluşumu da eklenmiştir. Her bulgunun baş harfi skora yazılmıştır. M: mezangial hipersellülarite, E: endokapiller proliferasyon, S: segmental glomerüloskleroz, T: interstisyel fibroz/tübüler atrofi ve C: hücresel ve fibroselüler hilalleri ifade eder.

Bulguların yüzdeler tutulumları, varlığı ya da yokluğuna göre yanına numara yazılarak raporda belirtilir. Örneğin M0E1S1T0C0, glomerüllerin <50'sinde mesangial hipersellülarite (M0), endokapiller proliferasyon var (E1), segmental skleroz var (S1), tübüler atrofi ve interstisyel fibrozisin %0-25 aralığında (T0) ve kresent oluşumu yok (C0) şeklinde ifade edilir. [7].

**Tablo 1:** Tanımlar ve Skorlama ile Oxford IgAN sınıflandırılması [7]

<b>MEST-C</b>	<b>Belirlenen Skor</b>
<b>M:</b> Mesengial Hiperselülarite	<b>M0:</b> Glomerüllerin <%50 mesengial hiperselülarite <b>M1:</b> Glomerüllerin >%50 mesengial hiperselülarite
<b>E:</b> Endokapiller Proliferasyon	<b>E0:</b> Yok <b>E1:</b> Var
<b>S:</b> Segmental Skleroz	<b>S0:</b> Yok <b>S1:</b> Var
<b>T:</b> Tübüler Atrofi ve İnterstisyel Fibrozis	<b>T0:</b> %0-25 <b>T1:</b> %26-50 <b>T2:</b> >%50
<b>C:</b> Hücresel/Fibroselüler Hilal Oluşumu	<b>C0:</b> Yok <b>C1:</b> En az bir glomerülde, <%25 <b>C2:</b> Glomerüllerin > %25

### **2.10.Yetişkin IgAN Biyopsisinde Uluslararası Tahmin Aracı (International IgAN Prediction Tool at Biopsy-Adults)**

Klinik uygulamada kolayca kullanılabilen, biyopsi ile kanıtlanmış idiopatik IgAN tanılı çok uluslu 2781 hastanın eGFR de %50 düşüş veya SDBY riskini tahmin etmek için oluşturulmuş hesaplamadır.

Mobil uygulama veya web tabanlı erişimi olan hesaplayıcı, yaş, ırk, biyopsi esnasında ya da hemen öncesinde bakılan eGFR, proteinüri miktarı, diyastolik ve sistolik tansiyon ölçümleri, MEST skoru ile ACE (anjiotensin dönüştürücü enzim) inhibitörü, ARB ve immunsupresif ilaç kullanıp kullanmadığının bilgisini içermektedir. [10]

## 2.11. C4d

Multi-hit hipotezinde açıkladığımız basamakların herhangi birinde kompleman aktivasyonu olabilir. Gd-IgA1, Gd-IgA1-IC veya Gd-IgA1-IC'nin yerleştiği glomerüler mezengium alanından alternatif ve lektin yolak aktivasyonunu başlatan sinyaller gönderilebilir.

**Lektin yolu** 6 adet tanıma paterni içerir, bunlar mannoz bağlayıcı lektin (MBL) ve MBL-ilişkili serin proteaz (MASP 1-2)lar ile patojenleri tanır. MASP-1 ve MASP-2, C2 ve C4 ü parçalar. Oluşan C4dC2a molekülü C3'ü C3b ve C3a'ya ayırır. Oluşan C4dC2a molekülünün **C4d parçası lektin yolağında uzun süre aktif halde kalır.**

**Alternatif yol**, Faktör D ve Faktör B ile C3'ün sürekli bölünmesini sağlayan 'tick-over' (sürekli minimum düzeyde çalışma) mekanizmasıyla C3b üretir.

Alternatif yol ve lektin yol sonucunda oluşan C3b opsonin olup glomerüler bazal membrana bağlanarak doku hasarı meydana getirir.

İki yolak arasındaki etkileşimi sağlayan MASP-3'ün keşfi, IgAN patogenezinde her iki yolağın aktivitesinin rolünü daha iyi anlamamıza yardımcı olmuştur. MASP-3, pro Faktör D'yi Faktör D' ye dönüştürerek alternatif yolu aktive eder. Hem lektin hem alternatif yolak sürekli etkileşim ile kompleman sistemini aktif tutar.

Faktör H ise kompleman sisteminde ana düzenleyici rol oynar, C3b'yi inaktive C3b'ye çevirerek C3b'nin podositlerde hasar oluşturmasını engeller. Faktör H'ı kodlayan gen lokusu eksik olan bireylerde hastalığın daha şiddetli seyir gösterdiği tespit edilmiştir. [11].

Kompleman sistemlerinin aktivasyonu inflamatuvar kaskadı tetiklediğinden hastalığıdaki doku hasarının şiddetinin artmasına sebep olur.

Normal IgA1 ile etkileşime girmeyen MBL'nin hangi mekanizma ile Gd-IgA1 ile etkileşime girdiği bilinmemektedir Çalışmalar, biyopsilerin %25-30'unda lektin yolakla aktive olan C4d birikimlerinin ileri derecede böbrek hasarı ile ilişkili olduğu bulmuştur [12]

## 2.12. IL-10 (İnterlökin-10)

Th1 (T helper 1) ve Th2 (T helper 2) olarak ayrılan Th (T helper) hücrelerinden, Th1 esas olarak hücreli bağışıklıktan sorumlu IL-2 ve IFN- $\gamma$  (interferon gama) salgılar. Th2 ise IL-10 ve IL-4 salgılar. IL-10 çift yönlü immun regülatuar ve anti inflamatuvardır. IL-10, pro inflamatuvar mediatörlerden IL-6, IL-8, TNF alfa sitokinlerini inhibe eder. İnterlökinler

glomerüler mezengial hücrelerin proliferasyonunda etkilidir. IgAN patogenezinde, proinflamatuvar Th1 ve Th17 yanıtlarının anti- inflamatuvar Th2 ve Treg hücrelerini uyardığını, bu uyarıların yolakta ilerleyerek geri bildirim ile akışı düzenlediğini gösteren veriler elde edilmiştir ve bazı çalışmalarda, IgAN hastalarının serum IL-10 düzeyinin yükseldiği saptanmıştır [13], [14].

B hücrelerinin primer görevi, antijene özgü İmmunglobulin(Ig) üretmektir. Saf B hücreleri izotip değiştirme yaparak immunglobulinlerin işlevini değiştirir. Başlangıçta IgM ve IgD salgılayan naif B hücreleri, diğer izotipler IgA,IgE ve IgG'yi de salgılayabilir. İzotip değişimi, CD4 T hücreler, foliküler dentritik hücreler(DC) ve DCler arasındaki etkileşime sekonder indüklenir ve B hücresi popülasyonu farklılaşır ve alt türlere ayrılır. CD19 B hücreleri inaktif olgunlaşmamış B hücreleridir. CD19 B hücre alt kümesinde yer alan Breg (B regülatuar) hücreler IL-10 ve TGF-beta üretiminden sorumludur. IgAN başlangıcı ve ilerlemesine B hücre aktivasyonunun, çeşitli B hücre fenotiplerinin katkı sağladığı ve bunla ilişkili IL-10 seviyelerinin arttığı gösterilmiştir [15].

### **2.13. PDGF (Platelet-derived Growth Factor)**

Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), dimerik bir glikoproteindir. PDGF-AA, -AB, -BB, -CC ve -DD olmak üzere beş ligand, tirozin kinaz reseptörü olan trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörüne (PDGFR) bağlanır. PDGFR'nin iki alt tipi vardır. PDGFR-alfa ve PDGRF- beta. Etkileşime giren ligand ve reseptör dimerizasyona uğrayarak, hücre içi tirozin kinaz yollarını, fosforilasyonu, gen ekspresyonunu aktive eder.

Gd-IgA1-IC'ler yerleşmiş olduğu mezengial alandan profibrotik, proinflamatuvar sitokinleri, büyüme faktörlerini ve kompleman aktivasyonunu uyarır. Mezengial hücrelerin ekspresyonu, glomerüler PDGF'ler tarafından düzenlenir.

IgAN'deki proliferatif glomerüler değişikliklerin derecesi, PDGF-AB, -BB, PDGFR-beta over ekspresyonu ile ilişkili bulunmuştur fakat mekanizması tam aydınlatılamamıştır [16].

## 2.14. TGF- $\beta$ (Transforming growth factor beta)

IgAN kronik indolen seyirli bir glomerülonefrit olmasına rağmen, hastaların yaklaşık %50 si SDBY'ne gider. SDBY'i patogenezinde en sık gözlenen yol renal fibrozistir. Son yıllarda makrofajların, makrofaj apoptoz inhibitörünün (AIM) ve TGF- $\beta$ 1' in renal fibrozisteki önemi kanıtlanmıştır. M0, M1 ve M2 olmak üzere makrofajlar alt tiplere ayrılır. M1 makrofajlar Th1 (T helper 1) hücrelerini uyararak IL-12, IL-6, TNF- $\alpha$  gibi mediatörlerin salınmasıyla doku fibrozisine yol açar. IgAN'nin renal fibrozisinde hangi makrofaj tipinin baskın olduğu bilinmemektedir. TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$  ailesinin bir üyesi olup tübüler epitelyal miyofibroblast farklılaşmasını (TEMT) düzenleyen sitokindir ve renal interstisyel fibrozis gelişmesine katkıda bulunur. Renal fibrozis, 4 aşamada gerçekleşir. Birinci aşama, enflamasyon sebebiyle makrofajların infiltrasyonu ve renal tübüler epitel hücrelerinin aktivasyonudur. İkinci aşama, profibrinojenik faktör, büyüme faktörleri ve sitokinlerin salınımıdır. Üçüncü aşama, esas olarak matriks proteinlerinin birikimiyle fibrozis oluşumudur. Son olarak ekstraselüler matriksin birikimi ile nefron kaybı artar ve glomerüler filtrasyon hızında azalma olur [17].

### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu tez çalışması için Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 18 Mart 2022 tarih ve 2022/3710 sayılı etik kurul onayı alınmıştır. Etik kurul izni sonrasında Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine başvurularak bütçe desteği talebinde bulunulmuştur. 221518021 proje numarası ve 01.06.22 tarihli 84463016/226 görevlendirme numarası ile kabul edilmiştir. Çalışmamıza 01.01.2015- 01.01.2022 tarihleri arasında Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Nefroloji Kliniğinde renal biyopsi yapıp IgA nefropatisi tanısı alan 59 hasta dahil edildi. Arşivdeki böbrek biyopsi preparatlarının boyanması ile elde edilecek verilerin amacına uygun şekilde kullanılacağına dair arşiv kayıt ve Patoloji bölümlerinden yazılı izin alınmıştır. Dahil edilen hastalar tekrar nefroloji polikliniğine çağırıldı. Hastane otomasyon sisteminden veya E-Nabızdan hastalıkla ilgili elde edilmiş mevcut bilgilerinin kullanılması ve böbrek biyopsilerinin C4d, TGF-  $\beta$ , PDGF, IL-10 boyanması hakkında açıklama yapıp gönüllü bilgilendirilmiş olur formu alınmıştır.

#### 3.1.Çalışmaya Dahil Edilen Hastalar

2015-2022 yılları arasında NEÜTF Nefroloji Bilim Dalı tarafından uygun tıbbi endikasyonla böbrek biyopsisi yapıp, patoloji bölümünün değerlendirmesiyle IgA nefropatisi tanısı alan 18 yaş ve üzeri hastalar bu araştırmaya dahil edilmiştir. Böbrek biyopsi dokusu yeterli olmayan hastalar ile lenfoma, lupus nefriti, solid organ maligniteleri, çölyak, tüberküloz enfeksiyonu, karaciğer sirozu, hepatit B, C, HIV, CMV enfeksiyonu, seronegatif spondiloartropati, inflamatuvar barsak hastalığı gibi sekonder IgA nefropatisinden sorumlu olabilecek hastalıkları olanlar dahil edilmemiştir.

Dışlama tanısı yapıp çalışmaya dahil edilen 59 hastaya ait parafin bloklar arşivden çıkarılmıştır. Bu hastalara ait blokların tanısı doğrulanmış olup Masson trikrom, Periyodik Asit-Schiff, metanamin gümüş boyası, Hematoksilen-eozin boya ve immunfloresan tespit için IgA, IgG, IgM, C3 ve C1q antikoru ile boyanmıştı. Her doku parçasında en az 5 glomerül mevcuttu. Histolojik bulgular güncellenmiş 2016 Oxford sınıflamasına (MEST-C) göre tekrar değerlendirildi. Bu bloklardan patoloji teknisyenleri pozitif şarjlı lamlara 3 mikron kalınlığında kesitler aldı. Alınan bu kesitler immunhistokimyasal C4d antikoru, TGF-  $\beta$ , PDGF ve IL-10 uygulanmak üzere immunhistokimyasal otomatik boyama Dako Omnis cihazına yerleştirildi.

Boyama işlemi tamamlanan preparatlar deneyimli bir patolog tarafından verilerden bağımsız olarak ışık mikroskobu Olympus BX53 ile değerlendirilmiştir.

### **3.2.Tanı Esnasında ve İzlemede Bakılan Parametreler**

Renal biyopsi tanı başlangıcı olarak belirlenip, biyopsi esnasında hastaların cinsiyeti, yaşı, kan grubu, vücut kütle indeksleri (VKİ), üre (mg/dL), kan kreatinin(mg/dl), eGFR (ml/dk/1,73 m<sup>2</sup>), 24 saatlik idrarda proteinüri (mg/gün), sigara kullanıp kullanmaması, tam idrar tahlilinde mikroskopik hematürisi, piyürisi olup olmaması, sistolik diastolik kan basıncı ölçümleri (mmHg) ile RAS blokörü, glukokortikoid ya da immunsupresif ajan kullanıp kullanmadığı not edildi. Bu hastaların 1 yıllık ve 5 yıllık sürelerde SDBY'ne ilerleme oranı veya GFR değerinde %50'den fazla düşüşü öngören IgA prediction tool ile hesaplamaları yapıldı.

C4d, IL-10, PDGF ve TGF-  $\beta$  boyanması pozitif ve negatif olan hastalar başlangıç GFR değerleri, MEST-C skoru, biyopsi sonrası izlemede 1.yılda bakılan üre, kreatinin, GFR, proteinüri değerleri, takipte sistemde bulunan en son üre, kreatinin, proteinüri, GFR değerleri, klinik yanıt ve immunsupresif tedavi eklenip eklenmemesi ile karşılaştırıldı.

### **3.3. C4d boyanması ve histopatolojik incelemeler**

IgAN tanılı parafin bloklardan alınan 3 mikrometrelilik kesitler Dako Omnis tam otomatize immunhistokimyasal boyama cihazında ultraview Dab detection kit kullanılarak boyandı. EDTA ile 97 derecede 37 dakika inkübasyon sonrası, 20 dakika Medaysis markalı klonu C4D204 olan C4d primer antikoru uygulandı.

İmmunhistokimyasal C4d boyanan biyopsi bloklarında boya tutmayan bloklara 0(sıfır) verildi. Boyananlar lokalizasyonuna ve boyandığı alanda diffüz ya da fokal olmasına göre değerlendirildi. **1F**: mesengial/perimesengial boyanması olup glomerüllerin <%50'si, **1D**: mesengial/perimesengial boyanması olup glomerüllerin>%50'si, **2F**: glomerüllerin periferik <%50, **2D**: glomerüllerin periferik>%50, **3F**: sklerotik glomerüler segmentte non spesifik boyanmanın <%50'si, **3D**: sklerotik glomerüler segmentte non spesifik boyanmanın>%50'sini ifade edecek şekilde kategorize edildi.

### **3.4. IL-10 boyanması ve histopatolojik incelemeler**

Tanılı parafin bloklardan alınan 3 mikrometrelik kesitler Dako Omnis tam otomatize immunhistokimyasal boyama cihazında ultraview Dab detection kit kullanılarak boyandı. Citrate Buffer'da 97 derecede 30 dakikalık inkübasyon sonrası, 45 dakika Atlas Antibodies markalı poliklonal Anti-IL 10 uygulandı.

İmmunhistokimyasal IL-10 ile boyanan biyopsi bloklarına boyanmanın şiddetine göre numara verildi. 0 boya tutmayan, 1 hafif derecede, 2 orta derecede, 3 ciddi derecede tutulum olarak numaralandırıldı.

### **3.5. PDGF boyanması ve histopatolojik incelemeler**

Tanılı parafin bloklardan alınan 3 mikrometrelik kesitler Dako Omnis tam otomatize immunhistokimyasal boyama cihazında ultraview Dab detection kit kullanılarak boyandı. Sitrarla 97 derecede 30 dakikalık inkübasyon sonrası, 30 dakika Atlas Antibodies markalı poliklonal Anti-PDAP1 uygulandı.

İmmunhistokimyasal PDGF ile boyanan biyopsi bloklarına da boyanmanın şiddetine göre numara verildi. 0 numara boya tutmayan, 1 hafif derecede, 2 orta derecede, 3 ciddi derecede tutulumu gösterecek şekilde numaralandırıldı.

### **3.6. TGF- $\beta$ boyanması ve histopatolojik incelemeler**

Tanılı parafin bloklardan alınan 3 mikrometrelik kesitler Dako Omnis tam otomatize immunhistokimyasal boyama cihazında ultraview Dab detection kit kullanılarak boyandı. EDTA ile 97 derecede 30 dakikalık inkübasyon sonrası, 15 dakika Atlas Antibodies markalı poliklonal Anti-TGFBI uygulandı

İmmunhistokimyasal TGF-  $\beta$  ile boyanan biyopsi blokları da boyanmanın şiddetine göre numaralandırıldı. 0 numara boya tutmayan, 1 hafif derecede, 2 orta derecede, 3 ciddi derecede tutulumu gösterecek şekilde numaralandırıldı.

### 3.7. İstatistiksel Analiz

Çalışmamızın bulguları Statistical Package for Social Sciences for Windows sürüm 21.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, ABD) kullanılarak değerlendirilmiştir. Her değişken için tanımlayıcı istatistikler verildi. Normal dağılım göstermeyen sürekli değişkenler için sonuçlar medyan (çeyrekler arası aralık (IQR)) olarak sunuldu. Kategorik değişkenler için  $\chi^2$  testi ile gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olup olmadığı değerlendirildi. Sürekli değişkenler açısından gruplar arasındaki farklılıkları değerlendirmek için One-Way ANOVA yöntemi kullanıldı. Ayrıca Bonferroni yöntemi ile Post Hoc analiz yapıldı. eGFR sonlanımını değerlendirmek için binary lojistik regresyon analizi yapıldı. Modele cinsiyet, tanı yaşı, başlangıç proteinüri ve eGFR değeri ve yeni boyama özellikleri dahil edildi. p değeri  $< 0.05$  olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Demografik Veriler

59 hastanın 24'ü kadın, 35'i erkekti. Tüm hastaların yaş ortalaması  $39.48 \pm 14.81$  yıl tespit edildi. Hastaların %37,5'u (n=21) A Rh (+) kan grubuna sahipti. Hastaların %70'inin (n=41) hipertansiyonu vardı. Ortalama tanı yaşı  $37.61 \pm 12.82$  yıldır. Takip edilme süreleri ortalama  $42,98 \pm 23,5$  aydır. Hastaların vücut kitle indeksi (VKİ) ortalama  $27,47 \pm 4,68$  kg/m<sup>2</sup> idi. Tanı anında bakılan ortalama GFR  $66,61 \pm 29,7$  ml/dk, kreatinin  $1,43 \pm 0,8$  mg/dL, proteinüri  $2670 \pm 2110$  mg/dL ve CRP  $7,51 \pm 11,5$  mg/dL olarak bulundu (Tablo2).

**Tablo 2:** Hastalara ait demografik, klinik ve laboratuvar özelliklerin dağılımı

Parametre	n (%), Ortalama $\pm$ SD, Median (IQR)
Cinsiyet (K/E)	24/35
Yaş (yıl)	$39.48 \pm 14.81$
<b>Kan Grubu</b>	
A Rh (+)	21 (%37,5)
0 Rh (+)	19 (%33,9)
0 Rh (-)	7 (%12,5)
B Rh (+)	4 (%7,1)
AB Rh (+)	2 (%3,6)
A Rh (-)	2 (%3,6)
B Rh (-)	1 (%1,8)
<b>Komorbiditeler</b>	
Hipertansiyon varlığı	41 (%70,7)
Tanı Yaşı (yıl)	$37,61 \pm 12,82$
Takip Süresi (ay)	$42,98 \pm 23,5$ (med: 36 min:12-80)
VKI (kg/m <sup>2</sup> )	$27,47 \pm 4,68$
GFR (ml/dk)	$66,61 \pm 29,7$ [58 (52)]
Üre (mg/dL)	$47,27 \pm 26,49$
Kreatinin (mg/dL)	$1,43 \pm 0,8$
Proteinüri (mg/dL)	$2670 \pm 2110$ [2400 (2700)]
Sodyum (mEq/L)	$139,37 \pm 2,82$
Potasyum (mEq/L)	$4,44 \pm 0,51$
Kalsiyum (mg/dL)	$9,05 \pm 0,52$
Fosfor (mg/dl)	$3,55 \pm 0,73$
HbA1c %	$5,45 \pm 0,73$
Albümin (gr/dL)	$3,77 \pm 0,58$
CRP (mg/dL)	$7,51 \pm 11,5$ [2.7 (8.2)]
Ferritin (mg/dL)	$121,59 \pm 106,94$ [100 (122)]
PTH	$72,86 \pm 71,18$ [55(55)]
Vitamin D düzeyi	$14,35 \pm 7,02$ [47.7 (10)]
Hgb (gr/dL)	$13,34 \pm 1,93$
PLT (10 <sup>3</sup> /uL)	$283,69 \pm 86,41$

59 hastanın hepsine RAS blokörü tedavisi verildiği görüldü. 20 hasta immünesupresif tedaviye ihtiyaç duymuştur. İmmünesupresif tedavi verilen 20 hastanın hepsi hastalığın herhangi bir döneminde glukokortikoid tedavisi almıştır. Glukokortikoid tedavisi yanında 7 hastaya azatiopurin, 13 hastaya mikofenolat mofetil verilmiş olduğu belirlenmiştir (Tablo 3).

**Tablo 3:**Hastaların tedavilerinin dağılımı

	<b>Glukokortikoid</b>	<b>Omega-3</b>	<b>Azatiopurin</b>	<b>Mikofenolik Asit Analogu</b>
<b>Kullanan hasta sayısı n(%)</b>	40 (%69)	48 (%82,8)	7 (%12,1)	13 (%22,4)
<b>Kullanmayan hasta sayısı n(%)</b>	19 (%31)	11 (%17,2)	52 (%87,9)	46 (%77,6)

Oxford Sınıflandırma sistemine göre mezangial hipersellülarite skoru M0 olan 30 hasta, endokapiller proliferasyon skoru E0 olan 52 hasta, segmental skleroz skoru S0 olan 46 hasta, tübüler atrofi ve interstisyel fibrozisin skoru T0 olan 29 hasta, hücresel/fibroselüler kresent oluşum skoru C0 olan 55 hasta saptanmıştır. MEST-C total skora göre dağılımda ise, M0E0S0T0-C0(skor toplamı: 0) olan 16 hasta tespit edilmiştir (Tablo 4).

**Tablo 4:** Hastalara ait patoloji bloklarının güncel Oxford sınıflandırılmasına (MEST-C) göre skor dağılımı

<b>Derece</b>	<b>M</b>	<b>E</b>	<b>S</b>	<b>T</b>	<b>C</b>	<b>Total</b>
<b>0</b>	30 (%50,8)	52 (%88,1)	46 (%78)	29 (%49.2)	55 (%93.2)	16 (%27.1)
<b>1</b>	29 (%49,2)	7 (%11,9)	13 (%22)	22 (%37.3)	4 (%6.8)	<b>19 (%32.2)</b>
<b>2</b>				8 (%13.6)		13 (%22)
<b>3</b>						2 (%3.4)
<b>4</b>						6 (%10.2)
<b>5</b>						2 (%3.4)
<b>6</b>						1 (%1,7)

**M0:** glomerüllerin <%50'ında mezangial hiperselülarite, **M1:** glomerüllerin>%50'sinde mezangial hiperselülarite, **E0:** endokapiller proliferasyon yok, **E1:** endokapiller proliferasyon var, **S0:** segmental glomerüloskleroz gösteren glomerül yok, **S1:** segmental glomerüloskleroz gösteren herhangi bir glomerül, **T0:** tübülointerstisyel fibröz/tübüler atrofi %0-25, **T1:** tübülointerstisyel fibröz/tübüler atrofi %26-50, **T2:** tübülointerstisyel fibröz/tübüler atrofi >%50, **C0:** hücresel veya fibroselüler hilal yok, **C1:** hücresel veya fibroselüler hilal

#### 4.2 Böbrek Biyopsi Materyallerinin TGF-beta ile Boyanma Paterni

59 hastanın patoloji bloklarının hepsi TGF-beta ile boyandı. TGF-beta ile boyananlar, boyamamın şiddetine göre numaralandırıldı. 1 numara hafif dereceli, 2 numara orta dereceli, 3 numara ciddi derece olarak belirlendi. Şiddetine göre boyanan TGF-beta'nın %30,5'i (n=18) hafif dereceli, %45,8'i (n=27) orta dereceli, %23,7'si (n=14) ciddi dereceliydi (Tablo 5).

**Tablo 5:** Patoloji bloklarının immunhistokimyasal TGF-beta boyama ile dağılımı

Derece	TGF-Beta
0	
1	18 (%30,5)
2	<b>27 (%45,8)</b>
3	14 (%23,7)

30 hastanın tanı esnasında GFR değeri 60 altında, kalan 29 hastanın GFR değeri 60 üzerindedir. Tüm hastaların blokları TGF-beta ile boyandı. GFR değeri 60 altında ve üstünde olan hastalar karşılaştırıldığında, GFR < 60 olan hastalarda TGF-beta ile boyanma şiddetinin daha yüksek olduğu bulundu (p=0,004) (Tablo 6).

**Tablo 6:** Tanı anındaki GFR < 60 ve GFR > 60 olan hastaların TGF-beta boyama ile değerlendirilmesi

Derece	TGF-Beta	
	GFR < 60	GFR > 60
0	0	0
1	8	10
2	10	17
3	12	2
	<b>p=0,004</b>	

(Pearson Ki-Kare)

IgA Prediction Tool formülü ile 1 yıl ve 5 yıl sonraki tahmini %50'den fazla GFR kaybını veya son dönem böbrek yetmezliğine ilerleme oranını hesapladık. Tüm blokların TGF-beta ile boyanması sebebiyle boyanma şiddetleri arasında analiz yapıldı. Ciddi boyanan grubun 1 yıllık ve 5 yıllık IgA Prediction Tool formülü ile hesaplanan SDBY'ne ilerleme oranı, hafif ve orta derecede boyanan gruba göre daha yüksekti (sırasıyla p=0,002, p=0,001) (Tablo 7).

**Tablo 7:** Hastaların 1 yıllık ve 5 yıllık hesaplanan 'IgA Prediction Tool' değeri ile TGF-beta boyanmanın ile karşılaştırılması

	n=59	IGA Prediction Tool (1 yıllık Tahmin)		IGA Prediction Tool (5 yıllık Tahmin)	p Değeri
<b>TGF-Beta</b>	Hafif (n=18)	0.51 (2.05)	<b>p=0.002</b>	7.01 (24.45)	<b>p=0.001</b>
	Orta (n=27)	0.98 (1.19)		12.97 (14.67)	
	Ciddi (n=14)	3.76 (4.04)		41.59 (36.08)	

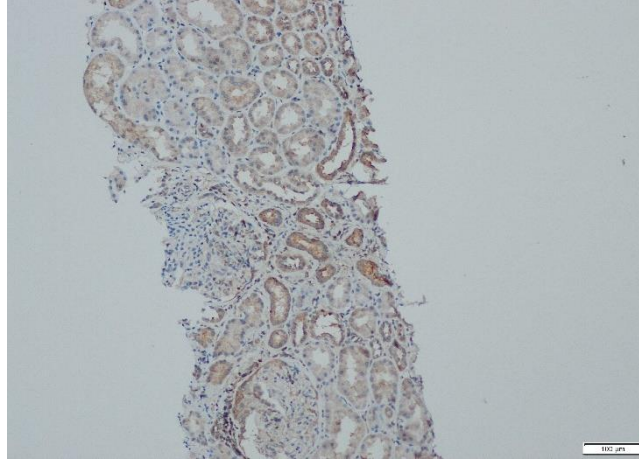
(Oneway Anova)

Hastaların biyopsi esnasındaki GFR değeri ile 1 yıl sonraki ve en son takibindeki GFR değerinin karşılaştırılmasının TGF-beta boyama ile analizi yapıldı. TGF-beta ile ciddi boyanan grubun, 1 yıllık takip sonrası ve sistemde bakılan en son GFR değerinin daha düşük olduğu tespit edildi (sırasıyla p=0,012, p=0,014) (Tablo 8).

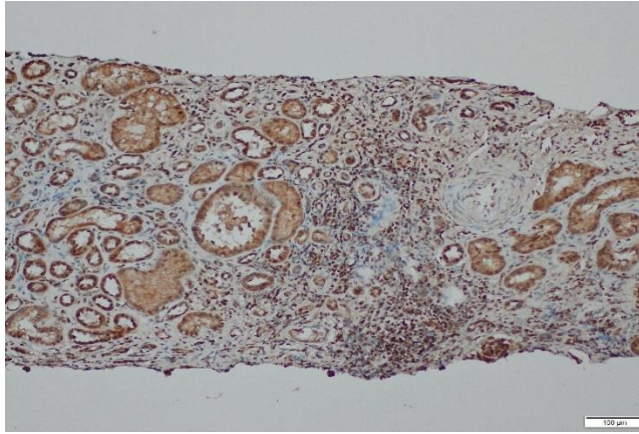
**Tablo 8:** Hastaların 1 yıl sonraki ve son GFR değerinin TGF-beta boyanma ile karşılaştırılması

	n=59	1 Yıl Sonraki GFR Değeri		Son GFR değeri	p Değeri
<b>TGF-Beta</b>	Hafif (n=18)	60 (57)	<b>p=0.012</b>	61 (71.5)	<b>p=0.014</b>
	Orta (n=27)	68.5 (65.3)		69 (67)	
	Ciddi (n=14)	30 (43)		23 (57.5)	

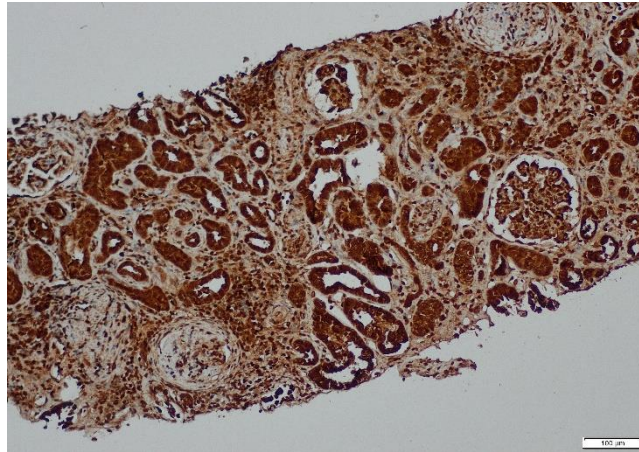
(Oneway Anova)



**Resim 2:** 100'lük büyütmede TGF-beta ile hafif derecede boyanma (1)



**Resim 3:** 100'lük büyütmede TGF-beta ile orta derecede boyanma (2)



**Resim 4:** 100'lük büyütmede TGF-beta ile şiddetli derecede boyanma (3)

### 4.3 Böbrek Biyopsi Materyallerinin C4d ile Boyanma Paterni

C4d antikoru ile boyanma, boyanın lokalizasyonu ve boyandığı lokalizasyonun boyanma yüzdesine göre değerlendirildi. Lokalizasyonlar glomerüllerde mesengial/perimesengial boyanma, periferel boyanma ve sklerotik glomerüllerde non spesifik boyanma olarak üç bölümde gruplandı. Glomerüllerin mesengial/perimesengial boyanması 1 numara, glomerüllerin periferel boyanması 2 numara, sklerotik glomerüler segmentte non-spesifik boyanma ise 3 numarayla ifade edildi. Boyanan lokalizasyon eğer %50'nin altında boyama gösteriyorsa F(fokal), %50'nin üstünde boyama gösteriyorsa D(diffüz) harfiyle gösterilip, numaraların yanına eklendi. 1D olarak ifade ettiğimiz mesengial/perimesengial boyaması olup glomerüllerin %50'sinden fazla boyananlar 10 blok, 1F olanlar mesengial/perimesengial boyaması olup glomerüllerin %50'sinden azı boyananlar 7 bloktu. Glomerüllerin periferel %50'den fazla boyandığı 2D numaralı blokların sayısı 7, glomerüllerin periferel %50'den az boyandığı 2F numaralı blok sayısı ise 2 adetti. 3F olarak numara verdiğimiz, sklerotik glomerüler segmentte non spesifik boyanması %50'den az olan 7 adet blok olup, sklerotik glomerüler segmentte non spesifik boyanması %50'den fazla olan C4d boyaması görülmedi (Tablo 9).

**Tablo 9:** Patoloji bloklarının immunhistokimyasal C4d boyama ile dağılımı

Lokalizasyon ve boyanma yüzdesi	C4d
<b>0</b>	26 (%44)
<b>1D</b>	<b>10 (%16,9)</b>
<b>1F</b>	7 (%11,9)
<b>2D</b>	7 (%11,9)
<b>2F</b>	2 (%3,4)
<b>3F</b>	7 (%11,9)

**0:** Boyanma yok, **1:** hafif, **2:** orta, **3:** şiddetli boyanma. **1F:** mesengial/perimesengial boyaması olup glomerüllerin <%50'si, **1D:** mesengial/perimesengial boyaması olup glomerüllerin>%50'si, **2F:** glomerüllerin periferel <%50, **2D:** glomerüllerin periferel>%50, **3F:** sklerotik glomerüler segmentte non spesifik boyanmanın <%50'si, **3D:** sklerotik glomerüler segmentte non spesifik boyanmanın>%50'si

33 hasta C4d ile boyandı. Biyopsi esnasında bakılan GFR değeri 60 altında olan hastaların C4d ile boyanma oranı, biyopsi esnasındaki GFR değeri 60 üzerinde olan gruba göre daha fazlaydı (p=0,002). Ayrıca GFR 60 altında olan grupta mesengial/ perimesengial boyanmanın daha çok olduğu saptandı (Tablo 10).

**Tablo 10:** Tanı anındaki GFR<60 ve GFR>60 olan hastaların C4d boyama ile değerlendirilmesi

Derece	C4d	
	GFR<60	GFR>60
0	7	19
1D	9	1
1F	3	4
2D	5	2
2F	2	0
3F	4	3
	<b>p=0,002</b>	

(Pearson Ki-Kare)

C4d boyanan grupta, 1 yıllık ve 5 yıllık IgA Prediction Tool formülü ile hesaplanan SDBY'ne ilerleme oranı C4d boyanmayan gruba göre daha yüksekti (sırasıyla p=0,001, p=0,001). C4d boyamasındaki alt grupların sayısal yetersizliği gruplar arası kıyaslamının istatistiksel analizini yapmayı mümkün kılmamıştır (Tablo 11).

**Tablo 11:** Hastaların 1 yıllık ve 5 yıllık hesaplanan 'IgA Prediction Tool' değeri ile C4d boyanmanın ile karşılaştırılması

	n=59	IgA Prediction Tool (1 yıllık Tahmin)		IgA Prediction Tool (5 yıllık Tahmin)	p Değeri
C4d	0 (n=26)	0.46 (0.97)	<b>p=0.001</b>	6.33 (10.9)	<b>p=0.001</b>
	1D (n=10)	4.22 (2.95)		45.37 (24.83)	
	1F (n=7)	1.39 (0.95)		17.88 (11.46)	
	2D (n=7)	3.18 (5.82)		35.73 (53.32)	
	2F (n=2)	2.07		24.91	
	3F (n=7)	1.93 (4.18)		23.94 (42.20)	

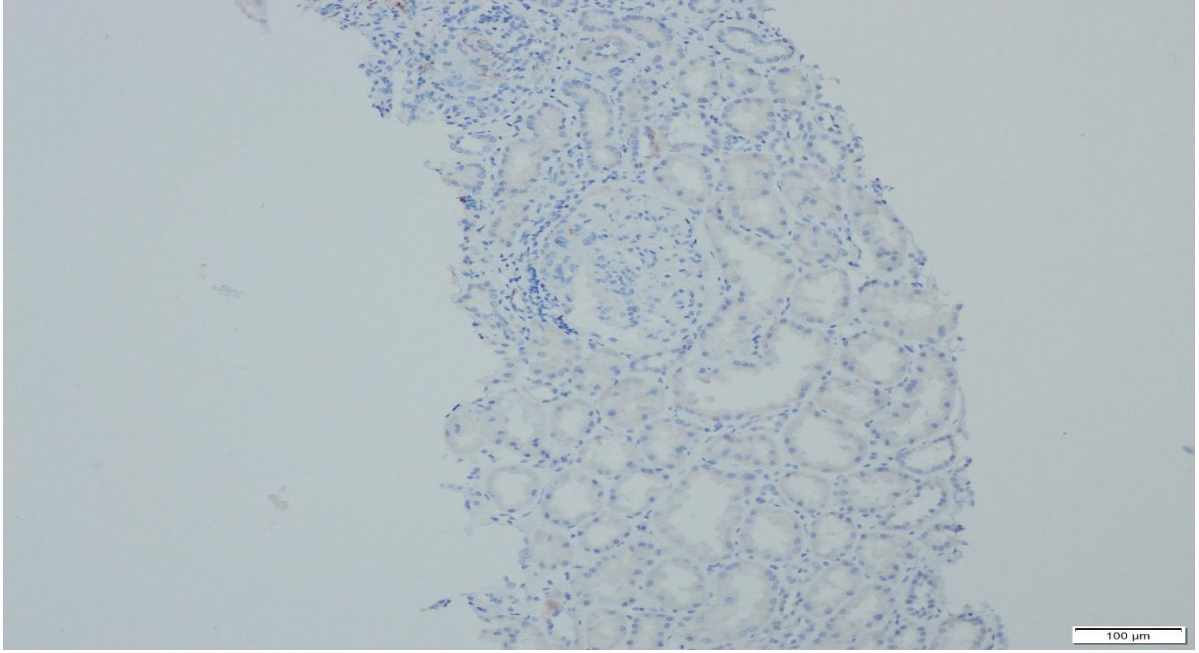
(Oneway Anova)

Hastaların biyopsi esnasındaki GFR değeri ile 1 yıl sonraki ve en son takibindeki GFR değerinin karşılaştırılmasının C4d boyama ile analizi yapıldı. C4d ile boyanan grubun, 1 yıllık takip sonrası ve sistemde bakılan en son GFR değerinin, boyanmayan gruba göre daha düşük olduğu gösterildi (sırasıyla p=0,02, p=0,04) (Tablo 12).

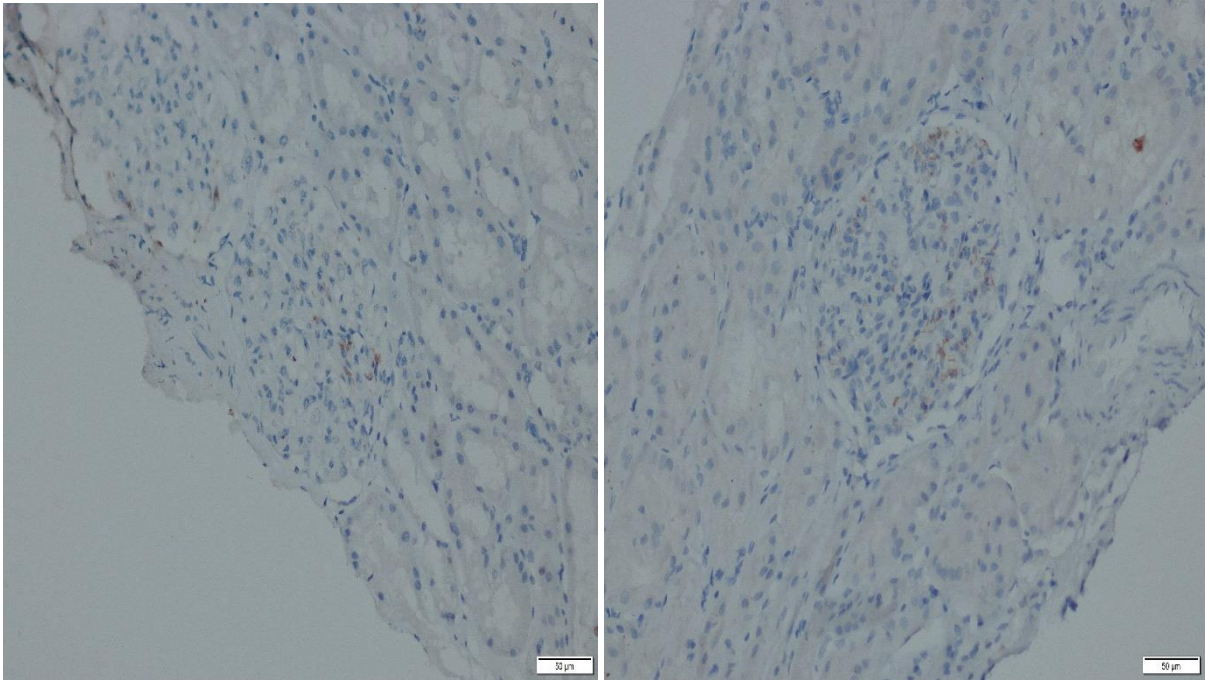
**Tablo 12:** Hastaların 1 yıl sonraki ve son GFR değerinin C4d boyanma ile karşılaştırılması

	<b>n=59</b>	<b>1 Yıl Sonraki GFR Değeri</b>		<b>Son GFR değeri</b>	<b>p Değeri</b>
<b>C4d</b>	0 (n=26)	80.25 (41.5)	<b>p=0.02</b>	82 (71.3)	<b>p=0.04</b>
	1D (n=10)	26.5 (38)		39 (50.3)	
	1F (n=7)	56 (72)		44 (57)	
	2D (n=7)	37 (42)		37 (50.5)	
	2F (n=2)	35.5		25	
	3F (n=7)	60 (73)		69 (80)	

(Oneway Anova)



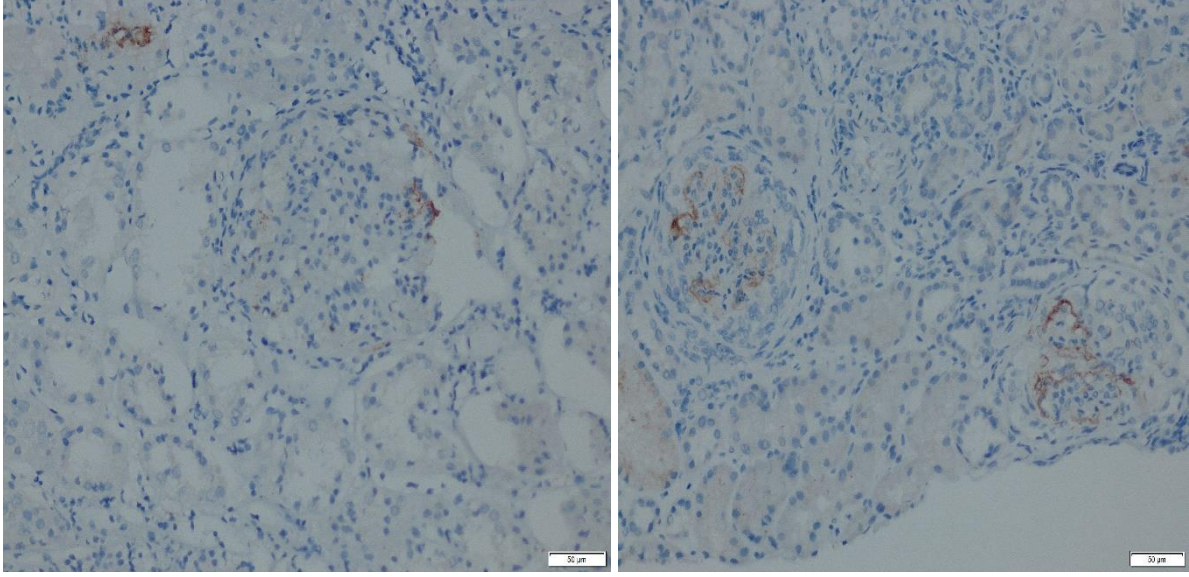
**Resim 5:** 100'lük büyütmede boyanmayan glomerül



**Resim 6:**

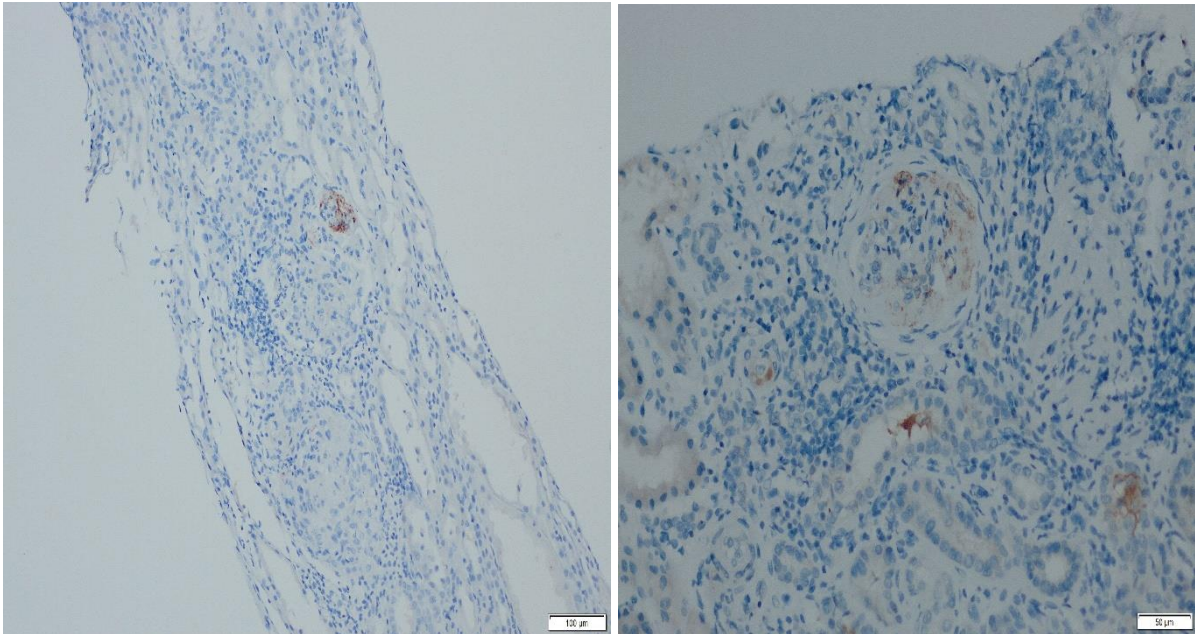
**1.** 50'lik büyütmede glomerüllerin <%50'sini içeren mesengial/perimesengial C4d boyanması (**1F**)

2. 50'lik büyütmede glomerüllerin >%50'sini içeren mesengial/perimesengial C4d boyanması (1D)



**Resim 7:**

1. 50'lik büyütmede glomerüllerin periferel <%50 C4d boyanması (2F)
2. 50'lik büyütmede glomerüllerin periferel >%50 C4d boyanması (2D)



**Resim 8:**

1. 100'lük büyütmede sklerotik glomerüler segmentte <%50 non spesifik C4d boyanması (3F)
2. 50'lik büyütmede sklerotik glomerüler segmentte <%50 non spesifik C4d boyanması (3F)

#### 4.4 Böbrek Biyopsi Materyallerinin PDGF ile Boyanma Paterni

59 bloğun 57'si PDGF ile boyandı. PDGF ile boyananlar, boyanmamın şiddetine göre numaralandırıldı. 1 numara hafif dereceli, 2 numara orta dereceli, 3 numara ciddi derece olarak belirlendi. PDGF ile boyananların %50,8'i (n=30) hafif dereceli, %37,3'ü (n=22) orta dereceli ve %8,5'i(n=5) ciddi dereceliydi (Tablo 13).

**Tablo 13:** Patoloji bloklarının immunhistokimyasal PDGF boyama ile dağılımı

Derece	PDGF
0	2 (%3,4)
1	<b>30 (%50,8)</b>
2	22 (%37,3)
3	5 (%8,5)

PDGF boyama, boyanma şiddetine göre karşılaştırıldı. GFR değeri 60 altında olan hastalarda PDGF ile boyanmanın daha şiddetli olduğu görüldü (p=0,008) (Tablo 14).

**Tablo 14:** Tanı anındaki GFR<60 ve GFR>60 olan hastaların PDGF boyama ile değerlendirilmesi

Derece	PDGF	
	GFR<60	GFR>60
0	1	1
1	10	20
2	15	7
3	4	1
	<b>p=0,008</b>	

(Pearson Ki-Kare)

Ciddi ve orta derecede boyanan grubun, hafif derecede boyanan gruba göre 1 yıllık ve 5 yıllık süre sonunda son dönem böbrek yetmezliğine ilerleme oranı daha yüksekti (sırasıyla p=0,001, p=0,001) (Tablo 15).

**Tablo 15:** Hastaların 1 yıllık ve 5 yıllık hesaplanan ‘IgA Prediction Tool’ değeri ile PDGF boyanmanın ile karşılaştırılması

	n=59	IGA Prediction Tool (1 yıllık Tahmin)		IGA Prediction Tool (5 yıllık Tahmin)	p Değeri
<b>PDGF</b>	Yok (n=2)	0.94	<b>p=0.001</b>	11.95	<b>p=0.001</b>
	Hafif (n=30)	0.5 (1.17)		6.83 (13.74)	
	Orta (n=22)	2.94 (4.5)		34.2 (41.52)	
	Ciddi (n=5)	3.76 (4.48)		41.59 (37.85)	

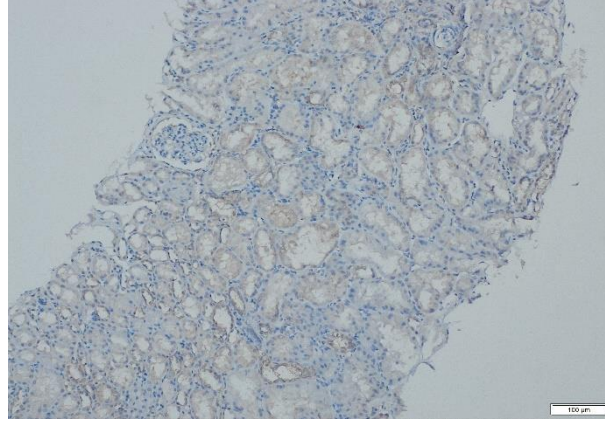
(Oneway Anova)

Hastaların biyopsi esnasındaki GFR değeri ile 1 yıl sonraki ve en son takibindeki GFR değerinin karşılaştırılmasının PDGF boyama ile analizi yapıldı. PDGF ile ciddi boyanan grubun, 1 yıllık takip sonrası ve sistemde bakılan en son GFR değerinin daha düşük olduğu saptandı (sırasıyla p=0,02, p=0,01)(Tablo 16).

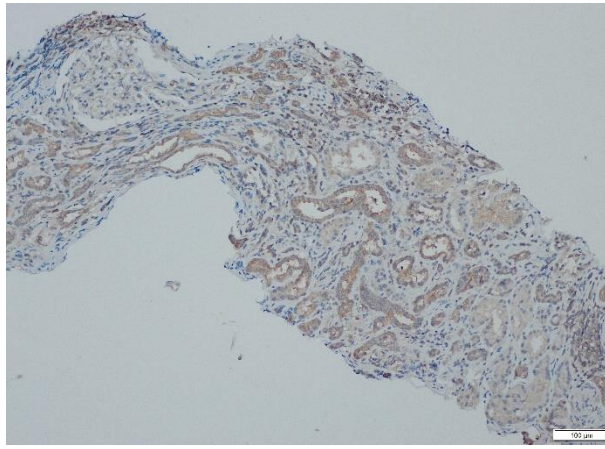
**Tablo 16:** Hastaların 1 yıl sonraki ve son GFR değerinin PDGF boyanma ile karşılaştırılması

	n=59	1 Yıl Sonraki GFR Değeri		Son GFR değeri	p Değeri
<b>PDGF</b>	Yok (n=2)	124	<b>p=0.02</b>	140	<b>p=0.01</b>
	Hafif (n=30)	68.5 (50.3)		75.5 (58.3)	
	Orta (n=22)	35 (41.5)		33 (58)	
	Ciddi (n=5)	37 (49.5)		33 (71.5)	

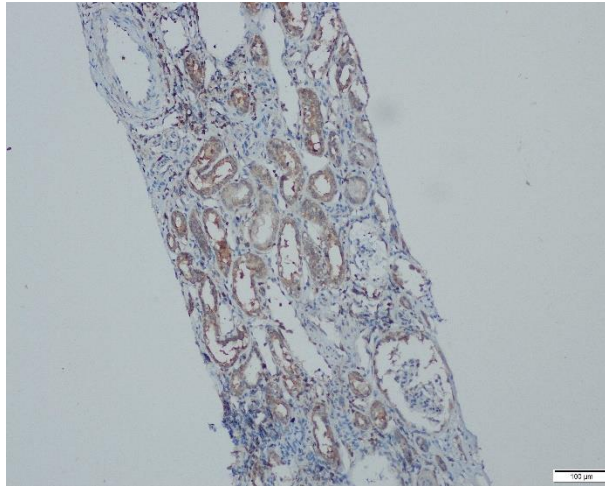
(Oneway Anova)



**Resim 9:** 100'lük büyütmede PDGF ile hafif derecede boyanma (1)



**Resim 10:** 100'lük büyütmede PDGF ile orta derecede boyanma (2)



**Resim 11:** 100'lük büyütmede PDGF ile şiddetli derecede boyanma (3)

#### 4.5 Böbrek Biyopsi Materyallerinin IL-10 ile Boyanma Paterni

37 hastanın bloğu IL-10 ile boyandı. IL-10 ile boyananlar, boyamamın şiddetine göre numaralandırıldı. 1 numara hafif dereceli, 2 numara orta dereceli, 3 numara ciddi derece olarak belirlendi. IL-10 ile boyananların %39'u (n=23) hafif dereceli, %20,3'ü (n=12) orta dereceli ve %3,4'ü (n=2) ciddi dereceliydi (Tablo 17).

**Tablo 17:** Patoloji bloklarının immunhistokimyasal IL-10 boyama ile dağılımı

Derece	IL-10
0	22 (%37,3)
1	23 (%39)
2	12 (%20,3)
3	2 (%3,4)

Biyopsi esnasında bakılan GFR değeri 60 altında olan hastaların IL-10 ile boyanma oranı, biyopsi esnasındaki GFR değeri 60 üzerinde olan gruba göre daha fazlaydı (p=0,033) (Tablo 18).

**Tablo 18:** Tanı anındaki GFR<60 ve GFR>60 olan hastaların IL-10 boyama ile değerlendirilmesi

Derece	IL-10	
	GFR<60	GFR>60
0	7	15
1	12	11
2	9	3
3	2	0
	p=0,033	

(Pearson Ki-Kare)

IL-10 boyanan grubun, 1 yıllık ve 5 yıllık IgA Prediction Tool formülü ile hesaplanan SDBY'ne ilerleme oranı IL-10 ile boyanmayan gruba göre daha yüksekti (sırasıyla p=0,001, p=0,001) (Tablo 19).

**Tablo 19:** Hastaların 1 yıllık ve 5 yıllık hesaplanan 'IgA Prediction Tool' değeri ile IL-10 boyanmanın ile karşılaştırılması

	<b>n=59</b>	<b>IGA Prediction Tool (1 yıllık Tahmin)</b>		<b>IGA Prediction Tool (5 yıllık Tahmin)</b>	<b>p Değeri</b>
<b>IL-10</b>	Yok (n=22)	0.46 (1.01)	<b>p=0.001</b>	6.33 (11.36)	<b>p=0.001</b>
	Hafif (n=23)	1.57 (3.47)		19.89 (36.5)	
	Orta (n=12)	2.68 (4.18)		31.74 (38.45)	
	Ciddi (n=2)	6.06		57.13	

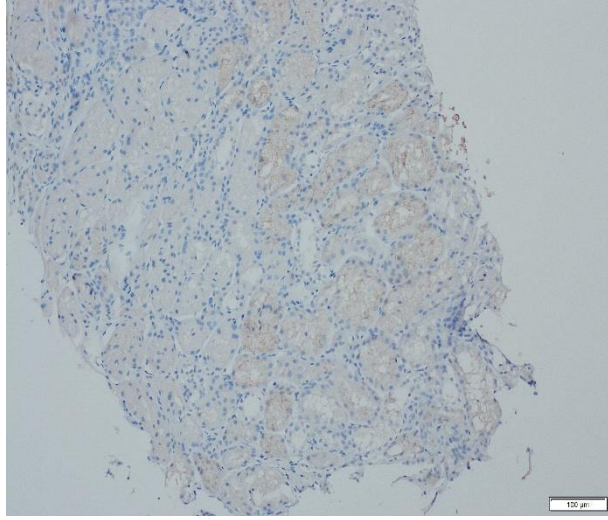
(Oneway Anova)

Hastaların biyopsi esnasındaki GFR değeri ile 1 yıl sonraki ve en son takibindeki GFR değerinin karşılaştırılmasının, IL-10 boyama ile istatistiksel analizi yapıldı. IL-10 ile boyanan grubun 1 yıllık takip sonrası bakılan GFR değeri, IL-10 boyanmayan grupla kıyaslandığında fark bulunamadı (p=0,06). IL-10 ile boyanan grubun, sistemdeki en son GFR değerinin, boyanmayan gruba göre daha düşük olduğu tespit edildi (p=0,03) (Tablo 20).

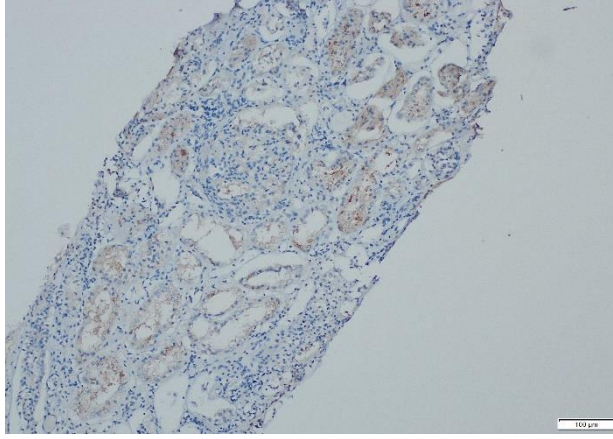
**Tablo 20:** Hastaların 1 yıl sonraki ve son GFR değerinin IL-10 boyanma ile karşılaştırılması

	<b>n=59</b>	<b>1 Yıl Sonraki GFR Değeri</b>		<b>Son GFR değeri</b>	<b>p Değeri</b>
<b>IL-10</b>	Yok (n=22)	90.5 (39.5)	<b>p=0.06</b>	90 (52.3)	<b>p=0.03</b>
	Hafif (n=23)	47 (54)		44 (52)	
	Orta (n=12)	36 (35)		29 (62)	
	Ciddi (n=2)	31		28	

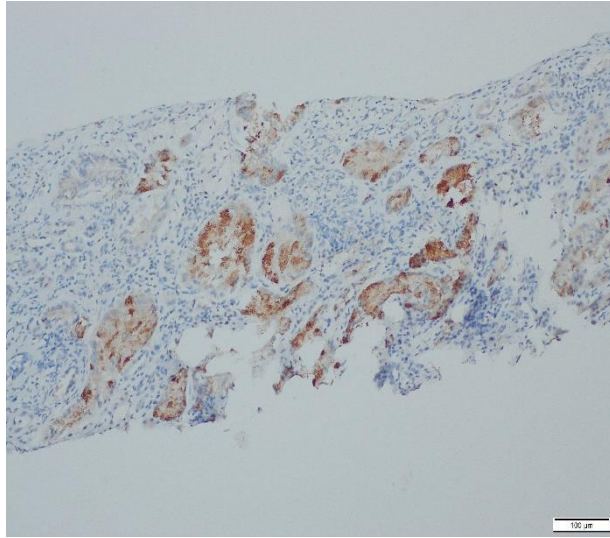
(Oneway Anova)



**Resim 12:** 100'lük büyütmede IL-10 ile hafif derecede boyanma (1)



**Resim 13:** 100'lük büyütmede IL-10 ile orta derecede boyanma (2)



**Resim 14:** 100'lük büyütmede IL-10 ile şiddetli derecede boyanma (3)

#### 4.6 IgA Nefropatisi Olan Hastaların Klinik Yanıtının Değerlendirilmesinde Bağımsız Ön Gördürücüler

Hastalar KDIGO remisyon kriterlerine göre sınıflandırıldı. Tedaviye yanıt veren grup (kısmi ve tam yanıt) ve yanıt vermeyen iki grup oluşturuldu. Yanıt veren grupta 22 hasta, yanıtız grupta 37 hasta tespit edildi. Klinik yanıtı ön gördürücüleri belirlemek için Binary regresyon analizi yapıldı. Binary regresyon analizine geleneksel kriterlerden cinsiyet, tanı yaşı, tanı esnasındaki GFR ve proteinüri değerleri ve çalışmamızdaki immunhistokimyasal boyalar dahil edildi. İstatistiksel analiz sonucunda, klinik progresyonun bağımsız ön gördürücüsü olarak IL-10 tespit edildi. IL-10 boyanan grubun, boyanmayan gruba göre 4,9 kat daha fazla tedaviye yanıtız olduğu saptandı (p= 0,008) (Tablo 21).

**Tablo 21:** Klinik Yanıtın Değerlendirilmesinde Bağımsız Ön Gördürücülerin Tespiti

Parametreler	B	p-değeri	Exp (B) 95% CI
<b>Basamak 1</b>			
Cinsiyet	-0.748	0.269	0.473 (0.126 – 1.782)
Tanı Yaşı	0.043	0.106	1.044 (0.991 – 1.100)
Başlangıç GFR	-0.009	0.513	0.991 (0.966 – 1.017)
Başlangıç Proteinüri	0.075	0.638	1.078 (0.788 – 1.475)
C4d	-1.030	0.322	0.357 (0.046 – 2.746)
IL10	1.509	0.110	4.521 (0.711 – 28.759)
PDGF	1.126	0.232	3.082 (0.486 – 19.556)
TGF $\beta$	-1.245	0.179	0.288 (0.047 – 1.766)

<b>Basamak 7</b>			
IL-10	1.591	<b>0.008</b>	4.908 (1.504 – 16.017)

(Binary Lojistik Regresyon Analizi)

## 5. TARTIŞMA

IgA nefropatisi, çok çeşitli klinik ve patolojik özelliklerle karakterize sık görülen primer glomerülonefrittir. IgAN tanısında renal biyopsi materyalinde glomerüler mezengiumda C3 ve IgA ile kompleks oluşturmuş IgM ya da IgG yapılarını birikmiş şekilde görürüz. Çoğu hastanın klinik bulgusu sadece proteinüri veya hematüri olabilirken, prognoz oldukça değişkendir, remisyon sadece birkaç hastada görülebilir. IgA nefropatisi hastalığın erken döneminde iyi seyirli olmasına rağmen hastaların %50'si son dönem böbrek yetmezliğine ilerleyebilir [13]. Bu yüzden erken dönemde prognoza müdahale edebilmek, kişiye özel tedavi planlaması yapabilmek adına daha spesifik belirteçlere ve risk skoru hesaplarına ihtiyaç duymaktayız.

2016 yılında Lai ve arkadaşlarının yaptığı IgA nefropatisi derlemesinin demografik verilerinde hastalığın genç erişkin yaşlarda, yaşlı gruba göre daha sık gözlendiğini ve erkek cinsiyette baskın olduğunu gösteriyordu [5]. Bizim çalışmamızda hastaların yaş ortalaması  $39.48 \pm 14.81$  yıl tespit edildi. Cinsiyet dağılımında 59 hastanın 35'i erkekti.

IgA nefropatisinin progresyonu glomerüler fibrozis ile yakından ilişkilidir. Fibrozisin hastalığıdaki mekanizması tam bilinmemekle beraber, Medrano ve arkadaşları 2017 yılında IgA nefropatisi tanısı almış 58 hastanın idrar örneğinde IL-6, TGF $\beta$ 1 ve MCP-1 artışının fokal glomerüloskleroz ve interstisyel fibröz ekspansiyonu ile ilişkili olduğunu bulmuştur [18]. Zhang ve arkadaşlarının 2017 yılında yapmış olduğu 20 IgAN hasta ve 15 sağlıklı kontrol grubunun karşılaştırmasında, plasma jelsolininin glomerüllerdeki birikiminin TGF- $\beta$ 1/Smads sinyal iletim yoluyla sinerjistik etki ile fibrozis ile ilişkili sitokin olan TGF- $\beta$ 1'in yüksek oranda ekspresyonunun indüklenebileceğinin tahmininde bulunmuştur. Hasta sayısının yetersizliği ve çeşitli çapraz sinyal konuşma yollarının varlığı bu çalışmayı sınırlandırmıştır [19]. 2018 yılında Wang ve arkadaşları 32 IgAN tanılı hastada yapmış olduğu çalışmada TGF- $\beta$  / Smad yolunun negatif regülasyonla renal fibrogenezi azalttığını göstermiştir [20]. Lopes ve arkadaşlarının araştırmasında, primer ve sekonder glomerülopatisi olan 84 hastanın böbrek biyopsileri, sağlıklı grupla kıyaslandığında TGF- $\beta$ 1, CTGF ve VEGF-A'nın mRNA'sının renal fibrozisin şiddeti ile anlamlı pozitif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir [21]. 2021 yılında Yang ve arkadaşları 40 IgAN tanılı hastanın böbrek biyopsi preparatlarında M2 makrofaj, makrofaj apoptoz inhibitörü ve TGF- $\beta$ 1'in ekspresyonunun arttığını göstermiştir. Sağlıklı kontrol grubu ile kıyasladığında ise her üçünün de 24 saatlik idrar proteini, serum kreatinin, eGFR , diğer klinik göstergeler ve renal fibrozisle ilişkisini anlamlı bulmuştur. M2

makrofajlarının, makrofaj apoptoz inhibitörlerinin ve TGF- $\beta$ 1'in IgAN patogenezinde rol oynadığını ve IgAN'de fibrozis gelişiminde yakından ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir (Yang et al., 2021). Biz de araştırmamızda, GFR değeri daha düşük olan hastalarda TGF-beta ile boyanma şiddetinin daha yüksek olduğunu ve son dönem böbrek yetmezliğine ilerleme oranının ciddi boyananlarda daha fazla olduğunu tespit ettik. TGF-beta'nın uyarmasıyla ekstraselüler matriks artışına bağlı nefron kaybının sebep olduğu glomerüler filtrasyon hızındaki azalma daha düşük GFR'de şiddetli boyanma ile uyumludur.

Renal fibrozis, alfa düz kas aktininin pozitif miyofibroblastların aşırı proliferasyonu ve hücre dışı matriksin aşırı üretimi ile karakterize olup son dönem böbrek yetmezliğine yol açar. TGF-beta1 ise renal fibrozisin ilerlemesindeki temel sitokindir. TGF- $\beta$ 1, böbrek tübüler epitel hücrelerinin miyofibroblastlara dönüşümünü sağlar ve doku hasarına yanıt olarak ekstra selüler matriks proteinlerinin sentezine sebep olur. Artan matriks proteinleri nefron kaybına yol açarak glomerüler filtrasyon hızını azaltır [22].

Ülkemizde, Şahin ve arkadaşlarının 2005-2009 tarihleri arasında çalışmaya aldığı 40 IgAN hastasının 11 tanesi C4d pozitif boyanmıştı. C4d boyanan grupta boyanmayan gruba göre proteinüri, serum kreatinin düzeyleri yüksek ve glomerüloskleroz, mezangial hipersellülarite, interstisyel fibrozis varlığı daha fazla bulunmuştur. Son dönem böbrek yetmezliği gelişimi, C4d pozitif grupta %63.6, negatif grupta %13.6 tespit edilmiştir. 3 yıllık olumsuz renal sağkalımın C4d-pozitif hastalarda, negatif hastalara göre daha kötü olduğu bulunmuştur [23]. 2015 yılında Heybeli ve arkadaşlarının 43 IgAN tanılı hasta ile yaptığı araştırmada, hastalar glomerüler C4d birikimlerine göre boyananlar pozitif ve boyanmayanlar negatif olarak gruplandırılmıştır. 43 hastanın 16'sı C4d pozitif tespit edilmiştir. Çalışmada, glomerüler C4d boyanmasının daha şiddetli endokapiller hipersellülarite ve interstisyel fibrozis/tübüler atrofi ile ilişkili olduğunu gösterilmiştir. Ayrıca glomerüler C4d boyanması, T2 skoru (glomerüllerin %50'den fazlasında tübüler atrofi ve interstisyel fibrozis olması) ile anlamlı olarak ilişkilendirilip, glomerüler C4d boyanmasının olumsuz renal sağkalımı öngörmedeki önemine vurgu yapılmıştır [24]. Espinosa ve arkadaşlarının 2016 yılındaki retrospektif kohort çalışmasına İspanya'daki 11 hastanede 1979 ve 2010 yılları arasında böbrek biyopsisi yapılan 283 IgAN hastası dahil edilmiştir. Mezangial C4d boyanmasıyla, demografik, klinik, laboratuvar verileri ve Oxford patolojik sınıflandırma skorları arasında istatistiksel analiz yapılmıştır. 109 hasta C4d boyanmıştır. Renal replasman tedavisi alan son dönem böbrek yetmezliği gelişen hastalar sonlanım noktası olarak belirlenmiştir. 20 yıllık renal sağkalım, C4d boyanan hastalarda anlamlı olarak boyanmayan gruba göre daha düşük bulunmuştur. C4d ile

pozitif boyanmanın, IgA nefropatili hastalarda son dönem böbrek yetmezliği gelişiminde bağımsız bir risk faktörü olduğu ve kompleman aktivasyonunun hastalığın patogenezinde rol aldığı tespit edilmiştir [25]. Segarra ve arkadaşlarının araştırmasında, 18 yaş ve üzeri 170 IgAN tanılı hasta mevcuttu ve hastaların tanı anındaki GFR değeri 80 ve üzeriydi. Hastaların ortalama takip süresi 15 yıldır. C4d boyanan hasta sayısı 38, boyanmayan 152 kişiydi. C4d boyanan ve boyanmayan hastalar RAS blokörü ve glukokortikoid tedavisi altında klinik yanıtlarına göre değerlendirilmiştir. C4d pozitif hastaların nefritik alevlenmesinin daha sık olduğu ve daha çok immunsupresif, immunomodülatör tedavi ihtiyaçlarının olduğu tespit edilmiştir. C4d boyanan hastalarda, tedavi süresi boyunca takip edilen proteinüri seviyelerinin daha yüksek olduğu bulunmuştur. Tekrarlayan böbrek biyopsisi yapılan 31 hastanın 10'unda C4d boyanması gösterilmiştir. Çalışmada, mezangial C4d birikintilerinin tanı anında normal böbrek fonksiyonu olan IgA nefropatili hastalar için en erken prognostik değişkenlerden biri olabileceği öne sürülmüştür [26]. Taşar ve arkadaşları, 2022 yılında 128 IgA nefropatisi tanısı almış hasta grubunda yaptığı çalışmada böbrek biyopsi preparatlarını C4d ve ADAM10/WT1 ile boyamıştır. Oxford klasifikasyonu, epidemiyolojik, klinik ve laboratuvar verileriyle boyanmaların istatistiksel analizi yapılmıştır. Hastaların %4,4'ü C4d boyanmış olup boyanma lokalizasyonuna göre sınıflandırıldığında mesengial/perimesengial (m/pm) boyanan 25 hasta gösterilmiştir. Sadece m/pm C4d boyananların, istatistiksel olarak son dönem böbrek yetmezliğine ilerleme oranının yüksek olduğu bulunmuştur. Ayrıca m/pm C4d boyanan hastaların tanı anında başlangıç proteinüri değerleri, kresent varlığı ve glomerüllerin segmental sklerozu anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir [27]. Taşar, Şahin, Heybeli, Espinosa ve Segarra'nın arkadaşlarıyla yapmış olduğu çalışmaların hepsinde, son dönem böbrek yetmezliğine gidişi tahmin etmede C4d boyanma bağımsız risk faktörü olarak tespit edilmiştir [23], [24], [25], [26] [27]. C4d boyanmasının hastalığın kötü prognozunda etkili olduğu gösterilse de boyanmanın lokalizasyonu ile sınırlı sayıda çalışma mevcut olup, boyanan alan yüzdesinin artmasının hastalığın kliniğini kötüleştirdiğine dair yeterli kanıt bulunmamaktadır [28]. Çalışmamızın, C4d boyanma paterninin sınıflandırmasını Taşar ve arkadaşlarının çalışmasıyla benzer kullandık. C4d ile boyanma, biyopsi esnasındaki GFR değeri 60 altında olan grupta daha fazlaydı ve grupta mesengial/ perimesengial boyanmanın daha çok olduğu tespit ettik. C4d boyanan grupta, SDBY'ne ilerleme oranının boyanmayan gruba göre daha yüksek olduğunu ve biyopsiden sonra kontrolde bakılan GFR değerinin daha düşük olduğunu saptadık.

Kompleman aktivasyonunun önemli olmasının sebebi, IgA nefropatisindeki hedefe yönelik tedavilerin yokluğudur. Renal biyopsi preparatının, kompleman ile boyanması doku hasar şiddetinin fazlalığını ve hastalığın kötü prognozunu göstermektedir. Glomerüllerdeki C3, C4d, C5b-9 birikimi böbrek fonksiyonlarının azalması için bağımsız bir risk faktörüdür. Bir çalışmada IgAN'de alternatif yolak ve lektin yolağın önemini belirlemek için yapılan kompleman boyamasında, serumda azalmış MASP-3'ün (Mannan-Bağlayıcı Lektin-İlişkili Serin Proteaz-3) dokudaki kompleman aktivasyonunu arttırdığı ve hastalığın progresyonu ile ilişkisi olduğu bulunmuştur. IgAN biyopsilerinde yüksek yoğunluklu MASP'ler, properdin ve faktör B kompleman bileşenleriyle boyanarlarda yaygın olarak hilal oluşumunu gösterilmiştir [29]. MASP'ler, kompleman sisteminin lektin yolunun aktivasyonunda rol oynar. Enfeksiyonlar, patojene, MBL(mannoz bağlayıcı lektin) bağlanması yoluyla lektin yolunun aktivasyonuna neden olur. Çalışmalar, IgAN hastalarında artmış glomerüler MBL/MASP-1 birikiminin, ekstrakapiller proliferasyon, glomerüler skleroz ve proteinüriyi arttırdığını ve böbrek fonksiyon testlerinde azalmaya sebep olduğu göstermiştir. Lektin ve alternatif yollardan oluşan C5b-9'un, IgAN'de hilal oluşturmak için glomerüllere zarar verdiği düşünülmektedir. [30]. 2017 yılında yayınlanan Oxford klasifikasyonunda, hilal oluşumu, olumsuz renal sağkalımın öngörücüsü olarak belirtilmiştir [7].

Trombosit kaynaklı büyüme faktörünün (PDGF), mezengioproliferatif glomerülo nefritlerin (lupus nefriti, diyabetik nefropati) patogeneğinde rol oynadığını gösteren çok sayıda çalışma vardır. PDGF-DD, PDGF-BB , büyük ölçüde PDGF reseptörü (PDGFR)-beta yoluyla sinyal verip sayısal olarak artış gösterir ve mezengial hücrelerin proliferasyonu için önemli bir mitojendir. 2009 yılında Boor'un ve arkadaşları araştırmasında, diğer glomerülo nefritlerde PDGF-DD düzeyinin artmadığını, 33 IgAN tanılı hastanın serum PDGF-DD düzeylerinin özellikle erken dönemde, yani korunmuş böbrek fonksiyonlarında yükseldiğini göstermiştir. IgAN hastalarında, çoğu zaman PDGF-DD serum düzeylerinde küçük dalgalanmalar görülmesi, intrarenal PDGF-DD mRNA ekspresyonunun hastalar ve sağlıklı grup arasında farklılık göstermemesi, IgA nefropatisinde yüksek PDGF-DD'nin ekstra renal bir kaynağı olduğunu düşündürmüştür [31]. 2016 yılında Ebefors ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada 6 IgAN tanılı hastanın mezengial hücre kültürü, galaktoz eksikliği sonucu anormal glikolizasyon ile oluşan patojenik IgA1'le (Gd-IgA1) uyarıldığında PDGFB ekspresyonunun, kontrol grubundakilere göre daha fazla olduğu bulunmuştur. IgA nefropatili mezengial hücrelerin patojenik IgA1'e daha duyarlı olup, ayrıca PDGF-B stimülasyonu ile daha fazla mezengial hücre proliferasyonu yaptığı gözlenmiştir [32]. Çalışmamızda, GFR değeri

daha düşük olan hastalarda PDGF ile boyanmanın daha şiddetli olduğunu gösterdik. Şiddetli boyanan grubun, hafif boyanan gruba göre son dönem böbrek yetmezliğine ilerleme oranının daha yüksek olduğunu tespit ettik.

IgAN, diyabetik nefropati veya lupus nefritinin patogeneğinde TGF- $\beta$ 1, PDGF-B veya CTGF (bağ dokusu büyüme faktörü) dahil olmak üzere pro-fibrotik faktörlerin aşırı üretimine yol açan bir inflamasyon söz konusudur. Bu faktörler, son dönem böbrek yetmezliğine sebep olan ekstraselüler matriksin aşırı üretiminden sorumlu temel hücreler olan  $\alpha$ -SMA'nın ( $\alpha$  düz kas aktinin) pozitif miyofibroblastlarının aktivasyonu ve proliferasyonunda rol oynamaktadır [33].

2013 yılında Wang ve arkadaşları yaptığı araştırmanın sonucunda, B regülatuar hücrelerinin antikör ve patojenik IgA1 salgılanmasını desteklemek için B hücreler ve dentritik hücrelerle etkileşime girebileceğini öne sürmüştür. Breg hücreleri düzenleyici IL-10 ve TGF-beta üretir ve IL-10 aracılığı ile T hücrelerini ve inflamasyonu tetikler [15]. TGF-beta, renal fibrozisteki temel sitokindir [22]. 24 IgAN tanılı hasta ve 12 sağlıklı kontrol grubu olan çalışmada Breg hücrelerin IgAN patogeneğinde rol oynadığı ve potansiyel mekanizmanın IL-10 ile ilişkili olduğunu bulunmuştur [15]. TIM-1+Breg hücreler yeni keşfedilen hücreler olup, B hücrelerin anti-TIM1 aracılı Th hücre yanıtlarından ve IL-10 üretiminden sorumlu olduğu gösterilmiştir. TIM-1+Breg hücreleri özellikle TGF-beta, IL-10 üretimiyle yakından ilişkilidir. İmmun sistemin homeostazında düzenleyici rol oynayan TIM-1+Breg hücrelerin mekanizmasını aydınlatabilmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. [34]. Son dönemde yapılan araştırmalarda, IL-2, IL-6, IL-10 ve TNF- $\alpha$  idrarla atılımının IgA nefropatili hastalarda, sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı derecede yükseldiği gösterilmiştir. 2016 yılında Zhang ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada 74 IgAN tanılı hasta ve 34 sağlıklı kontrol grubunun kıyasında, serumdaki IL-10 ve ST2 düzeyinin hastalık şiddetiyle ilişkili olarak serumda arttığı tespit edilmiştir [35]. IgAN hastalarında IL-10 serum düzeyinin artması glomerüler mezengium hücrelerinin proliferasyonu ve sitokinlerin salınımı ile yakından ilişkilidir. Tüm bu veriler birleştirildiğinde genetik varyasyonların da IgAN gelişmesine ve ilerlemesine sebep olacağı düşünülebilir. Daha önce yapılan araştırmalarda, IL-10 tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) IgA nefropatisinin patogeneğinde önemli bir rol oynadığını gösterilmiştir, fakat sonuçlar net değildir. 2017 yılında Gao ve arkadaşları, 351 IgAN tanılı hasta ve demografik verileri uyumlu 310 sağlıklı kontrol grubuyla vaka kontrol çalışması yapmıştır. Çalışmanın sonucunda, IL-10 promotör gen polimorfizminin Kuzeybatı Çin popülasyonunda IgAN gelişiminde rol oynadığı tespit edilmiştir [13]. Th1 hücreleri IL-12 ve TNF-alfa salgılar, hücre sel bağıışıklığı sağlar. Th2

hücreleri ise IL-4 ve IL-10'u arttırarak antikör üretir. Proinflamatuvar Th1 yanıtı, anti inflamatuvar Th2 yanıtını uyararak serum IL-10 seviyesini arttırır. Çalışmalarda, Th1/Th2 düzeylerinin oranının IgAN'de klinikopatolojik şiddeti belirlediği bulunmuştur. 2021 yılında Hou ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, 48 IgAN tanılı hastanın sağlıklı kontrollere göre serum TNF-alfa ve IL-10 düzeyleri anlamlı olarak yüksek tespit edilmiştir. Artmış IL-10 düzeyi CD14Tim3 monositleri ile ilişkilidir ve M2 benzeri makrofajların alternatif aktivasyonu için önemlidir. Çalışmada, tubulointerstiyel hasarın periferik CD14Tim3'ü tetikleyip, inflamasyonu baskılayarak dokuda fibröz gelişimine katkıda bulunabileceği öne sürülmüştür [36]. Araştırmamızda, tanı esnasında GFR değeri daha düşük olanların IL-10 ile daha fazla boyanması, eş zamanlı fibroziste rol alan TGF-beta salınımınıyla açıklanabilir. IL-10 boyanan grubun, SDBY'ne ilerleme oranının boyanmayan gruba göre daha yüksek olduğu bulundu. Regresyon analizi yapıldığında, hastalığın progresyonunun bağımsız ön gördürücüsü olarak IL-10 tespit edildi. IL-10 ile ilgili birtakım genetik çalışmalar, üriner atılım ve kan plazma seviyeleri gösteren araştırmalar yapılmış olup renal biyopsi dokusunda immunhistokimyasal boyama ile yapılan herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

'Tahmin aracının' başlangıç proteinüri ve GFR değeri, sistolik/diyastolik basınç değerleri, tanı yaşı, kullandığı RAS blokörü veya glukokortikoid tedavinin belirtilmesinin yanında, MEST skorunu içermesini de göz önünde bulundurursak, son dönem böbrek yetmezliğine gidişi daha doğru öngören bu formülün, çalışmamızda kullandığımız tüm immunhistokimyasal boyalarla kötü prognozu göstermede güçlü bir ilişkisinin olması önemlidir.

Sean J. Barbour ve arkadaşları 2019 yılında 3927 hastayı içeren çok etnikli, hasta ırkını içeren ve içermeyen iki 'IgA prediction tool' modelini doğrulamak amacıyla verilerini kaydetmiştir. Formüllerin doğrulanmasıyla hastalığın ilerlemesini ve riskini tahmin etmede klinik bulgulardan daha iyi sonuç verdiğini tespit etmişlerdir. MEST skoru, proteinüri, hipertansiyon, GFR değeri, kullanılan tedaviler gibi çeşitli klinik öngörücü parametrelere sahip olan tahmin aracı, biyopsi ile tanısı kanıtlanmış IgAN hastalarında son dönem böbrek yetmezliğine gidişi doğru şekilde göstermiştir [10]. Çalışmamıza dahil olan hastaların 1 yıllık ve 5 yıllık sürelerle 'IgA Prediction Tool' formülü ile SDBY'ne ilerleme oranlarını hesapladık. Çalışmamızın istatistiksel analizinde, immunhistokimyasal boyalarla boyanan tüm preparatların, boyanmayan gruplarla karşılaştırıldığında, son dönem böbrek yetmezliğine gidişi kuvvetli ön gördürür nitelikte olduğunu tespit ettik.

Cinsiyet, tanı yaşı, tanı anındaki proteinüri ve GFR değeri ile çalışmamızdaki immunhistokimyasal boyaları içeren Binary regresyon analizi yapıldığında, olumsuz renal sağ kalımda IL-10'un bağımsız bir risk faktörü olduğunu tespit ettik.

Çalışmamızda IgA nefropatisinin klinik progresyonunu tahmin etmede kullandığımız tüm boyalar, hastalığın sitokinler, hücrel ve humoral bağışıklık sistemi, genetik faktörler ve büyüme faktörleri gibi çoklu mekanizmalarla denetlendiğini bir kez daha göstermektedir. Renal replasman tedavisi ihtiyacını azaltmak için baskın olan mekanizmanın tespit edilmesi, uygun tedaviyle remisyona imkan sağlar ve mortalite oranının minimuma indirilmesinde önemli bir adım olur.

## 6. SONUÇLAR ve ÖNERİ

- 1) C4d ve IL-10 ile boyanan IgA nefropatili hastalarının son dönem böbrek yetmezliğine ilerleme oranı yüksek tespit edildi.
- 2) Tanı esnasında düşük GFR'lerde daha şiddetli boyama gösteren TGF-beta ve PDGF'nin şiddet arttıkça fibrozisi arttırdığını ve buna bağlı glomerüler filtrasyon hızını azalttığı düşünüebiliriz.
- 3) Alternatif ve lektin yolağın önemli komponenti olan C4d, birçok çalışmada kötü prognozu gösteren bağımsız bir risk faktörü olarak tespit edilmiştir. C4d ile boyanma, tanı anında GFR<60 olan grupta daha yüksekti ve mesengial/perimesengial boyanma daha fazlaydı.
- 4) Araştırmamızda, olumsuz renal sağ kalımda IL-10'nun bağımsız bir ön gördürücü olduğunu saptadık.
- 5) Literatürde, IL-10'un renal biyopsi dokusunda immunhistokimyasal boyamasını gösteren çalışma yoktur. IL-10, IgAN'nin erken döneminde prognozu belirlemeye yardımcı olabilir. Önerimiz, daha geniş hasta grubunda IL-10 salınımının patogenezinde yer alan spesifik markerları içeren çalışmaların yapılmasıdır.

## 7. KAYNAKÇA

- [1] J. R. Hassler, “IgA nephropathy: A brief review,” *Semin. Diagn. Pathol.*, vol. 37, no. 3, pp. 143–147, 2020, doi: 10.1053/j.semdp.2020.03.001.
- [2] D. Xie *et al.*, “Intensity of macrophage infiltration in glomeruli predicts response to immunosuppressive therapy in patients with iga nephropathy,” *J. Am. Soc. Nephrol.*, vol. 32, no. 12, pp. 2982–2984, 2021, doi: 10.1681/ASN.2021060815.
- [3] B. H. Rovin *et al.*, “KDIGO 2021 Clinical Practice Guideline for the Management of Glomerular Diseases,” *Kidney Int.*, vol. 100, no. 4, pp. S1–S276, 2021, doi: 10.1016/j.kint.2021.05.021.
- [4] R. Coppo and A. Amore, “IgA nephropathy,” *Pediatr. Kidney Dis. Second Ed.*, pp. 515–528, 2017, doi: 10.1007/978-3-662-52972-0\_19.
- [5] K. N. Lai *et al.*, “IgA nephropathy,” *Nat. Rev. Dis. Prim.*, vol. 2, 2016, doi: 10.1038/nrdp.2016.1.
- [6] K. N. Lai, “Pathogenesis of IgA nephropathy,” *Nat. Rev. Nephrol.*, vol. 8, no. 5, pp. 275–283, 2012, doi: 10.1038/nrneph.2012.58.
- [7] H. Trimarchi *et al.*, “Oxford Classification of IgA nephropathy 2016: an update from the IgA Nephropathy Classification Working Group,” *Kidney Int.*, vol. 91, no. 5, pp. 1014–1021, May 2017, doi: 10.1016/j.kint.2017.02.003.
- [8] J. Novak, B. A. Julian, J. Mestecky, and M. B. Renfrow, “Glycosylation of IgA1 and pathogenesis of IgA nephropathy,” *Semin. Immunopathol.*, vol. 34, no. 3, pp. 365–382, 2012, doi: 10.1007/s00281-012-0306-z.
- [9] D. C. Cattran *et al.*, “The Oxford classification of IgA nephropathy: Rationale, clinicopathological correlations, and classification,” *Kidney Int.*, vol. 76, no. 5, pp. 534–545, 2009, doi: 10.1038/ki.2009.243.
- [10] S. J. Barbour *et al.*, “Evaluating a New International Risk-Prediction Tool in IgA Nephropathy,” *JAMA Intern. Med.*, vol. 179, no. 7, pp. 942–952, 2019, doi: 10.1001/jamainternmed.2019.0600.
- [11] F. Poppelaars, B. Faria, W. Schwaeble, and M. R. Daha, “The Contribution of Complement to the Pathogenesis of IgA Nephropathy : Are Complement-Targeted

Therapies Moving from Rare Disorders to More Common Diseases ?,” 2021.

- [12] A. S. Medrano *et al.*, “Relationship between immunoglobulin A1 lectin-binding specificities, mesangial C4d deposits and clinical phenotypes in immunoglobulin A nephropathy,” *Nephrol. Dial. Transplant.*, vol. 37, no. 2, pp. 318–325, 2022, doi: 10.1093/ndt/gfaa356.
- [13] J. Gao *et al.*, “Association of interleukin-10 polymorphisms (rs1800872, rs1800871, and rs1800896) with predisposition to IgA nephropathy in a Chinese han population: A case-control study,” *Kidney Blood Press. Res.*, vol. 42, no. 1, pp. 89–98, 2017, doi: 10.1159/000471899.
- [14] Y. Y. Wang *et al.*, “Functional implications of regulatory B Cells in Human IgA Nephropathy,” *Scand. J. Immunol.*, vol. 79, no. 1, pp. 51–60, 2014, doi: 10.1111/sji.12128.
- [15] Y. Wang *et al.*, “Functional Implications of Regulatory B Cells in Human IgA Nephropathy,” pp. 51–60, 2013, doi: 10.1111/sji.12128.
- [16] Q. Bian *et al.*, “Mesangioproliferative Kidney Diseases and Platelet-Derived Growth Factor-Mediated AXL Phosphorylation,” *Kidney Med.*, vol. 3, no. 6, pp. 1003-1013.e1, 2021, doi: 10.1016/j.xkme.2021.06.007.
- [17] M. Yang, J. W. Liu, Y. T. Zhang, and G. Wu, “The Role of Renal Macrophage , AIM , and TGF- b 1 Expression in Renal Fibrosis Progression in IgAN Patients,” vol. 12, no. June, pp. 1–11, 2021, doi: 10.3389/fimmu.2021.646650.
- [18] A. Segarra-Medrano *et al.*, “Value of urinary levels of interleukin-6, epidermal growth factor, monocyte chemoattractant protein type1 and transforming growth factor  $\beta$ 1 in predicting the extent of fibrosis lesions in kidney biopsies of patients with IgA nephropathy,” *Nefrologia*, vol. 37, no. 5, pp. 531–538, 2017, doi: 10.1016/j.nefro.2016.11.017.
- [19] L. Zhang *et al.*, “Plasma gelsolin induced glomerular fibrosis via the TGF- $\beta$ 1/smads signal transduction pathway in IgA nephropathy,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 18, no. 2, 2017, doi: 10.3390/ijms18020390.
- [20] P. Wang *et al.* "Long noncoding RNA *lnc-TSI* inhibits renal fibrogenesis by negatively regulating the TGF- $\beta$ /Smad3 pathway" *Sci Transl Med*, vol. 2039, no. October, pp. 1–

- 14, 2018.
- [21] T. G. Lopes *et al.*, “Markers of renal fibrosis: How do they correlate with podocyte damage in glomerular diseases?,” *PLoS One*, vol. 14, no. 6, pp. 1–21, 2019, doi: 10.1371/journal.pone.0217585.
- [22] T. Shindo, S. Doi, A. Nakashima, K. Sasaki, K. Arihiro, and T. Masaki, “TGF- $\beta$ 1 promotes expression of fibrosis-related genes through the induction of histone variant H3.3 and histone chaperone HIRA,” *Sci. Rep.*, vol. 8, no. 1, pp. 1–13, 2018, doi: 10.1038/s41598-018-32518-8.
- [23] O. Z. Sahin *et al.*, “Prognostic value of glomerular C4d staining in patients with IgA nephritis,” *Int. J. Clin. Exp. Pathol.*, vol. 7, no. 6, pp. 3299–3304, 2014.
- [24] C. Heybeli, M. Unlu, S. Yildiz, C. Çavdar, S. Sarioglu, and T. Camsari, “IgA nephropathy: Association of C4d with clinical and histopathological findings and possible role of IgM,” *Ren. Fail.*, vol. 37, no. 9, pp. 1464–1469, 2015, doi: 10.3109/0886022X.2015.1077319.
- [25] M. Espinosa *et al.*, “Association of C4d deposition with clinical outcomes in IgA nephropathy,” *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.*, vol. 9, no. 5, pp. 897–904, 2014, doi: 10.2215/CJN.09710913.
- [26] A. Segarra *et al.*, “Mesangial C4d deposits in early IgA nephropathy,” *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.*, vol. 13, no. 2, pp. 258–264, 2018, doi: 10.2215/CJN.02530317.
- [27] G. E. Tasar, M. Uzerk Kibar, O. Dag, Y. Erdem, D. Ertoy Baydar, and A. Saglam, “Cytoplasmic WT1 in IgA nephropathy, an indicator of poor prognosis associated with mesangial/peri-mesangial C4d,” *Int. Urol. Nephrol.*, 2022, doi: 10.1007/s11255-022-03357-4.
- [28] S. Worawichawong *et al.*, “Distribution pattern of mesangial C4d deposits as predictor of kidney failure in IgA nephropathy,” *PLoS One*, vol. 16, no. 6 June, pp. 1–16, 2021, doi: 10.1371/journal.pone.0252638.
- [29] K. Tomaszewski and L. Herlitz, “Complement detection in kidney biopsies – utility and challenges C3,” pp. 1–8, 2023, doi: 10.1097/MNH.0000000000000872.
- [30] Z. Wang *et al.*, “Complement Activation Is Associated With Crescents in IgA Nephropathy,” *Front. Immunol.*, vol. 12, pp. 565–572, 2021, doi:

10.3389/fimmu.2021.676919.

- [31] P. Boor, F. Eitner, C. D. Cohen, M. T. Lindenmeyer, P. R. Mertens, and T. Ostendorf, “Patients with IgA nephropathy exhibit high systemic PDGF-DD levels,” no. April, pp. 2755–2762, 2009, doi: 10.1093/ndt/gfp152.
- [32] K. Ebefors *et al.*, “Mesangial cells from patients with IgA nephropathy have increased susceptibility to galactose-deficient IgA1,” *BMC Nephrol.*, pp. 1–11, 2016, doi: 10.1186/s12882-016-0251-5.
- [33] D. Pap *et al.*, “Characterization of IL-19, -20, and -24 in acute and chronic kidney diseases reveals a pro-fibrotic role of IL-24,” *J. Transl. Med.*, vol. 18, no. 1, pp. 1–15, 2020, doi: 10.1186/s12967-020-02338-4.
- [34] D. Catalán *et al.*, “Immunosuppressive Mechanisms of Regulatory B Cells,” *Front. Immunol.*, vol. 12, no. April, pp. 1–30, 2021, doi: 10.3389/fimmu.2021.611795.
- [35] Z. Zhang *et al.*, “Serum Levels of Soluble ST2 and IL-10 Are Associated with Disease Severity in Patients with IgA Nephropathy,” vol. 2016, 2016.
- [36] J. Hou, L. Zhang, H. Wu, P. Gao, and Z. Xu, “International Immunopharmacology Increased Tim-3 + monocytes / macrophages are associated with disease severity in patients with IgA nephropathy,” *Int. Immunopharmacol.*, vol. 97, no. April, p. 107666, 2021, doi: 10.1016/j.intimp.2021.107666.

