



**T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ  
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Membranöz Glomerülo nefritlerde M-tipi Fosfolipaz A2  
Reseptörüne Karşı Geliştirilmiş Anti-PLA2R Antikoru nun  
İmmünflöresan Yöntem ile Uygulanması  
(Etyopatogeneze Yaklaşım ve Klinikopatolojik Korelasyon)**

**Dr. Nalan Turan GÜZEL**

**(Uzmanlık Tezi)**

**Tez danışmanı: Prof. Dr. Işın KILIÇASLAN**

**İSTANBUL**

**2015**





T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ  
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**Membranöz Glomerülo nefritlerde M-tipi Fosfolipaz A2  
Reseptörüne Karşı Geliştirilmiş Anti-PLA2R Antikoru nun  
İmmünflöresan Yöntem ile Uygulanması  
(Etyopatogeneze Yaklaşım ve Klinikopatolojik Korelasyon)**

**Dr. Nalan Turan GÜZEL**

**(Uzmanlık Tezi)**

**Tez danışmanı: Prof. Dr. Işın KILIÇASLAN**

İSTANBUL

2015

*Bu tez çalışması İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.*

*(Proje No: 50489)*

## ÖNSÖZ

*İÜ İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'ndaki eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım ve üzerimde emeği olan başta Anabilim Dalı başkanımız Prof. Dr. Emine Dilek YILMAZBAYHAN olmak üzere tüm hocalarıma ve uzmanlarıma,*

*Uzmanlık eğitimim boyunca ve tez dönemim boyunca ilminden faydalandığım, sahip olduğu insani değerleri ile desteğini her zaman hissettiğim ve ayrıca bana göstermiş olduğu sonsuz hoşgörü ve sabrından dolayı tez danışmanım, değerli hocam Prof. Dr. Işın Kılıçaslan'a,*

*Yardım, öneri ve istatistiksel değerlendirme aşamasındaki katkıları ile tezime destek veren, Doç. Dr. Mesude Yasemin ÖZLÜK'e,*

*İÜ İstanbul Tıp Fakültesi Nefroloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Aydın TÜRKMEN'e,*

*İÜ İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Nefroloji Bilim Dalı'nda yan dal uzmanlık eğitimini tamamlayan ve yardımlarını hiç esirgemeyen Uzm. Dr. Özgür Akın OTO'ya,*

*Elektron mikroskopi incelemeleri ve resimler için İÜ İstanbul Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Seyhun SOLAKOĞLU'na,*

*İmmünflöresan çalışma boyunca titizlikle çalışan Sn. Fatma AY ve Sn. Cengizhan ARTUK'a, immünflöresan çalışmaya desteği dışında kesitlerin hazırlanmasında da katkısı bulunan Sn. Jülide Öz HOCAOĞLU'na, histokimyasal çalışmalardaki katkılarından dolayı Sn. Leyla YÜKSEL'e,*

*Arşiv çalışmalarındaki yardımlarından dolayı Sn. Balabey KALAÇA'ya,*

*Geride kalanlar ve gidenler de dahil birlikte çalıştığım tüm asistan arkadaşlarım, laboratuvar çalışanı arkadaşlarım ve diğer tüm çalışanlarımıza,*

*Tezin her aşamasında teknik konularda desteğini esirgemeyen eşim Sn. Engin GÜZEL'e,*

*Desteklerini her zaman hissettiğim, her koşulda yanımda olan anneme ve babama,*

*Ve bu süreçte özlemini en çok duyduğum, küçük yaşına rağmen büyük sabır gösteren kızıma, ZEYNEP'e teşekkür ederim.*

Dr. Nalan Turan GÜZEL

İstanbul 2015

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa No

<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>i</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>ii</b>
<b>TABLO LİSTESİ</b> .....	<b>iii</b>
<b>RESİM LİSTESİ</b> .....	<b>iv</b>
<b>KISALTMALAR</b> .....	<b>iv</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>6</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>8</b>
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇLAR</b> .....	<b>10</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>13</b>
2.1. PRİMER MEMBRANÖZ GLOMERÜLONEFRİT .....	13
2.1.1.Tanımlı ve Terminolojisi.....	13
2.1.2.Tarihçe.....	13
2.1.3.Epidemiyoloji .....	14
2.1.4.Klinik Bulgular .....	14
2.1.5.Morfolojik Bulgular .....	17
2.1.5.1. Işık Mikroskopik Bulgular .....	18
2.1.5.2. İmmünlöresan Mikroskopik Bulgular .....	19
2.1.5.3. Elektron Mikroskopik Bulgular.....	20
2.1.6.Ayrılcı Tanı .....	21
2.1.7.Tedavi.....	22
2.1.8.Etyoloji ve Patogenez.....	23
2.2. SEKONDER MEMBRANÖZ GLOMERÜLONEFRİT.....	28
<b>3. ARAŞTIRMADA KULLANILAN BELİRTEÇLER İLE İLGİLİ GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>29</b>
3.1. ANTI FOSFOLİPAZ A2 RESEPTÖR (PLA2R) ANTİKORU .....	29
3.2. ALEXA FLUOR® 488 (GOAT ANTI-RABBİT IgG H&L).....	30
<b>4. GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	<b>31</b>
<b>5. BULGULAR</b> .....	<b>33</b>
5.1. PRİMER MEMBRANÖZ GLOMERÜLONEFRİT .....	41
5.2. SEKONDER MEMBRANÖZ GLOMERÜLONEFRİT.....	43
5.3. IgA NEFROPATİSİ .....	43
<b>6. TARTIŞMA</b> .....	<b>46</b>
<b>7. SONUÇLAR</b> .....	<b>57</b>
<b>8. KAYNAKLAR</b> .....	<b>65</b>
<b>9. ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>76</b>

## TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
<b>Tablo 1:</b> Çalışmada kullanılan antikorların özellikleri.....	32
<b>Tablo 2:</b> Çalışmaya alınan hastaların demografik özellikleri ve çalışma sonuçları.....	35
<b>Tablo 3:</b> Hastaların gruplara göre dağılımı ve araştırma sonuçlarının değerlendirilmesi...	42
<b>Tablo 4:</b> İndirekt İF yöntemle Anti-PLA2R antikor boyanma şiddeti, serum Anti-PLA2R antikor titrasyonu ve hastalık evresi arası ilişki.....	43
<b>Tablo 5:</b> İndirekt İF inceleme ve Serum Anti-PLA2R antikor ölçümlerinin sensitivite ve spesifite değerleri.....	45

## RESİM LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
<b>Resim 1:</b> Membranöz glomerülo nefritte histopatolojik bulgular .....	59
<b>Resim 2:</b> Membranöz glomerülo nefritte elektron mikroskopik görünüm. ....	60
<b>Resim 3:</b> Evre 1 membranöz glomerülo nefritte immünflöresanda IgG ve Anti-PLA2R antikoruna ile boyanma. ....	61
<b>Resim 4:</b> Evre 2 ve evre 3 membranöz glomerülo nefrit, immünflöresanda IgG ve Anti-PLA2R antikoruna ile boyanma.....	62
<b>Resim 5:</b> Membranöz tipte lupus nefriti, immünflöresanda IgG ve Anti PLA2R antikoruna ile boyanma .....	63
<b>Resim 6:</b> IgA nefropatisi, immünflöresanda IgA ve Anti-PLA2R antikoruna ile boyanma .....	64

## KISALTMALAR

<b>MGN</b>	: Membranöz glomerülonefrit
<b>IgA</b>	: İmmünglobulin A nefropatisi
<b>FSGS</b>	: Fokal segmental glomerüloskleroz
<b>SLE</b>	: Sistemik lupus eritematozus
<b>SDBH</b>	: Son dönem böbrek hastalığı
<b>GBM</b>	: Glomerüler bazal membran
<b>EM</b>	: Elektron mikroskopi
<b>İF</b>	: İmmünflöresan
<b>NEP</b>	: Nötral endopeptidaz
<b>PLA2R</b>	: Fosfolipaz A2 reseptörü
<b>PAS</b>	: Periodic acid-Schiff
<b>HBV</b>	: Hepatit B virüsü
<b>İFTA</b>	: İnterstisyel fibrozis, tübüler atrofi
<b>H&amp;E</b>	: Hematoksilen&eozin
<b>MT</b>	: Masson trikrom
<b>MAC</b>	: Membran atak kompleksi
<b>CRPs</b>	: Kompleman regülatuar proteinler
<b>BSA</b>	: Bovin serum albümin
<b>PBS</b>	: Fosfat buffer solüsyon

## ÖZET

Membranöz glomerülonefrit (MGN), erişkinlerde görülen nefrotik sendromun sık nedenlerinden biri olmaya devam etmektedir. Hastalığın doğal seyrinde sıklıkla spontan regresyon görülse de üçte bir hasta son dönem böbrek hastalığına ilerleme görülmektedir.

Membranöz glomerülonefrit primer olabileceği gibi, otoimmün hastalıklar, maligniteler, enfeksiyonlar ve bazı ilaçların kullanımına sekonder olarak da ortaya çıkabilir. Bazı istisnalar hariç primer ve sekonder MGN formlarının histomorfolojik bulguları benzer ve hatta aynıdır. Bu nedenle primer MGN tanısı, sekonder nedenlerin tümüyle dışlanması ile mümkün olmaktadır. Bu da hem zaman kaybına yol açmakta hem de oldukça fazla mali bir yüke neden olmaktadır. Ayrıca hastanın tedavisi gecikebilmektedir. Sekonder MGN tedavisi altta yatan nedenin tedavisine bağlı iken, primer MGN hastalarında potansiyel yan etkileri fazla olan immünsüpresif tedaviler tercih edilmektedir.

Primer MGN'nin patogenezinin dair bilgilerin büyük kısmı deneysel bir hayvan çalışması olan Heymann nefriti modeline dayanmaktaydı. Ancak Debiec ve ark.'larının 2002 yılında Anti-NEP antikorlarını tanımlaması ve Beck ve ark.'larının 2009 yılında Anti-PLA2R antikorunu tanımlamasıyla birlikte, hastalığın patogenezinin dair büyük bir ilerleme kaydedildi. Bunu Anti-PLA2R antikorunun primer MGN patogenezinde önemli role sahip olduğu ve bu hastalığın tanısında kullanılabileceğini gösteren pek çok çalışma yapıldı.

Bu çalışmadaki amacımız, 2000-2014 yılları arasında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda böbrek biyopsileri incelenmiş ve primer MGN, sekonder MGN ve IgA nefropatisi tanısı almış hastalarda Anti-PLA2R antikor ekspresyonunu araştırmak, primer ve sekonder MGN ayırıcı tanısını yapabilmektir. Böylece hastalara gereksiz tetkiklerin yapılmasını ve sekonder MGN grubunda gereksiz immünsüpresif tedavi verilmesinin önüne geçebilmektir.

2000-2014 yılları arasında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda böbrek biyopsileri değerlendirilmiş 87 primer MGN, 21 sekonder MGN ve 32 IgA nefropatisi tanısı almış toplam 140 hasta üzerinde retrospektif kesitsel bir çalışma yapıldı. Çalışmaya alınan vakaların 104'ünün serum Anti-PLA2R antikor seviyelerine ait bilgi, İstanbul Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı'nda yan dal uzmanlık eğitimini tamamlamış Uzm. Dr. Özgür Akın Oto'nun proje numarası 26603-2013 olan yan dal uzmanlık tezinden elde edildi. Elde edilen kesitlere primer antikor olarak Anti-PLA2R antikor ve sekonder antikor olarak Alexa fluor 488 (Goat anti-rabbit IgG (H+L)) uygulandı. Tüm hastaların İmmünflöresan mikroskopik değerlendirmeleri tanılarını bilmeden yapıldı. Primer ve sekonder MGN hastalarında Anti-PLA2R antikorunun sensitivite ve spesifitesi belirlendi. Primer MGN grubunda biyopside Anti-PLA2R antikor ekspresyonu ve serumda Anti-PLA2R antikor varlığı arasındaki korelasyon belirlendi.

Çalışmaya dahil olan primer MGN tanılı hastaların yaş ortalaması 49 olarak bulundu. Primer MGN hastalarında erkek baskınlığı olup, hastaların %64,4'ü erkekti. Primer MGN hastalarının ortalama proteinüri değeri 6,7 gr/gündü. Bizim çalışmamıza dahil olan primer MGN hastalarının %62,3'ünde serumda Anti-PLA2R antikor varlığı saptanırken, sekonder

MGN ve IgA nefropatisi tanılı grupta serumda antikor izlenmemiştir. Primer MGN tanılı hastaların %88,5'inde biyopsi örneklerinde Anti-PLA2R antikor ekspresyonu izlendi. Sekonder MGN hastalarında bu oran % 14,3 iken, IgA nefropatisi tanılı grupta %6,3 olarak izlendi.

Serumda Anti-PLA2R antikor varlığı için sensitivite %62, spesifite %100 olarak bulundu. Biyopsi örneklerinde Anti-PLA2R antikor ekspresyonunun sensitivitesi %88,5, spesifitesi %85,7 olarak bulundu. Sonuç olarak serum ve dokunun beraber değerlendirilmesi durumunda primer MGN için sensitivite oranının %92,7'ye ulaştığı gözlemlendi.

Biyopside Anti-PLA2R antikor varlığının gösterilmesi, primer MGN tanısı koymada önemli bir yere sahiptir. Anti-PLA2R antikorunun hem serumda hem de biyopsi örneklerinde birlikte değerlendirilmesi, primer ve sekonder MGN ayırıcı tanısına gitmekte daha faydalı olacaktır. Hastaların serum örnekleri mutlaka biyopsi örnekleme sırasında alınmalıdır. Bu şekilde örnekleme daha doğru sonuçlar verecektir.

MGN ön tanısı bulunan hastalarda Anti-PLA2R antikorunun değerlendirilmesi, hastaların ayırıcı tanılarının yapılabilmesi ve tedavilerinde yönlendirici olması açısından oldukça etkin bir yöntem olarak kullanılmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Anti-PLA2R antikoru, membranöz glomerülonefrit, immünflöresan

## SUMMARY

Membranous glomerulonephritis (MGN) has been one of the major causes of nephrotic syndrome in adults. Although spontaneous remission is frequent in natural course of this disease, one third of the patients progress to end-stage renal insufficiency.

Membranous glomerulonephritis can be of primary origin as well as secondary to autoimmune diseases, malignancies, infections, and some drugs. Excluding some special conditions, histomorphological findings of primary and secondary MGN are similar or almost identical. Hence, primary MGN could be determined after excluding the secondary causes totally. This process is time consuming and needs financial burden. Also, treatment of the patient is delayed because treatment of secondary MGN is the treatment of the underlying cause while treatment of the primary MGN is immunosuppressive treatment with high potential of side effects.

Until 2002, most of the information on the pathogenesis of membranous glomerulonephritis stand on an experimental animal study of Heymann's nephritis model. However, a significant progress on understanding the pathogenesis of MNG has been achieved after identification of anti-NEP antibodies by Debiec et al. in 2002 and anti-PLA2R antibodies by Beck et al. in 2009. Since then, many studies demonstrated that anti-PLA2R antibodies were important in the pathogenesis of primary MGN.

In this study, we aimed to make the differential diagnosis of primary and secondary MGN by investigating anti-PLA2R antibodies in the kidney biopsies and patient's sera. The study included patients who were diagnosed to have primary or secondary MGN, or IgA nephropathy based on the renal biopsies in Department of Pathology in Istanbul Faculty of Medicine of Istanbul University. This investigation is expected to help in avoiding unnecessary diagnostic procedures and administration of immunosuppressive treatment to the patients with secondary MGN.

A cross sectional retrospective analysis was held in a total of 140 patients who were diagnosed to have primary MGN in 87, secondary MGN in 21, and IgA nephropathy in 32 patients between 2000 and 2014.

The information on Anti-PLA2R antibody titers of 104 cases were obtained from a thesis project of a nephropathology fellow had his fellowship in Department of Nephrology, Istanbul Faculty of Medicine. Immunofluorescence microscopic evaluation was performed by two pathologists who were blinded to the diagnosis of the patients. The sensitivity and specificity of anti-PLA2R antibody were determined in the patients with primary or secondary MGN, and correlation was determined between anti-PLA2R antibody expression in biopsies and anti- PLA2R antibody titers in sera of the primary MGN group.

The mean age of the patients with primary MGN was 49 years. Males comprised %64,4 of the study population. The mean value for proteinuria was 6.7 g/day. In this study, anti-PLA2R antibody was detected in sera of 62.3% of primary MGN patients while no antibody was detected in the patients with secondary MGN or IgA nephropathy. Anti-PLA2R

antibody expression were detected 88,5% of the primary MGN patients. Anti-PLA2R expression was 14.3% and 6.3% in secondary MGN and IgA nephropathy, respectively.

The sensitivity and specificity of the presence of Anti-PLA2R antibody in sera was 62% and 100%, respectively, whereas, the sensitivity and specificity of Anti-PLA2R antibody expression in biopsies was 88.5% and 85.7%, respectively. As a conclusion, sensitivity reached 92.7% when sera and biopsies were evaluated together.

The demonstration of Anti-PLA2R antibody in biopsy is important to diagnose primary MGN. Evaluation of Anti-PLA2R antibody in sera and biopsies together will be useful to make a differential diagnosis between primary and secondary MGN. More definite results could be achieved if sera is tested at the time of biopsy with IF testing.

Evaluation of Anti-PLA2R antibody in the patient with pre-diagnosis of MGN should be used as an efficient tool to make the differential diagnosis and guide the treatment.

**Key words:** Anti-PLA2R antibody, membranous glomerulonephritis, immunofluorescence.

## 1. GİRİŞ VE AMAÇLAR

Membranöz glomerülonefrit (MGN), erişkinlerde görülen nefrotik sendromun sık rastlanan bir nedenidir (1-10). Amerika Birleşik Devletleri'nde Asya kökenli erişkin hastalarda nefrotik sendromun en sık nedeni MGN iken, Afrika kökenli erişkin hastalarda fokal segmental glomerüloskleroz (FSGS) en sık nedendir (11,12). Erişkinlerdeki böbrek biyopsilerinin %6-10'u, çocuklardaki böbrek biyopsilerinin yaklaşık % 3'ü MGN tanısı almaktadır (13). Primer olabileceği gibi, otoimmün hastalıklar, maligniteler, infeksiyonlar ve bazı ilaçların kullanımına sekonder olarak da ortaya çıkabilir (14,15). Glassock,1992 yılında incelediği 9 vaka serisi içinde hastaların %23'ünün sekonder nedenlere bağlı olarak ortaya çıktığını görmüştür (14). Bu grup içerisinde de 16 yaşından küçük ve 60 yaşından büyük erişkinlerde sekonder MGN prevalansı %35, 16-60 yaş arası erişkinlerde ise %20 olarak bulunmuştur (14). Primer MGN çocuklarda daha seyrek olarak görülür. Çocukluk yaş grubunda sekonder MGN formları daha sık görülmektedir ve sıklıkla da Sistemik lupus eritematozus (SLE) ile bağlantılıdır (14). Hem erişkin hem de çocuk yaş grubunda erkeklerde iki kat daha sık görülmektedir (8,16). Uzun dönemde hastaların %40-50'sinde son dönem böbrek hastalığı (SDBH) gelişir (7,8,14,17,18).

Membranöz glomerülonefrit patolojik olarak glomerüler bazal membranın (GBM) subepitelyal yüzeyinde in-situ immün kompleks birikimi ile karakterize bir hastalıktır. Otoimmün glomerüler hastalıkların prototipidir (7,8,19). Bu birikime değişik derecelerde GBM kalınlaşması eşlik eder. Mezangiyal hücre proliferasyonu veya inflamatuvar hücre infiltrasyonu görülmez (8,17). Işık mikroskopik incelemede GBM'da kalınlaşma izlenirken, elektron mikroskopik (EM) incelemede subepitelyal alanda elektron yoğun birikimler ve immünflöresan (İF) incelemede kapiller duvar boyunca granüler birikimler izlenir (1-5).

İkibinli yılların başına kadar hastalığın patogenezinine dair bilgilerin büyük kısmı podositlerdeki hedef antijenin megalin olduğu deneysel bir hayvan çalışması olan Heymann nefriti modeline dayanmaktaydı (8,20). Ancak ne insan podositlerinde ne de MGN'li hastaların böbrek biyopsilerinde immün birikimler içinde megalin varlığı gösterilememiştir (8,20). Debiec ve ark.'ları, 2002 yılında Nötral endopeptidaz (NEP) eksikliği olan ve sensitize

olmuş bir annenin MGN tanısı alan bebeğinde Anti-NEP antikorlarını tespit etmişlerdir (21). Böylece Heymann antijeninin insandaki ilk benzerini tanımlayarak, MGN patogenezinin anlaşılmasında anlamlı bir ilerleme sağlamışlardır (21). Beck ve ark.'ları ise 2009 yılında primer MGN hastalarında majör antijeni tanımlayarak bu alanda bir devrime imza atmışlardır (10). Bu çalışmada hastalardan alınan serum örneklerinin %70'inde Western blot yöntemi ile yeni bir protein bandı tespit etmişlerdir. Mass spektrometre ile yapılan çalışma sonucunda bu yeni proteinin M-tipi fosfolipaz A2 reseptörü (PLA2R) olduğunu ve hasta serumlarında bu reseptöre karşı gelişmiş Anti-PLA2R antikorunu bulunduğunu tespit etmişlerdir (1,7-10,17). Sekonder nedenlere bağlı MGN, diğer böbrek hastalıkları ve sağlıklı bireylere ait serum örneklerinde ise bu antikor tespit edilmemiştir. Ayrıca Anti-PLA2R antikorunu serum seviyeleri ile proteinüri seviyesi arasında da korelasyon olduğunu tespit etmişlerdir (10). Bundan sonra yapılan çalışmalarda, Anti-PLA2R antikor düzeyinde düşme ile beraber proteinüri seviyesinde azalma ve remisyona saptanırken, antikor düzeylerinde artış ile relaps arasında ilişki olduğu tespit edilmiştir (22,23). Debiec ve Ronco 2011 yılında, primer MGN tanısı almış 42 hastada serumda ve dokuda indirekt İF yöntem ile Anti-PLA2R antikor seviyesi ve ekspresyonunu araştırmışlar ve hastaların %57'sinde serumda ve %74'ünde dokuda reaktivite saptamışlardır (24).

Yeni gelişmelerle birlikte yeni tedavi seçenekleri de gündeme gelmiştir. Yapılan çalışmalarda Ritüksimab tedavisi ile hastaların %68'inde serumda Anti-PLA2R seviyelerinde azalma ve hatta kayıp tespit edilmiştir (25,26). Bu grup hastada relaps oranları da standart protokollere göre daha düşük bulunmuştur (25,26).

Vakaların çoğu primer olmakla birlikte, MGN pek çok diğer duruma sekonder olarak da ortaya çıkabilir (17). Bazı istisnalar dışında primer ve sekonder MGN formlarının patolojileri benzer ve hatta aynıdır. Bu nedenle primer MGN tanısı koymak için sekonder etyolojilerin çok dikkatli bir şekilde dışlanması gerekmektedir. Bu şu anlama gelmektedir. Nefrotik sendrom kliniği ya da proteinüri ile başvuran bir hastanın böbrek biyopsisinde MGN tanısı konulduğunda, sekonder etyolojilere (otoimmün hastalıklar, kollajen doku hastalıkları, maligniteler, infeksiyonlar gibi) yönelik ayrıntılı bir klinik araştırma gerekmektedir. Bu da hem zaman almakta hem de oldukça fazla mali bir yük getirmektedir. Ayrıca hastanın tedavisi de bu inceleme sonuçlarına göre şekillenmektedir.

Bu çalışmadaki amaç, 2000-2014 yılları arasında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda böbrek biyopsileri değerlendirilmiş, MGN ve IgA

nefropatisi tanısı almış bir grup hastaya ait parafin bloklarda retrospektif olarak indirekt İF yöntem ile Anti-PLA2R antikor ekspresyonunu araştırmaktır. MGN tanısı almış grupta primer ve sekonder vakaların Anti-PLA2R antikor ekspresyonunu karşılaştırmak, serum antikor seviyeleri bilinen hastalarda dokudaki immünreaktivite ve serum seviyeleri arasında korelasyon olup olmadığını belirlemek, hastaların proteinüri seviyeleri ile antikor ekspresyonu ve ekspresyonun şiddeti arasında ilişki olup olmadığını incelemektir. Sonuç olarak primer ve sekonder MGN ayırıcı tanısına gidilerek sekonder etyolojilere yönelik yapılacak tetkik miktarını azaltmak ve uygulanacak tedavinin seçiminde yönlendirici olabilmektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. PRİMER MEMBRANÖZ GLOMERÜLONEFRİT

#### 2.1.1. Tanımı ve Terminolojisi

MGN, nefrotik sendromun erişkinlerde görülen en sık nedenlerindedir (1-6,9). GBM'in subepitelyal yüzünde immün kompleks birikimi ile karakterize otoimmün bir hastalıktır (1-6,8,16). Subepitelyal alanda in-situ immün kompleks birikimi ve bunun sonucunda oluşan kompleman aktivasyonu ile GBM yapısında değişme ve kalınlaşma, filtrasyon bariyerinde hasar ve tüm bu değişikliklere bağlı olarak proteinüri ortaya çıkar (1-6,9,17). Uzun dönemde hastaların %40-50'sinde son dönem böbrek hastalığı gelişir (7,8,17,18).

Membranöz nefropati, membranöz glomerülopati ve daha seyrek olarak da epimembranöz nefropati/ekstramembranöz nefropati olarak isimlendirilir. Glomerülonefritlerin tipik özelliklerini taşımasa da en sık olarak membranöz glomerülonefrit tanımı kullanılmaktadır. Ancak, otoimmün patogeneze, hastalığın oluşumunda antijen-antikor komplekslerinin kritik rolü, serum kompleman fiksasyonu, C5b-9 membran atak kompleksi oluşumu ve hastalığın progresif seyri gözönüne alındığında başka bir isimlendirme yapılmasının gerekliliği gündeme gelmiştir (1,17).

#### 2.1.2. Tarihçe

MGN terimi ilk defa 1946 yılında Bell tarafından kullanılmıştır (17). Bell, 'Ellis tip II' nefrotik glomerülonefrit tanısı almış bir grup hasta içinde sınıflandırılan, ancak daha sinsi ve yavaş başlangıçlı, belirgin proteinüri ve ödem bulguları olan hastalarda MGN tanımlamasını kullanmıştır (17). 1957'de bir renal patolog olan David Jones, Periodic acid-Schiff (PAS) ve Jones Methenamin Silver (JMS) boyalarını geliştirip, kullanarak GBM'deki yapısal değişiklikleri saptamış ve MGN'i ayrı bir klinikopatolojik antite olarak tanımlamıştır (17,27). Movat ve ark.'ları 1959 yılında, Farquhar ve ark.'larının 1957 yılında (28) öncülük ettiği EM çalışmaları ile GBM dikensi çıkıntıları arasında subepitelyal yerleşimli elektron yoğun

birikimleri saptamışlardır (17). Yine 1959 yılında Mellars ve ark.'ları İF teknikleri kullanarak elektron yoğun birikimler içinde immünglobulinlerin varlığını göstermişlerdir (17,29). Böylece yeni gelişen teknolojilerin kullanımı ile 2 yıllık süreç içinde MGN'in önemli tanısal özellikleri; GBM'da meydana gelen yapısal değişiklikler, elektron yoğun birikimler ve bu birikimler içinde immünglobulinlerin varlığı ortaya çıkarılmıştır. Bu üç özellik günümüzde de MGN'in ana tanımlayıcı özellikleridir. Tüm bu bulgulardan sonra hastalığın doğal seyri, sonuçları ve tedavi yaklaşımları ile ilgili çalışmalar hız kazanmıştır (17).

### 2.1.3. Epidemiyoloji

MGN, nefrotik sendromun sık rastlanan bir nedenidir (1-10,30). MGN, erişkinlerdeki nefrotik sendromun en sık nedenlerinden iken, çocuklarda görülen nefrotik sendromların %5'inden azını oluşturur (14,31,32) İnsidansı 10/1.000.000/yıldır (6). Erişkin hayat boyunca tüm yaşlarda görülebilir de en sık 4. ve 5. dekatta görülmektedir (33,34,35). Ortalama görülme yaşı 40-62'dir (33,34,35). Çocukluk yaş grubunda sekonder MGN formları daha sık görülmektedir ve en sık olarak da SLE'a sekonder olarak ortaya çıkmaktadır (14,31,32). Hem erişkin hem de çocukluk yaş grubunda erkeklerde iki kat daha sıktır (8,16). Çoğu hastada yavaş bir progresyon izlense de, hastaların yaklaşık %40'ı SDBH'na ilerleme gösterir (36). MGN, SDBH'na ilerleyen primer glomerülofritler arasında 2. veya 3. sırada yer alır (8,37).

Yakın zamanda yapılmış genetik çalışmalar da primer MGN'in patogenezinin anlaşılmasına katkı sağlamıştır (38-40). Genome-wide association study (GWAS), primer MGN tanısı almış Asya kökenli 500 Avrupalı hastada tek nükleotid polimorfizmini incelemiş ve kromozom 2q24 üzerindeki PLA2R1 geni ve kromozom 6p21 üzerindeki HLA-DQA1 geni ile anlamlı bağlantı bulmuştur (38). Ayrıca PLA2R1 genindeki tek nükleotid polimorfizminin artmış hastalık riski ile bağlantılı olduğuna dair kuvvetli kanıtlar elde edilmiştir (38-40).

### 2.1.4. Klinik Bulgular

MGN, Asya kökenli erişkinlerde görülen nefrotik sendromun en sık nedenidir (11,12). Hastaların yaklaşık %75'inde başvuru esnasında nefrotik sendrom tablosu izlenir (33-35). Ancak bu oran değişik toplumlarda proteinüri takip programlarına göre farklılık gösterebilir. Nefrotik sendrom tablosu en sık prezentasyon şekli olmakla birlikte, hastalarda böbrek yetersizliği, hematüri ve hipertansiyon da görülebilir (33-35,41). Proteinüri genellikle non-

selektiftir (42). Veri tabanı niteliğinde olan çalışmalarda 24 saatlik idrarda ortalama protein değeri 6,5 gr/gün olarak bulunmuştur (33-35,41,43). Yine bu araştırmalara göre başvuru esnasında ortalama kreatinin değeri 0,9-1,3mg/dl, ortalama kreatinin klirensi 76-107ml/min/1.73 m<sup>2</sup> olarak bulunmuştur (33-35,41,43). Hastaların yaklaşık %25'inde böbrek yetersizliği, yaklaşık %50'sinde de mikroskopik hematüri görülmüştür (33-35,41). Makroskopik hematüri nadiren görülür. Makroskopik hematüri varlığında böbreği veya genitoüriner sistemde farklı bir bölgeyi etkileyen başka hastalıklar düşünülmelidir. Benzer şekilde MGN hastalarında hipokomplementemi de beklenen bir özellik değildir. Eğer hipokomplementemi varsa sekonder etyolojiler, özellikle de membranöz lupus nefriti akla gelmelidir (32).

Çocukluk yaş grubunda sekonder MGN formları daha sık olarak görülmektedir. Bu yaş grubunda sekonder nedenler arasında da en sık SLE ve Hepatit B virüsü (HBV) enfeksiyonları yer almaktadır (14,31,32).

MGN, 60 yaşın üstündeki erişkinlerde nefrotik sendromun en sık nedenidir ve bu oran Bomback ve ark.'larının yaptığı bir çalışmada %32 olarak bulunmuştur (44).

Primer MGN'in seyri, başvuru sırasındaki klinik parametreler, patolojik bulguların şiddeti ve immünsüpresif tedavinin etkinliği ile ilişkilidir. 1975 yılında Row ve ark.'ları, 1975 yılında 5 yıllık veya ölene kadar takibi bulunan hastaları içeren ve yayınlanmış 12 seriyi incelemişlerdir. Bu çalışmaya alınmış olan 435 erişkin MGN'li hastanın 82'sinin (%19) böbrek yetersizliği nedeni ile öldüğü ve 69'unun (%16) ise remisyona girdiği izlenmiştir (45). MGN tanısı almış 82 çocuk hastanın ise 4'ünün (%4) öldüğü ve 40'ının (%49) remisyona girdiği izlenmiştir (45). Cameron'un 1979 yılında yaptığı çalışmada primer MGN tanısı alan hastaların %20'sinin 5 yıllık izlemde, %25'inin 10 yıllık izlemde, %30'unun ise 15 yıllık izlemde remisyona girdiği izlenmiştir (45). Donadio ve ark.'ları, 1988 yılında 140 MGN tanısı almış hastada yaptıkları araştırmada ise ilk 5 yıllık periyotta hastaların %29'unun, 10 yıllık periyotta ise %42'sinin öldüğü ya da SDBH'na ilerlediği görülmüştür (41).

MGN'teki klinik verilerin çeşitliliği göz önüne alındığında hastalığın seyrinin nasıl olacağı konusunda değişik genellemeler yapılabilir. MGN genellikle yavaş ilerleyen bir hastalıktır. Böbrek yetersizliği gelişse bile SDBH'na ilerleme yıllar alır. Genel olarak 10 yıllık takiplerde, hastaların yaklaşık üçte birinin spontan remisyona girdiği, üçte birinin SDBH'na ilerlediği ve üçte bir hastanın da sıklıkla böbrek yetersizliğinin de eşlik ettiği proteinürik hastalık evresinde kaldığı izlenmiştir (47). Persistan proteinüri evresinde kalan hastaların ise

takip eden ikinci 10 yıllık periyotta progrese olduğu izlenmiştir (46). Primer MGN tanısı alan hastalarda spontan remisyon oranının yüksek olması nedeni ile prognostik faktörlerin çok dikkatli gözden geçirilmesi gerekmektedir. Böylece hastalar gereksiz immünesüpresif tedaviden korunurlar. Bu nedenle tanı sırasında hastaların klinik ve patolojik prognostik faktörlerinin dikkatli bir şekilde gözden geçirilmesi gerekir. Patolojik prognostik faktörler arasında, ışık mikroskopik incelemede interstisyel fibrözis ve tübüler atrofi (İFTA), Fokal segmental glomerüloskleroz varlığı, arterioskleroz derecesi, mezangiyal skleroz ve global sklerotik glomerül yüzdesi; İF mikroskopide C3 boyanma yoğunluğu; EM'deki elektron yoğun birikimlerin heterojenitesi sayılabilir. Klinik prognostik faktörler içinde ise; serum kreatinin ve 24 saatlik idrarda protein miktarının yüksek olması, yaşlılık, erkek cinsiyet, serum Anti-PLA2R antikor seviyesinin yüksek olması, hipertansiyon varlığı, non-selektif proteinüri kötü prognostik faktörlerdir (48).

İFTA, diğer patolojik prognostik faktörlerden çok daha güçlü bir prognoz göstergesidir (48-52). Wehrmann ve ark.'larının 1989 yılında yaptığı çalışmada İFTA derecesinin proteinüriden daha iyi bir gösterge olduğu bulunmuştur (50).

MGN hastalarının yaklaşık %20'sinde FSGS bulunmaktadır ve negatif prognostik faktördür (48,53-55). FSGS lezyonları bulunan MGN hastalarında proteinüri seviyeleri daha yüksek, İFTA'nın derecesi daha fazla bulunurken, hastaların da daha ileri evre hastalar oldukları görülmüştür (49,53-55). Mezangiyal skleroz varlığı ve arteriosklerozun derecesi de kötü prognostik faktörlerdir (34,51).

Diğer tüm böbrek hastalıklarında olduğu gibi MGN'te de en güvenilir klinik prognostik faktörler renal fonksiyon ve proteinürinin derecesidir (34,35,41). Böbrek biyopsisi esnasında böbrek yetersizliği varlığı, progresif hastalık için önemli bir risk faktörüdür. (34,41,48,51).

Bunların dışında erkek cinsiyet, erişkin yaş, 60 yaş üstünde olmak, hipertansiyon varlığı ve idrarda IgG ve B2-mikroglobulin seviyelerinin yüksek olması kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (18).

Serum Anti-PLA2R antikor seviyeleri de prognostik öneme sahip olup, düşük seviyelerin klinik remisyonla bağlantılı olduğu gösterilmiştir (25,56).

### 2.1.5. Morfolojik Bulgular

MGN'teki patolojik bulgulara geçmeden önce glomerülün histolojisinden bahsetmek faydalı olacaktır.

Glomerül (renal korpüskül), Bowman kapsülü içinde yerleşim gösteren, mezangiyal hücreler tarafından desteklenen, mezangium içinde yerleşim gösteren kapiller topluluklarından oluşur (57). Erişkin bir insanda glomerüllerin ortalama çapı 200 µm'dir. Jukstamedüller glomerüller daha geniş çapa sahiptirler (57). Glomerüler kapillerler iki arteriyel sistem arasında kalmaları ile kapiller sistemde özel bir yere sahiptirler. Glomerüler kapillerlerin bu özellikleri glomerüler filtrasyon için gerekli intravasküler basıncın sağlanması ve düzenlenmesi için gereklidir. Glomerüler yumak, mezangiyal matriks ve glomerüler kapiller halka bazal laminası tarafından desteklenir. Glomerül, epitelial hücreler, endotelial hücreler ve mezangiyal hücreler olmak üzere üç farklı hücre tipi içerir (57,58). Glomerülde podositler (viseral epitelial hücreler) ve pariyetal epitelial hücreler olmak üzere iki farklı epitelial hücre tipi vardır. Endotelial hücreler, glomerüler kapillerlerin iç yüzeyini döşerler. Mezangiyal hücreler mezangiyal matriks içine otururlar ve sayıları normal bir glomerülde mezangiyal alan başına en fazla iki tanedir (57,58). Tüm glomerüler hücreler rutin Hematoksilen-eozin (H&E) kesitlerde görülebilmekle birlikte, en iyi PAS boyasında ayırt edilirler. Gümüşlü boyalar sadece lamina densayı boyadığı için, GBM'nın ayrıntıları en iyi bu boyalarda izlenir (59).

Podositler, glomerülün en büyük hücreleridir. GBM sentezi ve tamiri, kapillerlere yapısal destek gibi görevleri vardır. Ayrıca filtrasyon fonksiyonunda ana komponenttirler (60,61). Hücre gövdesi, hücre uzantıları ve ayaklı çıkıntılar olmak üzere üç ana bölgeye sahiptirler (62). Ayaklı çıkıntılar arasında slit diyafram adı verilen silindirik şekilli yarıklar vardır. Bu yarıklar 30-50 nm genişlikte olup, kapiller geçirgenlik yani filtrasyon işleminde anahtar role sahiptirler (63).

Pariyetal epitel hücreleri ise yassı epitel benzeri hücreler olup, Bowman kapsülünün iç yüzeyini döşerler (64,65). CD24 ve CD133 gibi kök hücre belirleyicilerini eksprese ederler. Böylece böbrek hasarı durumlarında hem farklı yönlerde diferansiye olabilir hem de kendi kendilerini tamir edebilirler (66,67).

Endotelyal hücreler ise; glomerüler kapillerlerin iç yüzeyini döşerler. 70-100 nm çapta fenestrasyonlar içerirler. Podositler ile birlikte bazal membranın oluşturulmasında rol alırlar (68).

Mezangiyal hücreler, mezangiyal matriks ile beraber mezangiyumu oluşturan hücrelerdir. Parakrin ve otokrin olarak çeşitli moleküller üretir ve glomerüler hasar durumunda bu moleküllere yanıt olarak proliferer olurlar. Sonuçta matriks üretimi ya da yıkımı gerçekleşir (69).

GBM, endotelyal hücreler ve podositler arasında kalan bir yapıdır (70). Vücutta bulunan diğer kapiller bazal membranların yaklaşık iki katı kalınlığında olup, 300-350 nm kalınlıktadır (71). Endotelyal hücrelerin ve podositlerin bazal laminalarının füzyonu ile oluşur. EM ile trilaminar görünüme sahiptir. İçte lamina rara interna, santralde lamina densa ve dışta lamina rara eksterna tabakalarından oluşur (72,73).

#### **2.1.5.1. Işık Mikroskopik Bulgular**

GBM, MGN'te ana patoloji bölgesidir. Diğer kompartmanlardaki değişiklikler, GBM değişikliklerine sekonder olarak ortaya çıkar ve genellikle hastalığın geç dönemlerine kadar minimaldir (4). GBM değişiklikleri tüm glomerüllerde homojen dağılım gösterir ve hastalık ilerledikçe GBM'in görünümü de değişir. Hastalığın erken dönemlerinde optimal koşullarda bile ışık mikroskopik bulgular belirsiz olabilir. Bu durumda EM ve İF mikroskopi çalışmaları gereklidir. GBM değişiklikleri PAS boyasında değerlendirilebilirse de patolojik değişiklikler en iyi gümüşlü boyalarda izlenir (1-5).

MGN'te glomerül boyutları normal veya büyük olabilir ve sıklıkla normoselüler görünümündedir.

Erken evrede; GBM kalınlığı ve kontürü normal olarak izlenir. Işık mikroskopi ile bir anormallik izlenmez. Glomerüler yapı iyi korunmuştur. Ancak glomerül kaba ve şişkin gibi görünebilir. Bu da glomerüle abartılı bir normal görünüm verir. Erken evrelerde bile podosit hücre gövdeleri geniş ve şişkin olarak izlenir. Işık mikroskopide izlenen en erken bulgu, GBM'da gümüş boyalarında izlenen benekli-alacalı görünüm veya güve yeniği benzeri görünümdür. Bu görünüm subepitelyal immün birikimlere bağlı olarak GBM'da meydana gelen değişikliklere bağlı olarak ortaya çıkar. Hastalık ilerledikçe GBM'in dış yüzeyinde Bowman boşluğuna doğru uzanan dikensi çıkıntılar izlenmeye başlar. Dikensi çıkıntılar en iyi

gümüşlü boyalarda izlenir. Başlarda dikensi çıkıntılar fokal olarak izlenebilir ve dikkatli bir inceleme gerekir. Fokal olarak dikensi çıkıntı izlenen vakalarda, immün birikimlerin daha yoğun olduğu bulunmuştur. Hastalık ilerledikçe dikensi çıkıntılar (spike) daha büyük, kalın ve diffüz olur ve GBM'ın tüm dış yüzeyi boyunca izlenirler ve Masson trikrom (MT) boyasında görülebilirler. Sonunda GBM, argirofilik materyal içeren kalın bir band oluşumu ile belirgin olarak genişler. Bu argirofilik band içinde immün birikimler nedeni ile oluşmuş non-argirofilik boşluklar izlenir ki bu da GBM'a vakuollü bir görünüm kazandırır. Bu alanlar MT ile kırmızı renkte izlenir. Ancak boyanmanın izlenmediği vakalar da vardır. Bu nedenle MGN'teki en güvenilir histolojik değişiklik GBM'daki kalınlaşma ve yeniden yapılanmadır (Resim 1) (1-5).

Proksimal tübüler epitelyal hücrelerde PAS pozitif damlacıklar izlenir. Bu damlacıklar protein ve lipid rezorpsiyonu sonucu oluşur. Hastalık ilerledikçe glomerüler hasar ve skleroz gelişimi ile beraber tübüler atrofi gelişir. Yine uzun süreli hastalıkta interstisyel alanda fibrozis gelişimi izlenir. Bu fibrozis alanlarında ise sıklıkla CD4+ T hücreleri ve monositlerden zengin inflamatuvar infiltrasyon izlenir. Hastalık progresyonu ile birlikte ortaya çıkan İFTA, azalmış böbrek survisi ile korelasyon gösterir (34,49,50). MGN vakalarının yaklaşık %16'sında interstisyel köpüksü hücreler görülebilir (74). Hasta yaşına ve hipertansiyon varlığına bağlı olarak arterioskleroz ve arterioloskleroz görülebilir ve bu vasküler lezyonlar azalmış böbrek survisi ile korelasyon gösterir (34). Kan damarları ve glomerül içinde trombüs varlığı renal ven trombozu ihtimalini akla getirmelidir.

Primer MGN'de endokapiller proliferasyon, GBM duplikasyonu, mezangiyal hiperselülarite, fibrinoid nekroz ve kresent oluşumu beklenmez. Eğer bu bulgulardan herhangi biri varsa, MGN'in sekonder formları veya eşlik eden diğer böbrek hastalıkları akla gelmelidir (75-78). Primer MGN tanısı almış böbrek biyopsilerinin %20'sinde FSGS lezyonları bulunur (53-55). Bu hastalarda FSGS lezyonları kronikleşme göstergesi olarak kabul edilmektedir ve negatif prognostik faktördür (53-55).

### **2.1.5.2. İmmünflöresan Mikroskopik Bulgular**

MGN'de tipik İF mikroskopi bulgusu glomerüler kapiller duvar boyunca izlenen immünglobulin ve kompleman komponentleri ile granüler boyanmadır. Bu boyanma ince granüler olabileceği gibi kaba granüler bir şekilde de izlenebilir. Işık ve EM'de izlenen GBM değişiklikleri immünglobulin ve kompleman komponentlerinin depolanması nedeni ile

meydana gelir. İmmün birikimler en iyi İF mikroskopide izlenir ve bu birikim bölgeleri, GBM'nın dikensi çıkıntıları arasında bulunan elektron yoğun alanlara karşılık gelir. İmmün birikimlerin küçük ve birbirleri ile birleşme eğilimi gösterdiği hastalığın erken dönemlerinde İF mikroskopide psödolineer bir birikim izlenebilir. Hastalığın çok erken dönemleri veya çözülme dönemlerinde ise segmental bir birikim izlenebilir (79). Mezangiyal birikim beklenen bir bulgu olmasa da primer MGN hastalarının %10'undan azında görülebilir (1-5).

Tüm vakalarda kappa ve lambda hafif zincirleri içeren IgG ile boyanma izlenir. C3 ile hastaların yaklaşık dörtte üçünde boyanma izlenirken (75), diğer kompleman komponentleri ile genellikle boyanma izlenmez. IgA ve IgM ile ise çok az vakada boyanma izlenir. Jennette ve ark.'larının yaptığı çalışmada, IgM ile %47, IgA ile %16 ve C1q ile %23 oranında boyanma izlenmiştir (75).

Primer MGN hastalarındaki subepitelyal birikimler içindeki ana IgG sınıfı IgG4'tür (80-83). Ancak hasta serumlarında IgG4 seviyesinde artış yoktur (83). IgG4 immün yanıtının uzun süreli antijenik maruziyet ve T-helper (Th) 2 aracılı B hücre stimülasyonu ile oluştuğu düşünülmüştür (84,85). Hastalığın erken evresinde IgG1 baskınlığının görülmesi, hastalık seyri sırasında IgG alt sınıfları arasında çevrim olduğuna işaret etmektedir (86).

Transplant sonrası tekrarlayan MGN formlarında da IgG4 baskınlığı görülmektedir (1). Buna karşın, malignitelere sekonder vakalarda (1), civa maruziyetinde (87) ve transplant sonrası gelişen de novo MGN formlarında IgG1 baskınlığı izlenir (1).

IgG subtipleri ile boyanmanın, primer ve sekonder formları ayırmada bir yöntem olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür. MGN patolojisine yönelik yapılan çalışmalarla birlikte Anti-PLA2R antikoru ile boyanma, primer ve sekonder MGN formlarının ayrılmasında efektif bir yöntem olarak gündeme gelmiştir (24,88-90).

İF mikroskopide ekstraglomerüler alanda birikim görülmesi, hastalığın sekonder formlarını akla getirmelidir (75).

### **2.1.5.3. Elektron Mikroskopik Bulgular**

EM'de, glomerüler kapiller duvarın epitelyal tarafında, GBM ve podositler arasında (subepitelyal alan) elektron yoğun birikimler izlenir (1-5). EM hem ışık mikroskopide görülen GBM dikensi çıkıntılarını hem de İF mikroskopide görülen immün birikimleri birlikte gösterdiği için tanıda altın standarttır. Birikimler elektron yoğun, soluk ve elektron lusen

görülebilmektedir. GBM'da dikensi çıkıntılar ve bunların birikimleri sarması sonucu yeni membran oluşumu izlenir (Resim 2). Yeni membran oluşumunun olmadığı dönemde birikimler podositler ile direkt temas eder ve podosit sitoplazmasında çentiklenmeye neden olabilirler. Podositlerde, lipid ve protein rezorpsiyon damlacıkları, mikrovillus transformasyonu ve ayaklı çıkıntılarda silinme izlenir (1-5,91).

MGN'deki ultrastrüktürel değişikliklerin geniş bir yelpazede görülmesi nedeni ile 1968 yılında Ehrenreich ve Churg morfolojik bir sınıflama yapmışlar ve dört evre tanımlamışlardır. Bu evrelerin özellikleri aşağıda sıralanmıştır (1-5,93):

Evre I: MGN'nin en erken değişikliklerinin görüldüğü evredir. Çoğu vakada ışık mikroskopide özellik izlenmez. EM'de, subepitelyal alanda küçük ve tek tek dağılan elektron yoğun birikimler görülür. GBM'da dikensi çıkıntılar izlenmez, ancak küçük çentiklenmeler görülebilir. İF mikroskopide diffüz ya da segmental granüler birikim izlenir (1-5,93).

Evre II: Işık mikroskopide GBM'da diffüz kalınlaşma izlenirken, PAS ve gümüş boyalarında dikensi çıkıntılar görülebilir. EM'de dikensi çıkıntılar ile büyük ölçüde çevrelenmiş, daha büyük çapta elektron yoğun birikimler izlenir. İF mikroskopide yoğun granüler boyanma izlenir (1-5,93).

Evre III: Işık mikroskopi ile GBM kalınlaşmasının en belirgin olduğu evredir. Gümüş boyaları ile GBM'de vakuollü bir görünüm izlenir. EM'de, subepitelyal birikimlerin üzerinde GBM dikensi çıkıntılarının birleşmesi sonucu oluşmuş yeni membran izlenir. Bu yüzden birikimler intramembranöz olarak izlenir (92). Birikimler elektron yoğun olabilecekleri gibi, rezorpsiyon nedeni ile elektron yoğun görünümünü kaybedebilirler. İF mikroskopide, boyanma yoğunluğu azalsa bile diffüz granüler görünüm izlenir (1-5,93).

Evre IV: Işık mikroskopide PAS ve gümüşlü boyalar ile GBM kalın ve vakuollü izlenir. EM'de, GBM içinde elektron lüsen alanlar izlenirken, İF mikroskopide IgG ile daha düşük yoğunlukta boyanma izlenir veya hiç boyanma izlenmez (1-5,93).

#### **2.1.6. Ayırıcı Tanı**

Nefrotik sendrom tablosu ile başvuran bir hastada akla ilk gelen nedenler arasında MGN, Minimal değişiklik hastalığı, FSGS, Amiloidoz ve Diyabetik glomerüloskleroz yer alır. Bu hastalıklar ışık mikroskopik, EM ve İF bulguları bir araya getirilerek çoğunlukla birbirinden ayırt edilebilir (1-5).

Patolojik açıdan bakıldığında, ışık mikroskopik, EM ve İF bulgularının herbiri için farklı ayırıcı tanımlar söz konusudur. Işık mikroskopik olarak erken MGN vakalarının, Minimal değişiklik hastalığından ayırt edilmesi zor olabilir. Ancak, EM’de subepitelyal elektron yoğun birikim ve İF mikroskopide granüler kapiller duvar boyanması ile ayırt edilebilir (4).

MGN, SLE’nin ilk bulgusu olabilir. Bu durumda, İF mikroskopide ‘full house’ patern ve C3 boyanmasına ek olarak C4 ve C1q ile boyanma izlenmesi, EM’de tübüloretiküler yapı izlenmesi membranöz lupus nefritini akla getirmelidir (1-5).

Sekonder MGN formlarının idiyopatik MGN formlarından sırf morfolojik bulgularla ayırt edilmesi zordur. Sekonder formlarda, elektron yoğun birikimlerin boyutları daha değişken ve dağılımları daha düzensizdir. Öte yandan mezangiyal birikim görülmesi büyük ölçüde sekonder formları akla getirmelidir (1-5).

Membranoproliferatif glomerülo nefritte de ışık mikroskopide kapiller duvar kalınlaşması izlenebilir. Ancak, mezangiyal genişleme ve hiperselülarite ile MGN’den ayrılır. EM’de ise, subendotelyal birikim, mezangiyal hücre interpozisyonu ve GBM benzeri materyal sentezi ile MGN’den ayırt edilebilir (1-5).

MGN’deki birikimler ince granüler görünümde olduğunda, lineer boyanma olarak algılanabilir ve Anti-GBM antikor hastalığı olarak yorumlanabilir. Ancak, Anti-GBM antikor hastalığında sıklıkla glomerüller yumakta fokal nekroz alanları ve Bowman boşluğunda kresentler izlenir. Ayrıca EM’de subepitelyal birikim görülmez (1-5).

Sonuç olarak, mezangiyal proliferasyon, endokapiller proliferasyon, mezangiyal birikimler, subendotelyal birikimler, ekstraglomerüler birikimler, İF mikroskopide ‘full house’ boyanma paterni, endotelyal tübüloretiküler inklüzyon varlığı sekonder formları, sıklıkla da membranöz lupus nefritini akla getirmelidir (32).

### **2.1.7. Tedavi**

MGN’in doğal seyri çok heterojen olduğu için, hastalara uygulanabilecek standart tedavi protokolleri yoktur (7,94). Ancak her hastaya uygulanabilecek genel prensipler söz konusudur. MGN hastalarında ACE inhibisyonu (1), kan basıncı kontrolü ve hiperlipidemi için statin kullanımı (33,95) ve diyetdeki proteinin kısıtlanması (96) gibi destek tedavilerinin yararlı olduğu bilinmektedir. Ağır nefrotik ve hipoalbuminemik hastalarda antikoagülan kullanımı önerilse de, bu konu tartışmalıdır (95). Tek başına kortikosteroidlerle yapılan

monoterapi efektif bir yöntem değildir (97). Kortikosteroidlerin tek başına efektif olmadığı göz önüne alınır, progresif hastalık açısından risk oluşturan klinik ve patolojik faktörler gözden geçirilmeli ve immünsüpresif tedaviye ihtiyaç olup olmadığına karar verilmelidir (1,3).

Yakın zamanda Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) tarafından MGN tedavisinde kanıta dayalı klinik uygulama rehberi yayınlanmıştır (98). Buna göre sekonder MGN nedenleri dışlandıktan sonra, hastalar progresyon riskleri açısından değerlendirilmelidir. Eğer tedavi gerekli ise, önerilen ilk tedavi Ponticelli protokolüdür. Ponticelli protokolünde 6 ay boyunca aylık alternan sikluslarla intravenöz ve oral kortikosteroidler ve oral alkilleyici ajanlar kullanılır (98). Bu tedaviyi kabul etmeyen veya alkilleyici ajan kullanımı için kontraendikasyon bulunan hastalarda alternatif tedavi önerilmiştir. Alternatif ilk basamak tedavide ise 12 ay boyunca Siklofosfomid veya Takrolimus kullanılır. KDIGO rehberinde önerilen başka bir alternatif tedavi rejimi yoktur. Ancak, başlangıç tedavi olarak kortikosteroid monoterapisi veya mikofenolat mofetil önerilmez (98). MGN tedavisinde başarı ile kullanılan alternatif tedaviler arasında Ritüksimab (99-101), mikofenolat mofetil ve sentetik Adrenokortikotropin sayılabilir. Beck ve ark.'larının 2011 yılında yaptığı çalışmada serumda Anti-PLA2R antikoru bulunan hastaların % 68'inde 12 ay süren Ritüksimab tedavisini takiben antikor seviyesinin azaldığı veya tamamen yok olduğu izlenmiştir (25). Ritüksimab bu tip hasta grubunda umut vadeden bir tedavi seçeneği olarak gündeme gelmiştir.

### **2.1.8. Etyoloji ve Patogenez**

İdiyopatik MGN, subepitelyal IgG ve kompleman birikimi ve ağır proteinüri ile karakterize non-inflamatuvar glomerüler bir hastalıktır (102,103). Subepitelyal alanda immün birikimlerin görülmesi akla antikorların glomerüle özgü antijenlere mi yoksa dolaşımdan gelip glomerüle yerleşmiş antijenlere mi karşı olduğu sorusunu getirmektedir (103). Primer MGN'de podosit hücre membranında yer alan endojen antijenlere karşı, sekonder MGN formlarında ise, dolaşımdan gelip tutunmuş antijenlere karşı otoimmün yanıt söz konusudur.

Subepitelyal alanda immün kompleks depolanma mekanizmaları bilinmezliğini büyük ölçüde korusa da üç majör mekanizma öngörülmüştür (6). İlk hipoteze göre dolaşımda oluşmuş olan antijen-antikor komplekslerinin glomerülde tuzaklanması sonucu hastalık meydana gelir. Pek çok protein yüksek intraglomerüler basınç ve negatif yük nedeni ile

glomerüler kapiller duvardan kolayca geçer. Bu tür immün kompleks ilişkili hastalıkların en iyi örneği lupus nefritidir (6). Lupus hastalarının glomerüler örneklerinde Anti-DNA ve DNA immün kompleksleri sıklıkla izlenir (6,104). Diğer hipotez ise; dolaşımda bulunan patojenik antijenin subepitelyal alanda lokalize olması veya bu bölgede tuzaklanması ve takiben oluşan antikor yanıtı ile in-situ immün kompleks oluşumunun gerçekleşmesidir. HBV'ye sekonder ortaya çıkan MGN hastalarından bu mekanizma sorumludur ve bu hastalarda glomerüler kapiller duvar boyunca HBeAg varlığı yanısıra virüs benzeri partiküller izlenmiştir (6,76,105,106). HBV dışında *Helicobacter pylori* antijenleri, tümör antijenleri ve tiroid antijenleri de sekonder MGN hastalarındaki immün birikimler içinde izlenmiştir (6). Çalışkan ve ark.'larının yaptığı çalışmada ise immün birikimler içinde *Helicobacter pylori* antijen varlığı gösterilememiştir (107). İn situ immün kompleks mekanizması SLE'de de sorumlu mekanizma olabilir. Üçüncü hipotez ise; podosit membranında bulunan antijenlere karşı antikor oluşması ve subepitelyal alanda immün kompleks birikiminin gerçekleştiği mekanizmadır ki bu mekanizma aşağıda ayrıntılı olarak anlatılmıştır (108).

Yakın zamana kadar MGN'teki patojenik mekanizmalarla ilgili bilgilerimizin çoğu deneysel bir hayvan modeli olan Heymann nefriti modeline dayanmaktaydı (20,109). Heymann ve Hackel tarafından yapılan bu çalışmada, proksimal tübül fırçamsı kenarını içeren parçalanmış böbrek korteksi preparatı (FX1a) sıçanlara verilmiş ve sıçanlar immünize edilmiştir (20,109). Sonuçta bu sıçanlarda nefrotik sendrom ortaya çıktığı gözlemlenmiştir. FX1a enjeksiyonunu takiben 3 saat gibi kısa bir süre içinde subepitelyal yüzde antijen-antikor depolanmasının gerçekleştiği ve bu birikimlerin burada yaklaşık 3 ay süre ile kaldığı tespit edilmiştir (1). Parçalanmış kas, karaciğer veya akciğer dokularının enjeksiyonu ile aynı etki ortaya çıkmamış, bu da hasarda otosensitizasyonun rol oynadığı düşüncesini ortaya çıkarmıştır (1). Edgington ve Glassock, 1968 yılında Heymann nefriti modelinde subepitelyal birikimlerin antijen-antikor komplekslerinden oluştuğunu göstermişlerdir (110). 1978 yılında FX1a antijeninin glomerülün subepitelyal yüzünde yer aldığı ve Heymann nefriti modelinin endojen bir antijen içeren in-situ antijen-antikor kompleksi oluşumu sonucu meydana geldiği anlaşılmıştır (111). Heymann nefritindeki antijenin proksimal tübül fırçamsı kenarında ve podositlerin ayaksı çıkıntılarında eksprese edilen gp330/ Megalin olduğu 1982 yılında bulunmuştur (20). Megalin ne insan podositlerinde ne de subepitelyal birikimler içinde saptanamamıştır. Ancak, Heymann nefriti MGN'teki hasarın patogenezinin anlaşılmasında ve hedef antijenin yeri için podositleri işaret etmesi açısından tarihsel bir öneme sahiptir (112).

Heymann nefriti aynı zamanda MGN patogeneğinde kompleman sisteminin rolüne de açıklık getirmiştir. C3, C6 ve C8 seviyelerinin düşürülerek yapıldığı çalışmalarda, subepitelyal birikimler ve birikime sekonder patolojik değişiklikler gözlemlense de proteinürinin gelişmediği izlenmiştir (113-115). Bu çalışmalar göstermiştir ki proteinüri kompleman bağımlıdır ve C5b-C9, yani membran atak kompleksi (MAC) proteinüri gelişmesinde santral bir role sahiptir. Normalde podositler kompleman regülatuar proteinler (CRPs) sentezler ve lokal olarak alternatif kompleman yolağı aktivasyonu inhibe edilir. MGN’de ise CRPs’lerin fonksiyonu bozulur ve alternatif kompleman yolağı aktive olarak MAC oluşumuna neden olur (116). MAC, podosit membranına bağlanıp lizise neden olmayan bir hasar oluşturarak değişik hücreyel yanıtı başlatır. Sonuçta GBM’in parçalanmasına neden olan reaktif oksijen türevleri ve proteazların sentezi, nefrin-aktin disosiyasyonu sonucu podosit hücre iskeletinde değişiklikler, slit diyafram bütünlüğünün kaybı, transforming growth faktör- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) up-regülasyonu ve podosit apoptozu ve ayrılması gibi değişiklikler meydana gelir (117-119).

Heymann nefriti modeli çok ayrıntılı olarak çalışılmış, ancak insandaki hedef podosit antijeni uzun yıllar boyunca bilinmezliğini korumuştur (8,17). Modern teknolojideki gelişmelerle beraber, otoantikörlerin hedefi olarak NEP, PLA2R, aldoz redüktaz (AR) ve süperoksid dismutaz 2 (SOD2) gibi hedef antijenler olarak belirlenmiştir. Ayrıca çocukluk çağı MGN formlarından sorumlu katyonik bovin serum albümin (BSA) gibi non-podosit dolaşan antijenler tanımlanmıştır. MGN gelişimine yatkınlık oluşturduğu belirlenen bazı genler genetik çalışmalarda ortaya çıkmıştır. Bazı antikörlerin varlığının hastalık aktivitesi ile korelasyon gösterdiği ve tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde kullanılabilecekleri görüşü gündeme gelmiştir (8,17).

Debiec ve ark.’ları 2002 yılında podositler üzerinde bulunan bir antijene karşı oluşan antikörlerin insanda MGN’e neden olduğuna dair ilk kanıtı elde etmişlerdir (21). Anti-NEP antikörlerinin transplasental olarak fetüse transferi sonucu meydana gelen neonatal bir MGN vakası tanımlamışlardır (21). NEP, membran bağımlı bir enzimdir. Çinko bağımlı bir metallopeptidazdır ve biyolojik aktif peptidleri sindirme kapasitesine sahiptir (8). NEP, podositler, sinsisyotrofoblastik hücreler, lenfoid progenitör hücreler, polimorfonükleer lökositler, beyin ve karaciğer, meme ve akciğerler gibi pek çok organın epitelyal hücreleri yüzeyinde, serum ve idrarda bulunur (120,121). Aynı zamanda Neprilizin, enkefalinaz, CD10, common akut lenfoblastik lösemi antijeni (CALLA) ve matriks metalloendopeptidaz olarak da isimlendirilir (120,121). NEP, Megalin/gp330’un dağılımına benzer olarak podositler ve

böbrek proksimal tübüler epitel hücrelerinde eksprese edilir (21). Anti-NEP antikoru ile meydana gelen bu ilk konjenital nefrotik sendromlu vakadan sonra iki vaka daha tanımlanmıştır (122). Bu üç vakada da NEP için matriks metalloendopeptidaz geninde mutasyon saptanmıştır (122). Bu annelerden alınan IgG'ler tavşanlara enjekte edilmiş ve tavşanlarda da MGN geliştiği izlenmiştir. Bu da hastalığın Anti-NEP antikoru nedeni ile ortaya çıktığı görüşünü desteklemektedir (102).

Debiec ve ark.'ları tarafından NEP'in insandaki ilk podosit antijeni olarak tanımlanmasını takiben podositlerdeki antijenleri tanımlamaya yönelik çalışmalar yapılmış, ancak 2009 yılına kadar yeni bir antijen tanımlanmamıştır (8,17).

Primer MGN hastalarının %70-82'sinde M-tipi fosfolipaz A2 reseptörüne karşı antikor varlığının tespit edilmesi, MGN patogenezi alanında devrim yaratmıştır (10). PLA2R, membran gliserofosfolipidlerini parçalayan lipolitik bir enzim olan fosfolipaz A2'nin bağlandığı, mannoz reseptör ailesine ait bir transmembran reseptördür (123). Bu reseptör ailesinin özelliği endositoz yapabilmeleri ve böylece ekstraselüler ligandların internalizasyonunda rol almalarıdır. Podositler, alveolar tip II pnömositler ve bir grup splenik lenfosit yüzeyinde eksprese edilir (123). Beck ve ark.'larının yaptığı bu çalışmada, primer MGN tanısı alan hastaların serumlarında bulunan IgG4 tipindeki antikoru PLA2R'ye karşı gelişmiş olduğu tespit edilmiştir. Ancak sekonder MGN formlarında, diğer nedenlere bağlı böbrek hastalıklarında ve sağlıklı gönüllülerde antikor saptanmamıştır (10,23). Serum Anti-PLA2R antikoru düzeyleri ve hastalık aktivitesi arasında kuvvetli bir korelasyon olduğu saptanmış, antikoru dolaşımdan yok olması ile proteinüride remisyon saptanırken, antikor seviyelerinin tekrar yükselmesi ile nefrotik sendrom tablosunun tekrarladığı izlenmiştir (10,22,25). Anti-PLA2R antikor seviyelerinin monitorizasyonunun tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde de yardımcı olabileceği öne sürülmüştür. Hoxha ve ark.'larının yaptığı çalışmada Ritüksimab tedavisi alan 5 hastanın 2'sinde Anti-PLA2R antikoru yok olmuş ve bu hastalarda proteinüride komplet veya parsiyel remisyon izlenmiştir (23). Beck ve ark.'larının yaptığı çalışmada ise primer MGN tanılı hasta grubunda Anti-PLA2R antikoru pozitif hastaların %68'inde 12 aylık Ritüksimab tedavisini takiben serumda antikor negatif olarak bulunmuştur (25). Debiec ve Ronco 2011 yılında yaptıkları çalışmada, primer MGN tanısı almış 42 hastada serumda ve biyopsi örneklerinde Anti-PLA2R antikor varlığını incelemişlerdir. Yirmi bir hastada hem serumda hem de biyopsi örneklerinde antikor saptarken, serumunda antikor bulunan 3 hastada biyopside antikor ekspresyonu

saptanmamıştır. Bu, üç hastadaki antikorun nefritojenik olmayabileceği yorumunda bulunulmuştur. Öte yandan serumda antikor saptanmayan 18 hastanın 10'unda biyopsi örneklerinde antikor tespit edilmiştir. Bu durumun antikorların serumdan hızla temizlenmesi sonucu olabileceği belirtilmiştir (24). Tüm bu araştırmalar göz önüne alındığında, primer MGN'li hastalarda, dolaşımda ve dokuda antikor varlığının tespiti, serumda dolaşan antikor seviyesinin ölçülmesinin hastalık aktivitesinin monitorize edilmesi ve tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde faydalı olacağı görüşüne varılmıştır (6,8,17).

Debiec ve ark.'ları, 2011 yılında böbrek transplantasyonu sonrasında tekrarlayan veya de novo olarak ortaya çıkan MGN'li bir grup hastada Anti-PLA2R antikor varlığını incelemiştir. Tekrarlayan MGN'li 10 hastanın 5'inde antikor saptarken, de novo ortaya çıkan 9 MGN hastasında antikor tespit etmemişlerdir (124).

Prunotto ve ark.'ları 2010 yılında yaptıkları çalışmada primer MGN tanısı almış hastaların hem serumlarında hem de biyopsi örneklerinde sitozolik proteinler olan SOD2, AR ve alfa-enolaza karşı oluşan IgG4 tipinde antikorlar tespit etmişlerdir (125). Bu antikorların primer MGN patogenezindeki rolü belirsizdir. NEP ve PLA2R'nin aksine bunlar sitozolik proteinlerdir ve normal podositler üzerinde minimal eksprese edilirler ya da hiç bulunmazlar. Ancak, MGN'li hastaların glomerüllerinde daha yoğun olarak eksprese edilirler. Oksidatif stres durumlarında SOD2 ekspresyonunun arttığı izlenmiştir (125). Yine Anti-NEP veya Anti-PLA2R antikorların varlığında diğer antijenlerin ekspresyonu artıp, yeni antikorların oluşumunu tetikleyebilir (126).

Debiec ve ark.'ları, primer MGN tanısı almış 9 çocuk ve 41 erişkin hasta ile yaptıkları çalışmada; 4 çocuk ve 7 erişkin hastanın serumunda IgG1 ve IgG4 tipinde Anti-BSA antikorları tespit etmişlerdir (127).

Stanescu ve ark.'ları, MGN tanılı Asya kökenli hastalarda yaptıkları çalışmada PLA2R1 geni ve HLA-DQA1 genleri ile hastalık riski arasında bağlantı olduğunu bulmuşlardır (38).

Primer MGN hastalarının yaklaşık %70'inde PLA2R'ye karşı gelişen otoantikorların varlığı gösterilirken, kalan hastalardaki antijenik hedef bilinmiyordu. Tomas ve ark.'larının 2014 yılında yaptığı çalışmada Avrupa ve Amerika'da yapılan çalışmalarda Anti-PLA2R antikorları ile negatif reaksiyon alınan 15 primer MGN tanılı hastada 250 kD ağırlığında yeni bir glomerüler protein saptanmıştır. Anti-PLA2R antikorları pozitif 74 hastada, başka glomerüler hastalık tanısı olan 76 hastada ve 44 sağlıklı gönüllüde bu protein saptanmamıştır.

Yeni tanımlanan antijenin PLA2R'den farklı olmasına rağmen, N-glikolizasyon, membranöz lokalizasyon ve indirgenmemiş koşullarda serum reaktivitesi göstermesi ile de PLA2R ile ortak biyolojik özellikler taşıdığı da izlenmiştir. Mass spektrometre ile bu antijenin Thrombospondin type-1 domain-containing 7A (THSD7A) olduğu görülmüştür. Tüm reaktif serum örneklerinde rekombinan THSD7A ile reaksiyon izlenmiştir. Bunun yanısıra hastaların biyopsilerinde yapılan immünohistokimyasal çalışmalarda THSD7A'nın podositlerde lokalize olduğu izlenmiştir (128).

## 2.2. SEKONDER MEMBRANÖZ GLOMERÜLONEFRİT

MGN, pek çok sekonder nedene bağlı olarak ortaya çıkar. Sekonder nedenler arasında en sık neden SLE'dir (14). Diğer bilinen nedenler arasında otoimmün romatolojik hastalıklar (Romatoid artrit, Sjögren sendromu, Mikst konnektif doku hastalığı, Graves hastalığı, Hashimoto tiroiditi), enfeksiyonlar (HBV ve HCV enfeksiyonları, sifiliz, filaryazis, hidatik kist, helikobakter pilori gibi), maligniteler (akciğer, gastrointestinal, prostatik kanser ve meme kanseri başta olmak üzere karsinomlar), ilaçlar (altın tuzları, kaptopril, civa, penisilamin, busilamin, non-steroid anti inflamatuvar ajanlar, tiyopronin, trimetadon gibi) ve sarkoidoz, allojenik hematopoietik kök hücre transplantasyonu, IgG4 ilişkili hastalık, kronik inflamatuvar demyelinizan polinöropati, Guillain Barre sendromu gibi hastalıklar sayılabilir (1-5).

Primer MGN'in aksine sekonder MGN'in patogeneğinde spesifik etyolojik ajana karşı veya bu ajandan kaynaklanan non-glomerüler antijenlere karşı oluşan immün yanıt rol oynar. Örneğin: neoplazi, Hepatit B enfeksiyonu ve SLE gibi sekonder nedenlere bağlı MGN vakalarındaki subepitelyal birikimlerde, tümör antijenleri, infeksiyöz patojenler ve nükleer otoantijenlerin bulunduğu izlenmiştir (1-6). Bu iki farklı mekanizma ile oluşmuş olabilir. İlk olarak, küçük, katyonik hedef antijenler GBM'nın subepitelyal yüzeyinde yerleşir ve dolaşımda bulunan spesifik antikorlar GBM'nı geçerek bu antijene bağlanır ve in-situ immün kompleks oluşumu gerçekleşir. Alternatif olarak, dolaşımda bulunan düşük afiniteli antijen-antikor kompleksleri glomerülde disosiyasyon olur, GBM'nı geçer ve subepitelyal bölgede tekrar kompleks oluştururlar.

Ülkemizde MGN tanısı almış olan hastalarda Anti-PLA2R antikor varlığını araştıran bir çalışma henüz yapılmamıştır. Bu çalışmada bizim toplumumuzda primer ve sekonder MGN hastalarında antikor ekspresyonunu araştırmak, böylece sekonder nedenlere yönelik yapılan tetkik miktarlarını azaltmak, tedaviye katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

### 3. ARAŞTIRMADA KULLANILAN BELİRTEÇLER İLE İLGİLİ GENEL BİLGİLER

#### 3.1. ANTİ FOSFOLİPAZ A2 RESEPTÖR (PLA2R) ANTİKORU

PLA2R, 185 kDa ağırlığında, mannoz reseptör ailesine ait, glikoprotein yapıda bir tip 1 transmembran reseptördür (129,130). Normal insan glomerüllerinde podosit membranında, alveolar tip II pnömositler ve bir grup splenik lenfosit yüzeyinde eksprese edilir (123,131). Sisteinden zengin büyük N-terminal ekstraselüler domain ve kısa bir C-terminal intraselüler domain içerir. Membran gliserofosfolipidlerine bağlı yağ asitlerini parçalayan bir enzim olan sekretuar fosfolipaz A2'nin (PLA2) reseptörü olarak görev yapmaktadır. Bu reseptör ailesinin temel görevi endositoz yoluyla ekstraselüler ligandların internalizasyonuna aracılık etmektir (38). Sekretuar PLA2'nin PLA2R'ye bağlanması hücre proliferasyonu, migrasyon ve sitokinlerin üretimi gibi çok sayıda biyolojik yanıtın aktivasyonu ile sonuçlanır (123). PLA2R eksikliği olan farelerde yapılan çalışmalar sekretuar PLA2-IB/PLA2R'nin endotoksik şok sırasında proinflamatuvar sitokinlerin üretiminde önemli bir yolak olduğunu göstermiştir (123). PLA2R aynı zamanda sekretuar PLA2s'lerin klirensinde de görev alır. PLA2 gliserofosfolipidlerin sn-2 yağ asidi ester bağlarını parçalayarak, serbest yağ asitleri ve lizofosfolipidlerin ortaya çıkmasını sağlayan lipolitik enzimlerdir. PLA2R, sisteinden zengin büyük N-terminal ekstraselüler bölge, fibronektin benzeri tip 2 domain, 8 çift karbonhidrat tanıyıcı domain (CRD) içeren bölge ve kısa bir C-terminal intraselüler domain içerir (123,132). PLA2R'nin ekstraselüler bölgesinin büyük kısmı 8 CRD benzeri domainden oluşur ve bu bölgeler sekretuar PLA2 bağlanmasından sorumludur. Özellikle CRD3'den CRD4'e kadar olan alan sekretuar PLA2-IB'yi bağlama aktivitesinden sorumludur. PLA2R ve sekretuar PLA2 ligandları arasında türe özgü spesifite söz konusudur. PLA2R, ayrıca sekretuar PLA2'nin pozitif ve negatif regülasyonunda rol alır. Sekretuar PLA2'nin PLA2R'ye bağlanması ile Mitogen-activated protein kinase (MAPK) yolu aktivasyonu ile hücre proliferasyonu, migrasyonu, hormon salınımı, lipid mediyatör üretimi ve sitokin üretimi gibi biyolojik yanıtlar ortaya çıkar. Sekretuar PLA2'nin negatif regülasyonu ise dolaşan solübl PLA2R' ler tarafından gerçekleştirilir. Solübl PLA2R, sekretuar PLA2-IB ve sekretuar PLA2-

X'in biyolojik fonksiyonlarını bloke eder. PLA2R'nin solübl formunun böbrekler tarafından üretildiği düşünülmektedir (123).

PLA2R, ilk olarak Beck ve ark.'ları tarafından primer MGN'li hastalarda majör hedef antijen olarak gösterilmiştir (10). Bu çalışmada primer MGN tanısı almış hastaların serumlarında Western blot ve mass spektrometre kullanılarak Anti-PLA2R antikoru tespit edilmiştir (10). Debiec ve Ronco 2011 yılında yaptıkları çalışmada primer MGN tanısı almış 42 hastada indirekt İF yöntem ile Anti-PLA2R antikor varlığını araştırmışlardır. Hastaların 24'ünde (%57) serumda Anti-PLA2R antikoru tespit edilmiş ve 24 hastanın 21'inde de böbrek biyopsi materyallerinde Anti-PLA2R antikoru ile reaksiyon elde edilmiştir (24).

Biz çalışmamızda Anti-PLA2R antikor ekspresyonunu göstermek için indirekt immünlöresan yöntem kullandık. Aşağıda bu yöntem ile ilgili kısa bir bilgiye yer verildi.

İmmünlöresan yöntem, flöresan izotiyosiyanat gibi bir flöresan boya içeren bir antikor ile spesifik hedef antijenin işaretlendiği bir hücre görüntüleme tekniğidir. Flöresan boya ile kimyasal olarak konjugasyon oluşturmuş antikorlar kullanılır. Kullanılan flöresan boya, flöresan mikroskop altında incelenen örnekte hedef antijenin dağılımını gösterir. Flöresan boyanın primer veya sekonder antikorla birleşmiş olmasına bağlı olarak iki İF yöntem söz konusudur. Direkt İF yöntemde hedef antijene yönelik olarak kullanılan antikor (primer antikor) direkt olarak flöresan boya ile işaretlenmiştir. İndirekt İF yöntemde ise iki antikor kullanılır. Primer antikora karşı flöresan boya ile işaretlenmiş sekonder bir antikor kullanılır. Her iki metodun kendine göre avantaj ve dezavantajları vardır. Direkt İF yöntem tek basamaktan oluştuğu için daha hızlıdır. Flöresan boya ile işaretlenmiş primer antikorlar daha pahalı olduğu için direkt İF yöntem daha pahalıdır. Direkt İF yöntem daha az basamaktan oluştuğu için daha basittir. İndirekt İF yöntemde primer antikora çok sayıda sekonder antikor bağlandığı için direkt İF yönteme göre daha yüksek miktarda sinyal alınır. Ancak, indirekt İF yöntemde direkt İF yönteme göre, endojen immünglobulin içeren örneklerde fazla miktarda zemin boyanması izlenir (133).

### **3.2. ALEXA FLUOR® 488 (GOAT ANTI-RABBİT IgG H&L)**

Tavşan IgG'sine karşı keçilerde geliştirilmiş sekonder bir poliklonal antikordur. Alexa Fluor® boyası içerir. Hedef antijene tutunmuş IgG tipinde antikorlara bağlanır, işaretler ve onlara flöresan özellik kazandırır. İF çalışmalar için 1/200-1/1000 konsantrasyon oranında kullanılabilir.

## 4. GEREÇ VE YÖNTEM

2000-2014 yılları arasında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda böbrek iğne biyopsileri incelenmiş 87 primer MGN, 21 sekonder MGN tanılı hasta ve kontrol grubu olarak 32 adet IgA nefropatisi tanılı olmak üzere toplam 140 hastaya ait biyopsi materyali arşiv kayıtlarından derlenerek çalışma kapsamına alındı. Tüm vakaların arşiv lamları incelenerek çalışmaya uygunluğu, yeterli sayıda glomerül içerip içermediği incelendi. Çalışılmaya uygun bulunan vakalara ait uygun parafin blok seçildi. Bu 140 vakaya ait seçilen parafin bloklardan 1'er adet kaplı lama 4 mikronluk 3'er adet boyasız kesit ve H&E boyama için normal lama kesitler alındı. Parafin bloklardan elde edilen kesitler 56°C'ta etüvde bir gece boyunca bekletilerek kurutuldu ve kesitlerin lama yapışması sağlandı. Ertesi gün kesitler 30 dakika ksilen'de, 15 dakika absolü alkol ve 15 dakika alkolde bekletilerek deparafinizasyon işlemi yapıldı. Daha sonra kesitler distile suya alındı. EDTA solüsyonuna 10x (Bio-optica) 1/10 oranında sulandırılıp dokular EDTA ile mikrodalga fırında 4 kez 5'er dakika ışınlandı. Sonra 20 dakika soğuyup oda ısısına gelmesi beklenildi ve distile suya alındı. Takiben dokuların etrafı hidrofobik kalem ile çizildi ve Phosphate buffer solüsyonda (PBS) 5 dakika bekletildi. Test kesiti olarak belirlenen 2 kesite dilüent kullanılarak 1/50 oranında hazırlanmış Anti-PLA2R antikoru damlatılıp 30 dakika bekletildi. Kontrol kesitlerine primer antikor olan Anti-PLA2R antikoru damlatılmadı. Kesitler tekrar 5 dakika süre ile PBS'de bekletilip, hem test hem de negatif kontrol kesitine sekonder antikor (Alexa fluor 488 Goat Anti-Rabbit IgG (H+L)) damlatılıp 30 dakika nemli karanlık ortamda bekletildikten sonra PBS ile yıkandı ve fluorescence mounting medium ile kapatıldı. Hazırlanan lamlar karanlık ve soğuk ortamda korundu. Hasta grubu 3'e ayrılarak, 3 ayrı günde boyama işlemleri yapıldı ve vakaların değerlendirilmesi 3 ayrı günde yapıldı. Değerlendirme karanlık ortamda Olympus BX51 marka immünflöresan mikroskop kullanılarak yapıldı. İlk olarak negatif kontrol olduğu bilinen kesit değerlendirildi. Zeminle aynı şekilde refle veren, boyanma tarzı granüler ve membranöz patern sergilemeyen boyanmalar negatif olarak kabul edildi. Daha sonra test kesitleri değerlendirmeye alındı. Test kesitlerinde glomerül sayısı belirlendi. Boyanma paterni granüler, diffüz ve segmental olmak

üzere sınıflandırıldı. Boyanma şiddeti ise, boyanma izlenmeyen vakalar ‘0’ ve granüler paternde boyanan vakalar ise 1’den 3’e kadar değişen şiddette olmak üzere değerlendirildi.

Çalışmada kullanılan antikorların özellikleri Tablo 1’de verilmiştir.

Çalışmaya alınan vakaların 104’üne ait serum Anti-PLA2R antikor seviyelerine ait bilgi, İstanbul Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı’nda yan dal uzmanlık eğitimini tamamlamış Uzm. Dr. Özgür Akın Oto’nun proje numarası 26603-2012 olan yan dal uzmanlık tezinden elde edilmiştir (134).

Bu çalışma için etik kurul onayı 25.11.2014 tarih ve 1791 sayılı yazı ile İÜ İstanbul Tıp Fakültesi Etik Kurulu’na verildi.

**Tablo 1:** Çalışmada kullanılan antikorların özellikleri.

<b>Antikor</b>	<b>Klon ve Üretici Firma</b>	<b>Dilüsyon Oranı</b>	<b>İnkübasyon Süresi</b>
Anti-PLA2R1	HPA012657-100UL [Polyclonal] C.Liq. 0.1ml (1:500-1000) Atlas	1/50	30 dakika
Alexa Fluor® 488	A11008 Goat Anti- Rabbit IgG (H+L)– Alexa Fluor® 488 Conc.0.5ml (Life Technologies)	1/100	30 dakika

Çalışmamızın istatistiksel analizleri, SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 21.0 programı kullanılarak gerçekleştirildi. Gruplar arası dağılım farkları kategorik verilerde Ki-kare testleri (Pearson ve Fisher exact test), sayısal verilerde Mann-Whitney U testi kullanılarak sınıandı. Serum ve dokuda Anti-PLA2R antikoru pozitivitesi arasında korelasyon analizi için Spearman korelasyon testi kullanıldı. ‘p’ değeri için ‘0,05’in altı’ istatistiksel anlamlı kabul edildi.

## 5. BULGULAR

Bu çalışma, 2004-2014 yılları arasında İÜ İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda böbrek biyopsileri incelenmiş, MGN ve IgA nefropatisi tanısı almış 140 hastanın arşiv dokuları üzerinde retrospektif olarak yapılmıştır. Çalışmaya dahil edilen hastaların 104'ü, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Nefroloji Bilim Dalı'nda yan dal uzmanlık eğitimini tamamlamış Uzm. Dr. Özgür Akın Oto'nun proje numarası 26603-2013 olan yan dal uzmanlık tezinde yer alan hastalardan seçilmiştir. Bu tezde yer alan hastalardan bizim çalışmamıza dahil olan 104 hastanın serum Anti-PLA2R antikor düzeyi verileri bu çalışmada kullanılmıştır (134).

Hastaların biyopsi örneklerindeki Anti-PLA2R antikor ekspresyonu indirekt immün flöresan yöntem ile çalışıldı. Primer MGN tanılı hastalarının histopatolojik değerlendirmesinde 15'inin (%17,2) evre 1, 54'ünün (%62,1) evre 2, 17'sinin (%19,5) evre 3, birinin ise (%1,1) evre 4 hastalar olduğu görüldü.

Anti-PLA2R antikoru ile boyanma izlenmeyen ya da lineer tarzda hafif boyanma izlenen vakalar negatif olarak değerlendirildi. Granüler tarzda boyanma izlenen vakalar pozitif olarak değerlendirildi ve boyanma şiddetleri 1+, 2+ ve 3+ olarak derecelendirildi. Her vaka için sadece sekonder antikor kullanılarak yapılan kontrol çalışma dokularının tamamında negatif reaksiyon alındı. Çalışmaya alınan hastaların genel özellikleri ve çalışma sonuçları Tablo 2'de yer almaktadır.

Çalışmaya alınan hastaların 87'si primer MGN, 21'i sekonder MGN, 32'si IgA nefropatisi tanısı almıştı (Tablo 2). Hastaların 65'i (%46,42) kadın, 75'i (%53,58) erkekti. Primer MGN tanısı almış hastaların sekonder nedenlere yönelik tüm tetkikleri takip edildikleri klinik bölümlerce yapılmış ve altta yatan bir neden bulunmamıştı. Sekonder MGN tanısı alan hastaların 19'u SLE tanılı, 1'i Akut myeloblastik lösemi hastası olup allojenik kemik iliği transplantasyonu yapılmış, 1'i HBV enfeksiyonu tanısı almış hastaydı. Hastaların yaş ortalaması 44,08±14,58 olarak bulundu. Ortalama proteinüri değerleri 5,39±3,81gr/gün olarak saptandı. Nefroloji Bilim Dalı'nda serumları değerlendirilen 104 hastanın 61'inde (%58,7) serum Anti-PLA2R antikoru negatif bulunurken, 43'ünde (%41,3) serum Anti-PLA2R

antikoru pozitif olarak bulunmuştur. Serum antikoru negatif hastaların 6'sı sekonder MGN, 26'sı primer MGN, 29'u IgA nefropatisi tanılıydı. Serum Anti-PLA2R antikoru pozitif olarak bulunan 43 hastanın ise hepsi primer MGN tanısı almış hastalardı. Sonuç olarak sekonder MGN ve IgA nefropatisi tanısı almış hastaların hiçbirinde serumda antikor saptanmamıştı. İF mikroskopik incelemede ise hastaların 58'inde (%41,4) Anti-PLA2R antikoru ile boyanma izlenmezken, 82'sinde (%58,6) pozitif boyanma izlendi. İF mikroskopik incelemede Anti-PLA2R antikoru ile negatif boyanan hastaların 10'u primer MGN, 18'i sekonder MGN ve 30'u IgA nefropatisi tanılıydı. Anti-PLA2R antikoru ile pozitif doku reaksiyonu izlenen hastaların ise 77'si primer MGN, 3'ü sekonder MGN ve 2'si IgA nefropatisi tanısı almış hastalardı. Serumda antikor saptanmayan 61 hastanın 36'sında dokuda da antikor saptanmazken, bu hastaların 25'inde İF mikroskopik incelemede Anti-PLA2R antikoru ile boyanma izlendi. Öte yandan serumda Anti-PLA2R antikoru pozitif bulunan 43 hastanın 42'sinde dokuda Anti-PLA2R antikoru ile pozitif boyanma izlenirken 1 hastada İF mikroskopik incelemede antikor ile boyanma izlenmedi.

**Tablo 2:** Çalışmaya alınan hastaların demografik özellikleri ve çalışma sonuçları.

Hasta no	Patoloji protokol no	Yaş	Cinsiyet	Biyopsi tanısı	Mikroskopik evre	iF IgG	iF IgA	iF IgM	iF C3	iF Fibrinojen	iF C1q	iF Kappa	iF Lambda	iF Anti-PLA2R	iF Anti-PLA2R şiddet	Serum Anti-PLA2R*
1	25804/2011	41	E	MGN	2	3	0	0	3	0	0	3	3	1	2	4
2	22968/2012	64	E	MGN	3	3	0	1	1	0	2	3	3	1	1	0
3	23260/2012	38	K	LN		3	1	0	2	0	1	3	3	0	0	0
4	30375/2008	35	E	MGN	2	2	0	0	1	0	0			1	1	0
5	25902/2012	36	E	MGN	2	3	0	0	2	0	0	3	3	1	2	3
6	24067/2012	61	E	MGN	3	3	0	1	2	0	0	3	3	1	2	3
7	19037/2012	75	E	MGN	2	2	0	0	2	0	0	2	2	1	2	1
8	27850/2012	33	E	MGN	2	3	0	0	1	0	0	2	2	1	3	4
9	32597/2011	49	E	HSP		0	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0
10	33083/2012	44	K	MGN	2	3	0	0	1	0	0	2	2	1	2	1
11	42456/2012	53	E	MGN	3	3	0	0	1	0	0	0	0	1	2	3
12	38061/2012	50	K	HSP		0	3	0	1	0	0	2	2	0	0	0
13	23631/2013	39	E	IGA		0	3	3	3	0	0	1	2	0	0	0
14	2093/2013	32	K	IGA		0	3	0	1	0	0	0	0	0	0	0
15	28255/2012	70	E	MGN	3	3	0	0	3	0	0	1	1	1	3	3
16	18069/2012	18	K	MGN	2	3	0	1	3	0	0	3	3	1	1	2
17	27853/2012	23	K	MGN	1	3	0	0	3	0	0	1	1	1	1	0
18	8719/2007	55	E	MGN	2	3	0	0	1	0	0			1	1	0
19	20684/2009	53	E	MGN	1	3	0	0	3	0	0			1	2	0
20	37458/2009	48	K	MGN	1	3	0	0	2	0	0			0	0	0
21	8188/2011	42	E	MGN	2	3	0	0	1	0	0	2	2	1	2	1
22	15170/2011	37	E	MGN	3	3	0	0	2	0	0	3	3	1	3	3

Hasta no	Patoloji protokol no	Yaş	Cinsiyet	Biyopsi tanısı	Mikroskopik evre	İF IgG	İF IgA	İF IgM	İF C3	İF Fibrinojen	İF C1q	İF Kappa	İF Lambda	İF Anti-PLA2R	İF Anti-PLA2Rşiddet	Serum Anti-PLA2R*
23	9673/2010	56	E	MGN	2	3	1	0	3	0	0			1	2	0
24	11211/2008	43	K	MGN	2	2	0	0	1	0	0			1	2	0
25	33346/2009	32	E	MGN	1	3	0	0	1	0	0			0	0	0
26	12493/2007	53	E	MGN	2	3	1	0	1	0	0			1	3	0
27	19092/2011	53	E	MGN	2	3	0	0	1	0	0	3	3	1	3	3
28	21028/2008	52	E	MGN	2	1	0	0	1	0	0			1	1	0
29	20184/2010	43	E	MGN	2	3	0	0	2	0	0	1	1	1	2	0
30	25795/2011	25	K	MGN	1	2	0	0	1	0	0	2	2	0	0	0
31	12976/2011	43	E	MGN	2	3	0	0	1	0	0	3	3	1	3	2
32	9292/2011	71	E	MGN	2	3	0	0	2	0	0	3	3	1	2	3
33	30828/2009	63	K	MGN	3	3	0	0	2	0	1			1	3	4
34	9116/2008	34	E	MGN	2	3	0	1	1	0	0			1	3	2
35	33364/2006	37	E	MGN	2	3	0	0	1	0	0			1	1	2
36	11254/2008	63	E	MGN	2	3	0	0	3	0	0			1	1	0
37	37806/2011	48	K	MGN	2	3	0	2	3	0	0	3	3	1	2	4
38	28710/2005	55	K	MGN	1	3	0	0	3	0	0			1	2	0
39	7439/2009	55	E	MGN	2	3	0	1	1	0	0			1	2	2
40	6840/2010	62	E	MGN	1	2	1	0	1	0	0			0	0	0
41	10015/2013	46	E	IGA		0	3	0	2	0	0	2	3	0	0	0
42	13392/2004	48	E	MGN	2	3	0	0	2	0	0			1	2	1
43	17132/2012	52	E	MGN	3	3	0	1	2	0	0	2	2	1	1	3
44	25877/2012	57	K	IGA		0	2	0	2	0	0	1	1	0	0	0
45	25746/2012	67	E	MGN	2	3	0	0	2	0	0	2	2	1	2	1
46	26075/2012	73	K	MGN	3	3	0	0	3	0	0	3	3	1	2	4

Hasta no	Patoloji protokol no	Yaş	Cinsiyet	Biyopsi tanısı	Mikroskopik evre	İF IgG	İF IgA	İF IgM	İF C3	İF Fibrinojen	İF C1q	İF Kappa	İF Lambda	İF Anti-PLA2R	İF Anti-PLA2Rşiddet	Serum Anti-PLA2R*
47	26088/2012	36	E	IGA		0	3	0	1	0	0	1	1	0	0	0
48	25835/2012	31	E	HSP		0	3	0	1	0	0	1	1	0	0	0
49	26570/2012	20	K	LN		2	0	1	2	0	2	1	2	0	0	0
50	28529/2012	57	E	MGN	2	3	0	0	1	0	0	1	1	1	2	2
51	33224/2012	34	E	IGA		0	3	0	2	0	0	2	3	0	0	0
52	7315/2013	26	K	MGN	3	3	0	1	1	0	0	2	2	0	0	0
53	10832/2013	41	E	MGN	1	3	0	0	1	0	0	3	3	1	1	0
54	11441/2013	55	E	MGN	2	3	0	0	3	3	0	2	2	1	2	4
55	17566/2013	55	K	MGN	2	3	1	2	1	0	0	3	3	1	1	2
56	14537/2013	29	K	IGA		0	2	0	3	0	0	2	2	0	0	0
57	21191/2013	55	E	MGN	2	3	1	0	3	0	0	3	3	1	3	2
58	18182/2013	20	K	IGA		1	3	0	3	0	0	2	2	0	0	0
59	10432/2013	31	K	IGA		0	3	1	1	0	0	2	2	0	0	0
60	11065/2013	26	K	IGA		1	3	0	3	0	0	2	2	0	0	0
61	8860/2013	21	K	MGN	1	2	0	0	0	0	0	2	2	1	1	0
62	2820/2013	49	E	IGA		0	2	0	1	0	0	0	1	0	0	0
63	4432/2013	37	E	IGA		0	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0
64	693/2013	62	E	IGA		0	3	0	2	0	0	0	2	0	0	0
65	42990/2012	38	K	IGA		0	3	0	0	0	0	1	1	0	0	0
66	29974/2012	56	K	MGN	2	3	0	0	3	0	1	2	2	1	1	4
67	40639/2012	32	E	IGA		0	3	0	3	0	0	1	1	0	0	0
68	39532/2012	39	K	IGA		0	3	0	2	0	0	1	1	0	0	0
69	26659/2012	40	E	HSP		0	2	1	2	0	0	0	1	0	0	0
70	36922/2011	29	K	IGA		0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0

Hasta no	Patoloji protokol no	Yaş	Cinsiyet	Biyopsi tanısı	Mikroskopik evre	İF IgG	İF IgA	İF IgM	İF C3	İF Fibrinojen	İF C1q	İF Kappa	İF Lambda	İF Anti-PLA2R	İF Anti-PLA2Rşiddet	Serum Anti-PLA2R*
71	22812/2012	40	K	IGA		0	3	0	3	0	1	2	2	0	0	0
72	10177/2010	25	K	IGA		0	2	1	3	1	1			0	0	0
73	12044/2013	42	K	IGA		0	3	1	3	0	0	3	3	0	0	0
74	9761/2011	28	K	MGN	2	3	0	1	2	0	0	2	2	1	2	1
75	13755/2011	52	K	MGN	2	3	0	0	2	0	0	3	3	1	3	3
76	6639/2010	52	K	MGN	1	3	0	0	3	0	0			1	2	0
77	3297/2011	54	E	MGN		1	0		2	0	0	0	0	1	1	0
78	1122/2011	55	K	MGN	2	2	0	0	1	0	0	2	2	1	1	0
79	512/2010	36	K	MGN	2	3	0	0	1	0	0			1	2	2
80	34696/2009	44	K	MGN	2	3	0	0	1	0	0			1	3	4
81	27514/2010	57	K	MGN	4	3	0	0	1	0	0	1	1	1	3	1
82	26762/2007	59	K	MGN		2	0	0	2	0	0			1	1	0
83	25648/2011	28	K	LN		2	1	2	3	2	2	2	2	0	0	0
84	19337/2008	51	E	MGN	2	3	0	0	1	0	0			1	2	0
85	30113/2011	61	E	MGN	1	3	0	0	2	0	0	3	3	1	3	3
86	36086/2011	60	E	MGN	2	3	0	0	1	0	0	2	2	1	2	0
87	39452/2011	30	E	MGN	2	3	0	1	2	0	1	3	2	1	3	2
88	40240/2011	61	E	MGN	2	3	0	0	2	0	0	3	3	1	3	3
89	146/2012	57	E	MGN	2	3	2	0	2	0	1	3	3	1	3	3
90	11211/2010	73	E	MGN	1	3	0	0	3	0	0			1	2	3
91	39473/2010	44	K	MGN	2	3	0	0	1	0	0	2	2	0	0	0
92	28188/2013	72	E	MGN	2	1	0	0	2	0	0	0	1	0	0	3
93	9079/2010	55	E	MGN	1	3	0	0	2	0	0			1	1	4
94	40264/2012	31	E	IGA		1	3	0	3	0	0	1	1	1	1	0

Hasta no	Patoloji protokol no	Yaş	Cinsiyet	Biyopsi tanısı	Mikroskopik evre	İF IgG	İF IgA	İF IgM	İF C3	İF Fibrinojen	İF C1q	İF Kappa	İF Lambda	İF Anti-PLA2R	İF Anti-PLA2Rşiddet	Serum Anti-PLA2R*
95	27556/2012	59	K	MGN	3	3	0	1	3	0	1	1	1	1	1	0
96	33826/2012	36	K	IGA		0	3	0	2	0	0	0	2	0	0	0
97	30723/2012	24	K	LN		2	0	1	1	0	0	1	1	1	1	0
98	10276/2012	68	K	MGN	2	3	0	0	3	0	0	3	3	1	2	3
99	26971/2013	59	E	MGN	2	2	0	0	1	0	0	2	2	1	1	0
100	32872/2013	40	E	IGA		0	3	0	1	0	0	1	1	1	1	0
101	33038/2013	53	E	MGN	3	3	1	1	1	0	1	2	2	1	2	4
102	31127/2013	23	E	IGA		0	3	0	3	0	0	1	1	0	0	0
103	30097/2013	31	E	IGA		0	2	1	2	0	0	1	1	0	0	0
104	17313/2013	26	E	MGN	2	3	0	0	2	0	0	3	3	1	1	4
105	287/2014	45	E	MGN	2	3	0	0	1	0	0	2	2	0	0	
106	31120/2014	39	E	MGN	2	3	0	1	3	0	0	3	3	1	3	
107	31302/2014	60	K	MGN	2	3	0	0	1	0	0	2	2	0	0	
108	32300/2014	20	E	MGN	3	3	0	0	2	0	0	3	3	1	3	
109	33736/2014	62	E	MGN	2	3	0	0	2	0	0	3	3	1	3	
110	40815/2014	39	E	MGN	2	3	1	0	1	0	0	3	2	1	3	
111	39266/2014	25	K	MGN	3	3	0	1	1	0	0	2	2	1	2	
112	38391/2014	57	K	MGN	2	3	0	0	1	0	0	2	3	0	0	
113	36054/2014	37	E	MGN	2	3	0	0	1	0	0	3	3	1	2	
114	34903/2014	20	K	MGN	3	2	0	1	1	0	0	2	2	1	3	
115	11329/2012	63	K	MGN	2	3	0	0	1	0	0	2	2	1	1	
116	6857/2012	60	E	MGN	3	3	0	1	2	0	0	2	2	1	2	
117	1295/2012	60	E	MGN	2	1	0	0	2	0	0	1	1	1	2	
118	27883/2011	47	E	MGN	2	3	0	0	1	0	0	2	2	1	2	

Hasta no	Patoloji protokol no	Yaş	Cinsiyet	Biyopsi tanısı	Mikroskopik evre	İF IgG	İF IgA	İF IgM	İF C3	İF Fibrinojen	İF C1q	İF Kappa	İF Lambda	İF Anti-PLA2R	İF Anti-PLA2Rşiddet	Serum Anti-PLA2R*
119	22549/2011	39	E	MGN	1	3	3	0	2	0	0	3	3	1	1	
120	21745/2011	40	K	MGN	3	3	0	1	1	0	0	1	1	1	2	
121	19901/2011	69	E	MGN	3	3	0	1	2	0	0	2	3	1	3	
122	4937/2011	30	K	MGN	1	3	0	0	2	0	1	2	2	0	0	
123	34143/2006	23	K	LN		3	2	1	3	0	3			0	0	
124	15920/2009	23	E	LN		3	2	2	3	0	2			0	0	
125	24438/2009	28	K	LN		3	1	1	2	0	1			0	0	
126	33097/2009	46	K	LN		1	1	1	1	0	1			1	1	
127	4985/2010	20	K	LN		2	3	1	3	0	3			0	0	
128	31238/2010	44	K	LN		3	1	1	3	0	2	1	1	0	0	
129	40719/2010	52	K	LN		3	1	2	3	1	3	3	3	0	0	
130	15255/2011	51	K	LN		3	2	2	2	0	3	3	3	0	0	
131	16188/2011	39	K	LN		3	3	2	3	0	3	3	3	0	0	
132	20970/2011	18	K	LN		1	3	2	3	0	3	3	3	0	0	
133	24959/2011	19	K	LN		1	2	1	2	0	2	1	2	0	0	
134	35905/2011	33	K	LN		3	2	0	1	0	2	2	2	0	0	
135	827/2012	32	K	LN		1	1	2	0	0	0	1	1	0	0	
136	10506/2012	20	K	LN		3	0	2	2	0	3	3	3	0	0	
137	35883/2013	35	K	LN		3	3	3	3	0	3	3	3	0	0	
138	40132/2014	36	E	IGA		0	3	0	1	0	0	1	1	0	0	
139	39093/2014	46	E	IGA		1	3	1	3	0	0	1	1	0	0	
140	34954/2014	62	K	IGA		0	2	0	1	0	0	1	1	0	0	

MGN: Membranöz glomerülo nefrit. LN: Lupus nefriti. HSP: Henöch Schönlein Purpurası. PLA2R: Fosfolipaz A2 reseptörü. İF: İmmünflöresan. \*Serum Anti-PLA2Rantikorü(0=1/10 titrasyon negatif, 1=1/10 titrasyon pozitif, 2=1/50 titrasyon pozitif, 3=1/100 titrasyon pozitif, 4=1/1000 titrasyon pozitif.

## 5.1. PRİMER MEMBRANÖZ GLOMERÜLONEFRİT

Çalışmaya toplam 87 primer MGN tanısı almış hasta dahil edildi. Bu hastalardan 69'unun Nefroloji Bilim Dalı'nda serum antikor seviyeleri değerlendirilmişti. Primer MGN hastalarında yaş ortalaması  $49,20 \pm 14,04$  olarak bulundu. Hastaların 31'i (%35,6) kadın, 56'sı (%64,4) erkekti. Serumda Anti-PLA2R antikoru değerlendirilmiş olan 26 (%37,7) hastada serumda antikor saptanmazken, 43 (%62,3) hastada farklı titrasyonlarda pozitivite saptanmıştı. İF mikroskopik incelemede Anti-PLA2R antikoru 10 (%11,5) hastada negatif bulunurken, 77 (%88,5) hastada boyanma şiddetleri farklı olmak üzere pozitif reaksiyon saptandı (Tablo 3). Anti-PLA2R antikoru ile pozitif boyanma izlenen hastaların 21'inde (%24,1) 1+, 34'ünde (%39,1) 2+ ve 22'sinde (%25,1) 3+ şiddetinde granüler tarzda pozitivite izlendi (Resim 3, Resim 4).

Primer MGN tanısı alıp, serum Anti-PLA2R antikor düzeyleri de ölçülen 69 hasta mevcuttu. Bu hastalardan 26'sında (%37,7) serumda antikor saptanmamıştı. Serumunda antikor saptanmayan hastaların 21'inin (%80,8) biyopsi örneklerinde yapılan İF mikroskopik incelemede Anti-PLA2R antikoru ile pozitif reaksiyon elde edildi. Kalan 5 hastada ise biyopside de Anti-PLA2R antikoru ile boyanma izlenmedi. Serumda antikor saptanan 43 hastanın ise 42'sinde biyopside de pozitif reaksiyon saptandı. Sadece bir hastada biyopside Anti-PLA2R antikoru ile boyanma izlenmedi. Sadece İF mikroskopik inceleme yapılan 18 hastanın 14'ünde Anti-PLA2R antikoru ile boyanma saptanırken, 4 hastada boyanma izlenmedi.

Primer MGN hastalarında ortalama protein değeri  $6,74 \pm 3,68$  gr/gün olarak bulundu. İmmünlöresan mikroskopik incelemede biyopsi örneklerinde Anti-PLA2R antikoru ile pozitivite izlenen hastalardaki ortalama proteinüri değeri  $6,53 \pm 3,67$  gr/gün iken, boyanma izlenmeyen vakalardaki ortalama proteinüri değeri  $5,01 \pm 3,66$  gr/gün olarak bulundu. Bu iki değer arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p=0,03$ ). Anti-PLA2R antikoru ile pozitif boyanan vakalarda boyanma şiddeti ile proteinüri düzeyleri arasında ise istatistiksel olarak bir ilişki tespit edilmedi ( $p=0,195$ ).

**Tablo 3:** Hastaların gruplara göre dağılımı ve araştırma sonuçlarının değerlendirilmesi

	Total (n=140)	Primer MGN (n=87)	Sekonder MGN (n=21)	IgA Nefropatisi (n=32)	p* (Primer vs Sekonder MGN)	p* (Primer MGN vs IgA)
<b>Yaş (Ortalama± standart deviasyon)</b>	44,08 ± 14,58	49,20 ± 14,04	32,05 ± 11,77	38,06 ± 10,44	<0,001	<0,001
<b>Cinsiyet</b>						
<b>K</b>	%46,42	31 (%35,6)	19 (%90,05)	15 (%46,9)	<0,001	0,264
<b>E</b>	%53,58	56 (%64,4)	2 (%9,5)	17 (%53,1)		
<b>Proteinüri düzeyi (gr/gün)</b>	5,39 ± 3,81	6,74 ± 3,68	3,62 ± 2,67	2,85 ± 2,99	<0,001	<0,001
<b>Serum Anti- PLA2R</b>						
<b>Negatif</b>	61 (%58,7)	26 (%37,7)	6 (%100,0)	29 (%100,0)	0,005*	<0,001
<b>Pozitif</b>	43 (%41,3)	43 (%62,3)	0 (%0,0)	0 (%0,0)		
<b>(n=104)</b>						
<b>İF Anti- PLA2R</b>						
<b>Negatif</b>	58 (%41,4)	10 (%11,5)	18 (%85,7)	30 (%93,8)	<0,001	<0,001
<b>Pozitif</b>	82 (%58,6)	77 (%88,5)	3 (%14,3)	2 (%6,2)		
<b>iF Anti- PLA2R Şiddeti</b>						
<b>0</b>	58 (%41,4)	10 (%11,5)	18 (%85,7)	30 (%93,8)	<0,001	<0,001
<b>1+</b>	26 (%18,6)	21 (%24,1)	3 (%14,3)	2 (%6,3)		
<b>2+</b>	34 (%24,3)	34 (%39,1)	0 (%0,0)	0 (%0,0)		
<b>3+</b>	22 (%15,7)	22 (%25,3)	0 (%0,0)	0 (%0,0)		

MGN: Membranöz glomerülonefrit. PLA2R: Fosfolipaz A2 reseptörü. İF: İmmünlöresan. \*Kategorik verilerin karşılaştırmaları için Ki-kare testi (Pearson veya Fisher exact); sayısal verilerin karşılaştırılmaları için Mann-Whitney U testi.

İF mikroskopik incelemede Anti-PLA2R antikoruna boyanma şiddeti ile hastalık evresi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ( $r=0,137$ ,  $p=0,249$ ). Anti-PLA2R antikoruna serum titrasyon oranı ile biyopsi örneklerindeki boyanma şiddeti arasında güçlü bir korelasyon tespit edildi ( $r=0,671$ ,  $p<0,001$ ). İF mikroskopik incelemede Anti-PLA2R antikoruna boyanma şiddeti ile serum Anti-PLA2R antikor varlığı arasında güçlü bir korelasyon tespit edildi ( $r=0,706$ ,  $p<0,001$ ) (Tablo 4).

**Tablo 4:** İndirekt İF yöntemle Anti-PLA2R antikor boyanma şiddeti, serum Anti-PLA2R antikor titrasyonu ve hastalık evresi arası ilişki

<b>İF Anti-PLA2R antikor boyanma şiddeti vs serum Anti-PLA2R antikor</b>	$r = 0,706^*$	$p < 0,001$
<b>İF Anti-PLA2R antikor boyanma şiddeti vs hastalık evresi</b>	$r = 0,137^*$	$p = 0,249$
<b>İF Anti-PLA2R antikor serum titresi vs İF Anti-PLA2R antikor boyanma şiddeti</b>	$r = 0,671^*$	$p < 0,001$

*PLA2R: Fosfolipaz A2 reseptörü. İF: İmmünflöresan. \*Spearman korelasyon testi.  $r=0,00-0,24$  (zayıf korelasyon),  $r=0,25-0,49$  (orta korelasyon),  $r=0,50-0,74$  (güçlü korelasyon),  $r=0,75-1,00$  (çok güçlü korelasyon)*

## 5.2. SEKONDER MEMBRANÖZ GLOMERÜLONEFRİT

Bu çalışmaya toplam 21 sekonder MGN tanılı hasta dahil edildi. Bu hastalardan 6'sının Nefroloji Bilim Dalı'nda yan Dr. Oto tarafından serum antikor seviyeleri değerlendirilmişti. Sekonder MGN hastalarının 19'u membranöz tipte lupus nefriti tanılı SLE hastası olup, bir hasta Akut Myeloblastik lösemi nedeni ile 12 ay önce allojenik kemik iliği transplantasyonlu, bir hasta ise HBV enfeksiyonu tanılıydı (Tablo 2). Sekonder MGN hasta grubunun yaş ortalaması  $32,05 \pm 11,77$  olarak bulundu. Hastalardan 19'u (%90,5) kadın, 2'si (%9,5) erkekti. Ortalama proteinüri değerleri  $3,62 \pm 2,67$  gr/gün olarak bulundu (Tablo 3). Nefroloji Bilim Dalı'nda incelenmiş 6 (%100) hastanın tamamında serumda antikor saptanmamıştı. Serum antikor negatif olan bu hastalardan 2'sinde (SLE ve HBV) biyopsi örneklerinde Anti-PLA2R antikor ile boyanma izlendi. Sadece İF mikroskopik inceleme yapılan kalan 15 sekonder MGN tanılı hastanın 14'ünde (%93,3) boyanma izlenmezken, bir SLE tanılı hastada Anti-PLA2R antikor ile boyanma izlendi. Sonuç olarak toplam 21 sekonder MGN hastasının 18'inde (%85,7) biyopsi örneklerinde boyanma izlenmezken, 3 (%14,3) hastada pozitif reaksiyon alındı (Resim 5). Anti-PLA2R antikor ile pozitif boyanma izlenen 3 hastanın tamamında 1+ granüler tarzda boyanma izlendi.

## 5.3. IGA NEFROPATİSİ

Çalışmaya toplam 32 IgA nefropatili hasta dahil edildi. Bu hastalardan 29'unun Dr. Oto tarafından serum antikor seviyeleri değerlendirilmişti. Kalan 3 hastanın ise sadece biyopsi örneklerinde Anti-PLA2R antikor değerlendirildi. Hastaların yaş

ortalaması  $38,06 \pm 10,44$  olarak bulundu. IgA nefropatili hastaların 15'i (%46,9) kadın, 17'si (%53,1) erkekti. Ortalama proteinüri değeri  $2,85 \pm 2,99$  gr/gün olarak bulundu. Serumda Anti-PLA2R antikoru değerlendirilen 29 hastanın tamamında (%100) negatif sonuç alınmıştı. Serum antikoru negatif saptanan bu hastalardan 27'sinde (%93,1) biyopsi örneklerinde de Anti-PLA2R antikoru ile boyanma izlenmezken, 2 hastada (%6,9) granüler tarzda 1+ boyanma izlendi. Sadece biyopsi örnekleri değerlendirilen 3 hastada ise Anti-PLA2R antikoru ile boyanma izlenmedi. Sonuç olarak toplam 32 IgA nefropatisi tanılı hastanın 30'unda (%93,8) biyopside boyanma izlenmezken, 2 (%6,3) hastada pozitif reaksiyon alındı (Tablo 3) ( Resim 6).

Sonuç olarak, primer MGN hastaları hem sekonder MGN hastalarına ( $p < 0.001$ ) hem de IgA nefropatisi tanılı hastalara ( $p < 0.001$ ) göre daha ileri yaşta ve bu istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo 3). Primer MGN hastalarının %64,4'ünü erkek hastaların oluşturduğu izlenmiş olup, sekonder MGN (primer MGN vs sekonder MGN  $p < 0.001$ ) ve IgA nefropatili (primer MGN vs IgA nefropatisi  $p < 0.001$ ) hasta grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Yine ortalama proteinüri değerleri primer MGN hastalarında  $6,74 \pm 3,68$  gr/gün olarak bulunmuş olup, bu değer sekonder MGN ve IgA nefropatili hasta grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (Primer MGN vs. Sekonder MGN  $p < 0.001$ ; Primer MGN vs. IgA nefropatisi  $p < 0.001$ ). Serumda Anti-PLA2R antikoru primer MGN hastalarının %62,3'ünde saptanmış iken, sekonder MGN hastaları ve IgA nefropatisi tanılı hastaların tamamında serumda antikor izlenmedi ve bu bulgu istatistiksel olarak anlamlıydı (Primer MGN vs. Sekonder MGN  $p = 0.005$ ; Primer MGN vs. IgA nefropatisi  $p < 0.001$ ). Öte yandan İF mikroskopik incelemede primer MGN hastalarının %88,5'inde Anti-PLA2R antikoru ile pozitivite saptanırken, sekonder MGN hastalarının %14,3'ünde ve IgA nefropatisi tanılı hastaların %6,2'sinde pozitivite saptandı ve bu sonuçların gruplar arasında anlamlı bir fark oluşturduğu belirlendi (Primer MGN vs. Sekonder MGN  $p < 0.001$ ; Primer MGN vs. IgA nefropatisi  $p < 0.001$ ) (Tablo 3).

Serum Anti-PLA2R antikor düzeyi ölçümünün sensitivitesi %62, spesifitesi %100, pozitif prediktif değeri %100, negatif prediktif değeri %18,7 ve doğruluk oranı %65,3 olarak bulundu. Hastaların biyopsi örneklerinde Anti-PLA2R antikor ekspresyonunun sensitivitesi %88,5, spesifitesi %85,7, pozitif prediktif değeri %96,2, negatif prediktif değeri %64,3 ve doğruluk oranı %87,9 olarak bulundu. Serum veya

biyopsi örneğinden ikisinden birinde veya hem serum hem biyopsi örneklerinde pozitiflik saptanan olgular pozitif kabul edildiğinde sensitivite %92,7, spesifite %66,6, pozitif prediktif değer %96,9, negatif prediktif değer %44,4 ve doğruluk oranı %96,9 olarak bulundu. Hem serum hem de biyopsinin her ikisinde birden pozitiflik saptanan olgular pozitif kabul edildiğinde sensitivite %60,8, spesifite %100, pozitif prediktif değer %100, negatif prediktif değer %15,6 ve doğruluk oranı % 63,5 olarak bulundu (Tablo 5).

**Tablo 5:** İndirekt İF inceleme ve Serum Anti-PLA2R antikor ölçümlerinin sensitivite ve spesifite değerleri

	Sensitivite	Spesifite	Pozitif prediktif değer	Negatif prediktif değer	Doğruluk Oranı
<b>İF Anti-PLA2R antikoru</b>	%88,5	%85,7	%96,2	%64,3	%87,9
<b>Serum Anti-PLA2R antikoru</b>	%62	%100	%100	%18,7	%65,5
<b>İF + Serum Anti-PLA2R antikoru**</b>	%60,8	%100	%100	%15,6	%63,5
<b>İF + Serum Anti-PLA2R antikoru*</b>	%92,7	%66,6	%96,9	%44,4	%90,6

*PLA2R: Fosfolipaz A2 reseptörü. İF: İmmünlöresan. \*İF veya serum antikoru pozitif veya her ikisi de pozitif olduğunda pozitiflik kabul edilirse \*\*İF veya serum antikorusunun her ikisinin de pozitif olması durumunda pozitiflik kabul edilirse.*

## 6. TARTIŞMA

Membranöz glomerülonefrit, erişkinlerde görülen nefrotik sendromun sık görülen nedenlerinden biridir (1-5,8,17). Glomerüler kapiller duvarın epitelyal tarafında immün birikimlerin varlığı ile karakterize immün aracılı glomerüler bir hastalıktır (1-5,8). Asya kökenli erişkinlerde nefrotik sendromun en sık nedeni olmaya devam etmektedir (8,16). Ancak, bazı yayınlarda tüm popülasyonda FSGS'nin en sık neden olduğu ileri sürülmüştür (135). Primer olabileceği gibi, otoimmün hastalıklar, maligniteler, enfeksiyonlar ve bazı ilaçların kullanımına sekonder olarak da ortaya çıkabilir (1-5,14).

Glassock, 1992 yılında yaptığı çalışmada MGN hastalarının %23'ünün sekonder nedenlere bağlı olarak ortaya çıktığını göstermiştir (14). Sekonder MGN prevalansını 16 yaşından küçük ve 60 yaşından büyük hastalarda %35, 16-60 yaş aralığında ise %20 olarak bulmuştur (14). En sık görülen sekonder etyoloji SLE'dir (14). Uzun dönemde hastaların %40-50'sinde son dönem böbrek hastalığı gelişir (8,17,18,136).

Primer MGN tüm erişkin yaşam boyunca görülebilirse de en sık 4. ve 5. dekatta görülür (1-5,41). Primer MGN çocuklarda daha seyrek olarak görülür. Çocuklardaki böbrek biyopsilerinin %3'ünü oluşturur (13). Hem erişkin hem de çocukluk yaş grubunda erkeklerde daha sık olarak saptanır (33). Hastaların yaklaşık %75'inde başvuru sırasında nefrotik sendrom tablosu mevcuttur (33,35,41).

Bazı istisnalar hariç, primer ve sekonder MGN formlarının morfolojik bulguları benzer ve hatta aynıdır (1-5). Bu nedenle primer MGN tanısı koyabilmek için sekonder nedenlerin dikkatli bir şekilde dışlanması gerekir. Bu amaca yönelik olarak çok ayrıntılı bir klinik çalışma gerekmektedir. Hastalarda, konnektif doku hastalıkları ve otoimmün hastalıklara yönelik ayrıntılı kan tahlillerinin, enfeksiyöz ajanlara yönelik tahlillerin, malignitelere yönelik görüntülemelerin yapılması gerekir. Çünkü, sekonder nedenlere bağlı olarak ortaya çıkan MGN hastalarında tedavi öncelikli olarak altta yatan hastalığın tedavisine bağlıdır. Bu şekilde altta yatan hastalık tedavi edildiğinde spontan gerileme izlenebilir. Primer MGN tanısı alan hastalarda ise tedavide immünsüpresif ajanlar kullanılmaktadır (6).

Çalışmamıza dahil olan 140 hastanın %62,1'ini primer MGN tanılı hastalar oluşturmaktaydı. Bu hastaların yaş ortalaması 49 olarak bulundu. Bu bulgu literatürde de belirtildiği gibi primer MGN'nin en sık görüldüğü 4. ve 5. dekad aralığındaydı (1-5,41). Hastaların %64,4'ünü erkek hastaların oluşturması da literatür bulguları ile uyumlu bulundu (33). Primer MGN hastalarının tamamında proteinüri değerleri 3gr/gün'ün üzerinde olup, ortalama proteinüri değeri 6,7 gr/gün idi. Primer MGN ile ilgili yapılmış ve veri tabanı niteliğinde olan altı geniş çalışmada ortalama proteinüri değeri 6,5 gr/gün olarak bulunmuştur (33-35,41,43). Bu değer çalışmamızdaki primer MGN hasta grubu ile tutarlıdır.

Çalışmamızı retrospektif olarak planladık. Bunun nedenlerinden biri Dr. Özgür Akın Oto'nun uzmanlık tezinde yer alan ve serumda Anti-PLA2R antikor varlığı değerlendirilmiş hastaları çalışmaya dahil edebilmektir. Diğer bir nedense arşivimizin zenginliğinden faydalanarak daha fazla sayıda primer ve sekonder MGN tanısı almış hastanın biyopsi örneklerinde Anti-PLA2R antikor ekspresyonunu değerlendirebilmektir. Hastaların biyopsi örneklerinde indirekt immünflöresan yöntem ile Anti-PLA2R antikor varlığını parafin dokular üzerinde araştırdık. Bunun nedeni donmuş dokudan elde edilen kesitlerle yapılan çalışmalarda daha fazla zemin reaksiyonunun görülmesi ve bunun da değerlendirmeyi güçleştirmesiydi. Antikoron immünohistokimyasal yöntem ile kullanılması da mümkündür. Ancak, hem literatür bilgilerine göre hem de bizim çalışma öncesi her iki yöntemi de kullanarak yaptığımız deneylerimizde diğer nedenli böbrek hastalığı olan kontrol gruplarında az miktarda da olsa belli oranlarda boyanma izlenmesi nedeni ile bu çalışmada indirekt İF yöntemi kullanıldı.

Yakın zamana kadar primer MGN patogenezi için bilgilerin büyük kısmı deneysel bir hayvan modeli olan Heymann nefriti modeline dayanmaktaydı (20,109). Bu modelde söz konusu podosit antijeni megalindi. Ancak megalin ne insan podositlerinde ne de primer MGN hastalarındaki subepitelyal birikimlerde saptanmamıştı (8). Böylece insan podositlerindeki hedef antijen yıllarca bilinmezliğini korudu. Yıllar içinde nötral endopeptidaz, M-tipi fosfolipaz A2 reseptörü, aldoz reduktaz ve süperoksit dismutaz gibi pek çok hedef antijen tanımlandı. Katyonik bovin serum albümin gibi non podosit dolaşan antijenlerle ortaya çıkan çocukluk çağı MGN vakaları tanımlandı (8).

Debiec ve ark.'ları 2002 yılında yaptıkları çalışmada (21) Heymann antijeninin insandaki ilk benzerini tanımlayarak, MGN patogenezenin anlaşılmasında anlamlı bir ilerleme sağladılar. Önceki gebeliği düşükle sonuçlanan bir annenin 38 haftalık term erkek bebeğinde hayatın ilk gününde ağır nefrotik sendrom tablosu tespit etmişlerdir. Bebeğe yapılan biyopsi ile MGN tanısı konulmuştur. Bu durumda maternal antikörlerin transplasental geçişi sonucu bebekte MGN tablosunun oluştuğu düşünülmüştür. Annenin serumunda hem podositlere hem de proksimal tübül fırçamsı kenarına bağlanan dolanan antikörler tespit edilmiştir. Bu antikörler annenin düşük öncesi alınan serum örneklerinde tespit edilmezken, ikinci gebeliğin 3, 5. ve 7. aylarında alınan anne serumunda ve doğum sonrası bebeğin 13. gün alınan serumunda saptanmıştır. Ancak bebeğin 40. günde alınan serumunda antikörün bulunmadığı görülmüştür. Yapılan araştırmalar ile bu antikörün nötral endopeptidaz'a (NEP) karşı oluştuğu tespit edilmiştir. Annede NEP yokluğu saptanmış olup, ilk gebeliği sırasında bu antikörleri oluşturduğu düşünülmüştür. Aynı şekilde anne serumunun sıçanlara enjeksiyonu ile sıçanlarda da MGN tablosu oluşmuştur (21). NEP, Megalin'in dağılımına benzer olarak podositlerde ve böbrek proksimal tübül epitel hücrelerinde eksprese edilir. Anti-NEP antikörlerinin transplasental transferi sonucu meydana gelen bu ilk konjenital nefrotik sendromlu vakadan sonra, iki vaka daha tanımlanmıştır (122). Bu üç vaka üzerinde yapılan çalışmalarda, NEP için Metalloendopeptidaz geninde mutasyon tespit edilmiştir (122).

Beck ve ark.'larının 2009 yılında yaptıkları çalışmada (10) insandaki majör podosit antijeni tanımlanmış ve bu alanda büyük ilerleme kaydedilmiştir (10). Bu çalışmada Beck ve ark.'ları primer MGN tanısı almış 37 hastadan serum örneği toplamışlar ve indirgenmemiş koşullarda normal insan böbreğinden elde edilen homojenatlarla Western blot ile analiz etmişlerdir. Western blot çalışması sonucunda 37 hastanın 26'sında (%70) 185 kDa büyüklüğünde bir protein bandı tespit etmişlerdir. Kontrol grubundaki 30 normal gönüllü, 15 diğer nedenlere bağlı nefrotik sendromlu hasta ve 8 sekonder MGN'li hastada bu protein bandı izlenmemiştir. Sonrasında çok sayıda antikör ve mass spektrometre kullanarak bu protein bandının M-tipi PLA2R olduğunu tespit etmişlerdir (10). PLA2R'nin podositler üzerinde eksprese edilmesi ve primer MGN'li hastaların serum örneklerinde olmayışı, in-situ immün kompleks oluşumunu destekler nitelikte olmuştur. Ayrıca primer MGN hastalarının biyopsilerinde subepitelyal birikimlerde PLA2R ve IgG4'ün kolokalize olduğu, birikimlerden

ayrıştırılan IgG4'ün rekombinan PLA2R ile bağlandığı izlenmiştir. Yine bu çalışmada, PLA2R antikor seviyeleri ile proteinüri düzeyleri arasında korelasyon tespit edilmiştir (10).

Beck ve ark.'larının yaptığı bu çalışmadan sonra primer MGN'de Anti-PLA2R antikorlarının önemli rolü olduğunu gösteren pek çok çalışma yapılmıştır (9,22,24,25,124,137).

Dr. Oto'nun uzmanlık tezinde serumda Anti-PLA2R antikoru bakılan hasta grubunda yöntem olarak indirekt immünflöresan yöntem kullanılmıştır (134). Bunun nedeni Western blot yönteminin pahalı olması, yöntemi uygulayacak deneyimli personel ve donanımın kolay ulaşılır olmamasıdır. İndirekt immünflöresan yöntem, Western blot yöntemine göre daha ucuzdur ve Euroimmün tarafından ticari bir kit geliştirilmiştir. Dr. Oto'nun uzmanlık tezinde serum düzeyleri değerlendirilen ve bizim çalışmamıza dahil edilen 64 primer MGN, 6 sekonder MGN ve 29 IgA nefropatisi tanılı hasta mevcuttu. Serum Anti-PLA2R antikor düzeyleri primer MGN hastalarının %62,3'ünde pozitif iken %37,7'sinde negatif olarak bulunmuştu. Serum antikor seviyesi için sensitivite %62 iken, spesifite %100 olarak bulunmuştu (134). Sekonder MGN ve IgA nefropatili hasta gruplarının ise %100'ünde negatif olarak bulunmuştu. Beck ve ark.'larının yaptığı çalışmada primer MGN hastalarında pozitivite oranı %70 olarak bulunmuştu (10). Yine Hofstra ve ark.'larının bir grup Avrupalı hasta üzerinde yaptığı çalışmada ise; primer MGN tanısı almış 18 hastanın 14'ünde (%77,8) Anti-PLA2R antikoru tespit edilmiştir (22). Hofstra ve ark.'larının yaptığı bu çalışmada ayrıca serum antikor seviyelerinin hastalık aktivitesi ile korele olduğu, remisyon dönemlerinde antikor seviyelerinin azaldığı ve relaps dönemlerinde arttığı tespit edilmiştir (22).

Qin ve ark.'larının Çinli hasta grubunda yaptığı çalışmada ise; primer MGN tanısı almış 60 hastanın 49'unda (%81,7) serumda Anti-PLA2R antikoru tespit edilmiştir (9). Bu çalışmada antikoru spesifitesi %89 olarak bulunmuştur. Bunun nedeni Qin ve ark.'larının bir SLE hastası, bir HBV hastası ve üç kanser tanılı hastada da serumda Anti-PLA2R antikoru tespit etmiş olmalarıdır (9). Hoxha ve ark.'larının yaptığı çalışmada ise 100 primer MGN, 17 sekonder MGN, 90 membranöz glomerülonefrit dışı böbrek hastalığı olan hasta ve 153 sağlıklı gönüllüde indirekt immünflöresan yöntem ile serum Anti-PLA2R antikoru bakılmış primer MGN tanılı hastaların 52'sinde (%52) antikor saptanırken, diğer hastaların hiçbirinde saptanmamıştır (23). Debiec ve

ark.'larının 2011 yılında yaptıkları çalışmada ise toplam 42 primer MGN tanılı hastanın 24'ünde (%57) serumda antikor saptanmıştır (24). Kanigicherla ve ark.'larının yaptığı çalışmada ise hastaların %73'ünde serumda Anti-PLA2R antikor saptanmıştır (56). Oh ve ark.'larının 2013 yılında Koreli hastalar üzerinde yaptıkları çalışmada ise primer MGN tanısı almış 100 hastanın biyopsi sırasında, immünsüpresif tedavi öncesi alınmış serum örneklerinde Anti-PLA2R antikor değerlendirilmiştir (138). 100 hastanın 69'unda (%69) serumda antikor saptamışlardır. Ayrıca serum antikor reaktivitesi ile hastalık şiddeti arasında da korelasyon tespit etmişlerdir. Yine serumunda antikor tespit edilen hastalarda proteinüri düzeylerinin daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Ardalan ve ark.'ları 2013 yılında yaptıkları çalışmada 23 primer MGN, 2 sekonder MGN ve 5 diğer nedenlere bağlı nefrotik sendromlu hasta grubunda serum Anti-PLA2R antikor ekspresyonuna bakmışlardır (139). Primer MGN tanılı 23 hastanın 17'sinde (%74) serumda Anti-PLA2R antikor tespit etmişler, ancak sekonder MGN ve diğer nedenli nefrotik sendromlu grupta antikor ekspresyonu izlememişlerdir (139). Ardalan ve ark.'ları yaptıkları bu çalışmada antikor titresini ile proteinüri derecesi arasında korelasyon saptamamışlardır. Dr. Oto tarafından serum antikorları değerlendirilen primer MGN tanılı hasta grubunda, Anti-PLA2R antikor titresini ile proteinüri arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur ( $r=0,363$ ,  $p=0.007$ ). Ayrıca Anti-PLA2R antikor pozitif olan hastaların daha yüksek proteinüri düzeyine, daha düşük glomerüler filtrasyon hızına ve sonuç olarak daha şiddetli hastalığa sahip oldukları saptanmıştır (134).

Bizim çalışmamızda serumda antikor düzeyini bakılan primer MGN tanılı 69 hastanın %37,7'sinde serum Anti-PLA2R antikor negatif olarak bulunurken, %62,3'ünde serumda antikor saptandı. Ancak serumda antikor bulunmayan hastaların %80,8'inde biyopsi örneklerinde Anti-PLA2R antikor ile pozitif reaksiyon saptanırken, kalan %19,2 hastada biyopside de pozitivite izlenmedi. Sekonder MGN tanılı hastaların %100'ünde serumda antikor saptanmamıştır (134). Ancak bu hastalardan ikisinde dokuda antikor ile pozitif reaksiyon alındı. IgA tanılı hasta grubumuzda serumda Anti-PLA2R antikor varlığı beklendiği gibi izlenmedi. Ancak bu gruptaki 2 hastanın dokularında Anti-PLA2R antikor ile beklenmedik şekilde 1+ reaksiyon belirlendi. Sekonder MGN grubunda serumda Anti-PLA2R antikor negatif, dokuda ise Anti-PLA2R antikor pozitif olan hastalardan biri SLE tanılı, diğeri ise HBV tanılı idi. SLE tanılı olan hasta 24 yaşında kadın olup, klinikte Lupus nefriti tanılı

idi. Biyopside ‘Global ve segmental glomerül sklerozları içeren membranöz nefropati’ tanısı almış olup, İF incelemede full-house patern saptanmamıştı. Ancak, klinikte SLE tanısı olduğu için lupus nefriti olarak kabul edildi ve sekonder MGN grubuna alındı. Bu hastanın Anti-PLA2R antikor ile boyanma şiddeti 1+ olarak değerlendirildi. HBV tanılı hasta 54 yaşında erkek olup, Evre 1 MGN tanısı almıştı. Bu hastanın Anti-PLA2R antikorunu ile boyanma şiddeti 1+ olarak değerlendirildi. Ayrıca sadece İF değerlendirme yapıp, serum antikor seviyesi bakılmayan 15 hastadan oluşan sekonder MGN grubunda bir SLE hastasında da 1+ granüler boyanma saptandı. Böylece bizim hasta grubumuzda sekonder nedenlere bağlı toplam 3 MGN hastasında biyopside Anti-PLA2R antikorunu ile pozitifite saptandı. Serumda Anti-PLA2R antikorunu negatif, biyopside ise Anti-PLA2R antikorunu pozitif olan IgA hastalarında biyopside histomorfolojik açıdan ya da İF incelemede ek bir özellik bulunmuyordu.

Larsen ve ark.’ları 2013 yılında yaptıkları çalışmada 85 primer MGN ve 80 sekonder MGN tanılı hastanın biyopsilerinde Anti-PLA2R antikor ekspresyonunu incelemişlerdir (89). Yaptıkları bu çalışmada 85 primer MGN tanılı hastanın 64’ünde (%75,3) ve 80 sekonder MGN tanılı hastanın 14’ünde (%17,5) Anti-PLA2R antikorunu ile pozitifite saptamışlardır. Antikor ile pozitifite saptanan sekonder MGN grubundaki hastaların 7’si HCV, 3’ü sarkoidoz, 3’ü neoplazi ve 1’i Sjögren Hastalığı tanısı almış hastalar olup, bu 14 hastanın 6’sında IgG alt tiplerine yönelik inceleme yapmışlar ve hepsinde de IgG4 baskınlığı tespit etmişlerdir. Sonuç olarak bu hastaların aslında primer MGN olabileceğini ve eşlik eden sekonder nedenlerin tesadüfi beraberliğinin söz konusu olduğunu ileri sürmüşlerdir (89). Bizim çalışmamızda IgG alt sınıflarına yönelik inceleme yapmadığımız için bu konuda herhangi bir görüş ileri sürülemedi.

Bizim çalışmamızda primer MGN tanısı alıp, serumda Anti-PLA2R antikorunu negatif, ancak dokuda antikor ekspresyonu pozitif 21 hasta mevcuttu. Bu hastalardan 12’sinde 1+, 8’inde 2+, 1’inde 3+ şiddetinde granüler tarzda boyanma izlendi. Serum antikor seviyesi bakılmayıp, sadece biyopsi örnekleri değerlendirilen 18 primer MGN tanılı hastanın ise 14’ünde biyopside pozitif reaksiyon saptanırken, 4’ünde negatif reaksiyon tespit edildi. Serum sonucu pozitif 43 hastanın ise 1’inde biyopside pozitifite saptanmadı. Anti-PLA2R antikorunu serum titrasyon oranı ile biyopsi örneklerindeki boyanma şiddeti arasında güçlü bir korelasyon tespit edildi ( $r=0,671$ ,  $p<0.001$ ) (Tablo 5). Debiec ve ark.’ları 2011 yılında primer MGN tanılı 42 hastada serum ve biyopsi

örneklerinde Anti-PLA2R antikor ekspresyonunu araştırmışlardır (24). 42 hastanın 24'ünde (%57) dolaşımda antikor tespit ederken, hastaların 31'inde (%74) biyopside antikor ekspresyonu varlığını saptamışlardır. Serum pozitivitesi gösteren 24 hastanın 21'inde biyopside de pozitivite saptarken, 3 hastada biyopside negatif reaksiyon almışlardır. Serumda Anti-PLA2R antikoru saptanmayan 10 hastada ise böbrek biyopsilerinde pozitif reaksiyon alınmıştır. Serumda Anti-PLA2R antikoru pozitif, biyopside ise Anti-PLA2R antikoru negatif 3 hasta için, bu hastalardaki antikorların nefritojenik olmayabileceği veya antijenik epitoplara böbrek biyopsisi sırasında zayıf olarak eksprese ediliyor olabileceği sonucuna varmışlardır. Serum antikoru 1/10 dilüsyon oranlarında bile negatif saptanan, ancak dokuda pozitif reaksiyon alınan 10 hastada ise bu sonucu; antikorların hızla kandan temizlenip glomerüllerde depolanmasına veya hastaların geri dönüşsüz glomerüler hasar oluştuktan sonra kliniğe geç başvurularına veya serolojik inaktivite döneminde olunmasına bağlamışlardır (25).

Çalışmamızda serumda Anti-PLA2R antikoru negatif, biyopside ise Anti-PLA2R antikoru pozitif 21 hastalık grupta ve serumda Anti-PLA2R antikoru pozitif, biyopside ise Anti-PLA2R antikoru negatif 1 hastamızda da aynı durum söz konusu olabilir. Serumda Anti-PLA2R antikoru negatif, biyopside ise Anti-PLA2R antikoru pozitif 21 kişilik hasta grubunda bir hastada hem morfolojik hem de İF mikroskopik olarak farklı bulgular mevcuttu. Hastanın Anti-PLA2R antikoru ile boyanma şiddeti 1+ olarak değerlendirilmişti. Bu hasta 64 yaşında bir erkek hastaydı. Işık mikroskopik olarak Masson Trikrom boyasında epitelyal ve intramembranöz birikimlerin yanısıra subendotelyal büyük çapta birikimler de mevcuttu. İF'de ise; IgG ve C1q ile kuvvetli, IgM ve C3 ile zayıf granüler pozitivite izlenmiş, birikim paterni membranöz nefropatiye uymakla birlikte lupus nefriti olasılığı düşünülmüştü. Ayrıca intrakapiller ve subendotelyal birikimler nedeni ile de lupus nefriti (Klas V+IV) olasılığı ya da kriyoglobulinemi olasılığı kliniğe bildirilmiş, ancak klinik hastayı primer MGN olarak kabul etmişti. Primer MGN için atipik olan bu bulguların hastanın Anti-PLA2R antikoru serum ekspresyonu üzerinde etkisi olup olmadığı konusunda yorum yapılamadı. Literatürde de bu şekilde bir hasta profiline rastlanmadı. Serumda Anti-PLA2R antikoru pozitif 43 kişilik hasta grubunda Anti-PLA2R antikoru 1/100 titrede pozitif saptanan, ancak biyopsi örneği negatif saptanan bir hasta ise 72 yaşında erkek hastaydı. Bu hasta evre 1-2 MGN tanısı almıştı. Işık mikroskopik incelemede,

interstisyumda yer yer yoğunlaşan lenfoplazmasiter infiltrasyon mevcuttu. İF’de IgG ile 1+ boyanma, C3 ile 2+ boyanma ve Kappa hafif zincir negatif ve Lambda hafif zincir ile 1+ boyanma tespit edilmişti. İnterstisyel infiltrasyon için immünohistokimyasal inceleme yapılmış, ancak lenfoproliferatif ya da myeloproliferatif neoplastik infiltrasyon yorumu için yeterli bir kanıt elde edilememiştir. Hastanın takiben alınan lenf nodu biyopsisine ise ‘Anjiyoimünoblastik T hücreli lenfoid hiperplazi’ tanısı verilmiş, malignite yönünde kesin yorum yapılamamıştır. Hasta takip sırasında enfeksiyon nedeni ile kaybedilmiş ve klinikçe de primer MGN olarak kabul edilmiştir. Bu hastanın mevcut lenfoproliferatif infiltrasyonu ve MGN’in tesadüfi olarak birlikte ortaya çıktığı düşünüldü. Yüksek titrasyonda serum antikor ekspresyonuna rağmen biyopside Anti-PLA2R antikoruna ile reaksiyon saptanmaması ise Debiec ve ark.’larının (24) da öngördüğü gibi antikorun nefritojenik olmadığı ya da biyopsi sırasında antijenik epitopun zayıf olarak eksprese edilmesine bağlandı.

Bu çalışmada primer MGN tanılı hastaların %88,5’inde Anti-PLA2R antikoruna ile biyopside pozitif reaksiyon saptanırken, %11,5’inde negatif sonuç alındı. Sekonder MGN tanılı hastaların ise %14,3’ünde Anti-PLA2R antikoruna ile biyopside pozitif reaksiyon saptanırken, kalan %85,7’inde negatif sonuç alındı. İF mikroskopik incelemede Anti-PLA2R antikor varlığının araştırılması için sensitivite %88,5 iken, spesifite %85,7 olarak bulundu. Hoxha ve ark.’ları 2012 yılında yaptıkları çalışmada primer MGN tanısı almış 88 hastanın 61’inde (%69,3) Anti-PLA2R antikoruna ile pozitif doku reaksiyonu tespit etmişlerdir (88). Dokuda pozitif reaksiyon alınan 61 hastanın 60’ünde ise serumda da antikor varlığı tespit edilmiştir. Kalan 27 hastada hem dokuda hem de serumda pozitiflik tespit etmemişlerdir. Aynı zamanda hastalarda IgG alt gruplarını incelemişler ve hastaların tümünde IgG4 baskınlığı olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca normal böbrek dokularında da zayıf-silik bir boyanma görülebileceğini ve bu boyanmanın primer MGN hastalarında görülen güçlü boyanmadan ayırt edilmesi gerekliliğini vurgulamışlardır (88). Bizim de İF mikroskopik incelemede Anti-PLA2R antikoruna ile boyanmasını değerlendirirken zorlandığımız bir hasta grubu oldu. Bu grup hastada zemin ile yaklaşık olarak aynı şiddette refle veren glomerüler reaksiyon izlenen hastalarda, özellikle boyanma tarzı bize yardımcı oldu. Kesin bir şekilde granüler olarak değerlendirdiğimiz vakalar pozitif olarak kabul edildi. Öte yandan bizim çalışmamızda kontrol grubu olan IgA nefropatisi tanılı hastalarda,

kesin olarak pozitif boyanma olarak değerlendirdiğimiz 2 vaka dışında diğer vakalarda şüpheye yer bırakacak hiğbir boyanma izlenmedi.

Larsen ve ark.'larının yukarıda ayrıntılı olarak bahsedilen çalışmasında ise dokuda Anti-PLA2R antikor sensitivitesi %75 iken, spesifitesi %83 olarak bulunmuştur (89).

Svobodova ve ark.'ları yaptıkları araştırmada ise primer MGN tanısı almış 65 hastanın 45'inde (%69) biyopside pozitivite saptarken, 20'sinde (%31) negatif reaksiyon elde etmişlerdir. Sekonder MGN tanılı 19 hastadan iki HBV tanılı ve bir sarkoidoz tanılı hastada Anti-PLA2R ile pozitivite izlerken, SLE tanılı 16 hastada ise negatif reaksiyon elde etmişlerdir. Bu hastalardan serum örnekleme biyopsi esnasında veya relaps sırasında yapılan 28 hastanın 18'inde (%64) serumda antikor varlığını göstermişlerdir. Kalan 37 hastanın serum örnekleme remisyon sırasında yapılmış olup, bu hastalardan sadece 8'inde (%22) serumda antikor varlığı gösterilmiş olup, 22'sinde (%59) immün birikimlerde Anti-PLA2R antikor varlığı izlenmiştir. Biyopsi sırasında serum örnekleme yapılan 20 hastanın 6'sında (%30) serumda antikor saptanmamış olup, bu hastalardan 3'ünde dokuda pozitif reaksiyon alınmıştır. Sekonder MGN tanılı olup serumunda antikor saptanan 3 hastadan 2'sinde de dokuda pozitif antikor yanıtı alınmıştır. Sonuç olarak, tanı sırasında serum örnekleme yapılmayan hastalarda veya serum negatif saptanan hasta grubunda mutlaka biyopsi rnekleme Anti-PLA2R antikor ekspresyonunun bakılması gerektiği sonucuna varmışlardır. Ayrıca biyopside Anti-PLA2R antikor varlığının primer MGN ile SLE hastalarını ayırt edebileceğini ancak diğer nedenlere bağlı sekonder MGN hastalarında bu ayırımın her zaman mümkün olmadığı sonucuna varmışlardır. Ancak sekonder nedenlerin ve primer MGN'nin tesadüfi birlikteliğinin dışlanamayacağını da belirtmişlerdir (90).

Medrano ve ark.'ları 2014 yılında yaptıkları çalışmada primer MGN tanısı almış 47 hasta ve sekonder MGN tanısı almış 17 hastada serumda ve dokuda Anti-PLA2R antikor ekspresyonunu incelemişlerdir (140). Biyopside immünhistokimyasal yöntem kullanmışlardır. Primer MGN hastalarının %76,6'sında boyanma saptarken, sekonder MGN tanılı hastaların %5,8'inde boyanma izlemişlerdir. Serumda ise primer MGN hastalarında %74,4 sensitivite ve %94,1 spesifite saptamışlardır (140). Barrett ve ark.'ları yaptıkları İF mikroskopik çalışmada 7 MGN tanılı hastanın 2'sinde Anti-PLA2R antikorunu pozitif olarak bulmuşlardır (142).

Dai H ve ark.'ları 2015 yılında yaptıkları meta analizde 2009 ve 2014 yılları arasında yayınlanmış, Anti-PLA2R antikör seviyesinin serumda ve dokuda değerlendirildiği toplam 19 adet çalışmayı incelemiştirlerdir (142). Bu 19 çalışmada toplam 1160 hasta değerlendirilmiştir. Üç çalışma sadece dokuda, 3 çalışma hem serum hem de dokuda ve kalan 13 çalışmada ise sadece serumda antikör varlığının araştırıldığı görülmüştür. Bu araştırmalar Avrupa, Amerika ve Asya'da gerçekleştirilmiş olup, bu metaanalizde birden fazla etnik grubun incelenmesini sağlamıştır. Çalışmaların kalite değerlendirmeleri QUADAS'a göre yapılmıştır. Serum Anti-PLA2R antikör düzeylerinin ortalama sensitivitesi %68 (%61-%74), spesifitesi %97 (%85-%100) bulunurken, >3,5 gr/gün proteinüri saptanan ve immünsüpresif tedavi öncesi biyopsi sırasında serum örnekleme yapılan hastalarda ortalama sensitivite %78 (%71-%84) ve spesifite %82 (%61-%93) olarak bulunmuştur. Biyopside Anti-PLA2R antikörünün ortalama sensitivitesi %78 (%72-%83) ve spesifitesi %91 (%75-%97) olarak bulunmuştur. Sonuç olarak biyopside Anti-PLA2Rdeğerlendirmesinin serolojik testten daha değerli olduğu kanısına varılmıştır. Bunun nedenleri olarak da daha önce Debiec ve ark.'larının da (24) belirttiği gibi antikörlerin kandan hızla temizlenip glomerüllerde depolanması veya geri dönüşümsüz hasar oluştuktan sonra geç evrede örnekleme yapılmasının etkili olabileceği söylenmiş ve bu yüzden serum antikörü negatif saptanan hastalarda mutlaka biyopside de antikör ekspresyonunun araştırılması gerekliliğini vurgulamışlardır (142).

Tekrar etmek gerekirse bizim çalışmamızda serum Anti-PLA2R antikör varlığı için sensitivite %62, spesifite %100; biyopside Anti-PLA2R antikör ekspresyonu içinse sensitivite % 88,5, spesifite %85,7 olarak bulundu. Bu oranlar Dai ve ark.'larının yapmış olduğu meta analizdeki verilerle karşılaştırıldığında serum sensitivite oranları diğer çalışmalarla korelasyon gösterirken, biyopsi sensitivite oranları daha yüksek olarak bulundu. Serumda veya İF mikroskopiden herhangi birinde Anti-PLA2R antikör pozitifliğini ve her ikisinin de pozitifliğini pozitif ekspresyon olarak kabul ettiğimizde sensitivite oranının %92,7'ye yükseldiğini gördük. Her iki testin de pozitif olması durumunun pozitif ekspresyon olarak kabul edilmesi durumunda ise sensitivitenin oldukça düştüğünü ve %60,8 olduğunu gördük. Bu açıdan serum negatif hastaların her zaman Anti-PLA2R negatif hastalar olmadığını ve bu hasta grubunda ve özellikle de serum örnekleme biyopsi tarihinden farklı bir zamanda yapılmışsa, mutlaka dokuda da antikör ekspresyonunun araştırılması gerektiği sonucuna vardık.

Bu çalışmamızın eksik yönü, çalışmada IgG4 alt tip tayini yapılamamış olmasıdır. Bu analizin yapılmış olması durumunda, hem primer MGN tanılı olup negatif sonuç aldığımız grupta hem de sekonder MGN tanılı olup pozitif doku reaksiyonu aldığımız grupta yüksek olasılıkla primer MGN varlığı söz konusudur denilebilirdi.

Literatürde Larsen ve ark.'larının (89) yaptığı çalışma dışında biyopside Anti-PLA2R antikoru ile boyanma şiddetini derecelendiren başka bir çalışma yoktu. Biz de çalışmamızda standart İF değerlendirme kurallarına uyarak hastalardaki boyanma şiddetini 0'dan 3'e kadar derecelendirdik. Primer MGN tanılı ve İF pozitif grupta büyük oranda 2+ ve 3+ boyanma izlerken, sekonder MGN ve IgA grubunda ise 1+ zayıf granüler boyanma izledik. İndirekt İF yöntem ile bakılan Anti-PLA2R antikoru boyanma şiddetinin primer ve sekonder MGN ve kontrol grupları arasında gösterdiği farklılığın öneminin belirlenmesi ve yöntemin validasyonu için daha geniş vaka serilerine ihtiyaç vardır.

Literatürden farklı olarak, çalışmaya dahil olan primer MGN tanılı hastaların hepsinde ışık mikroskopik olarak hastalık evreleri belirlenmişti. Ancak hastalık evresi ile serum antikor titrasyonu ve İF boyanma şiddeti arasında korelasyon saptamadık. İncelediğimiz çalışmalar içinde de bu yönde bir değerlendirmeye rastlamadık.

Literatürdeki pek çok çalışma gibi biz de retrospektif bir çalışma gerçekleştirdik. Hastaların serum örneklemeleri biyopsi esnasında, remisyonunda, immünsüpresyon alıp remisyonunda iken veya relaps dönemleri gibi farklı zamanlarda alınmıştı. Bu nedenle serum ekspresyonları ile ilgili doğru bir yaklaşımda bulunmak mümkün değildi. Bundan sonra planlanacak çalışmaların prospektif olarak planlanması, serum örneklerinin biyopsi alındığı sırada alınması ve daha fazla sayıda primer ve sekonder MGN tanılı hastayı içeren çalışmaların planlanması hem genel literatüre katkı sağlaması hem de bizim bu konudaki bilgi ve deneyimimizi geliştirmesi açısından faydalı olacaktır.

## 7. SONUÇLAR

1. Bu çalışmadaki hastaların 87'si primer membranöz glomerülonefrit, 21'i sekonder membranöz glomerülonefrit, 32'si IgA nefropatisi tanılı hastalardı.

2. Çalışmaya alınan hastaların genel yaş ortalaması 44 olarak bulunmuş olup, hastaların %53,5'ini erkekler oluşturuyordu.

3. Tüm hastaların ortalama proteinüri değeri 5,4 gr/gündü.

4. Çalışmaya alınan primer membranöz glomerülonefrit hastalarının yaş ortalaması 49 olup, genel literatür ile uyumlu olarak 4. ve 5. dekad aralığında bulunuyordu.

5. Primer membranöz glomerülonefrit hastalarında erkek baskınlığı (%64,4) söz konusuydu.

6. Primer membranöz glomerülonefrit hastalarında ortalama proteinüri değeri 6,7 gr/gün olup, genel literatürde belirtilen 6,5 gr/gün proteinüri değeri ile benzerdi.

7. Sekonder membranöz glomerülonefrit hastalarının yaş ortalaması 32, ortalama proteinüri değeri 3,6 gr/gün olup, hastaların %90, 5'ini kadınlar oluşturuyordu. Ayrıca sekonder membranöz glomerülonefrit tanılı hastaların % 90,5'ini Sistemik lupus eritematozus tanılı hastalar oluşturmaktaydı.

8. IgA nefropatisi tanılı grupta yaş ortalaması 38, ortalama proteinüri değeri 2,8 gr/gün olup, hastaların %53,1'i erkekti.

9. Serum-Anti PLA2R antikoruna değerlendirilen primer membranöz glomerülonefrit tanılı hastaların %62,3'ünde Anti-PLA2R antikoruna pozitif bulundu. Sekonder membranöz glomerülonefrit ve IgA nefropatisi tanılı hastaların serumlarında Anti-PLA2R antikoruna saptanmadı.

10. İmmünflöresan mikroskopik incelemede primer MGN tanılı hastaların %85,5'inde, sekonder membranöz glomerülonefrit tanılı hastaların %14,3'ünde ve IgA

nefropatisi tanılı hastaların %6,2'sinde Anti-PLA2R antikoruna ile pozitif reaksiyon izlendi.

11. Primer MGN tanılı hastaların 21'inde (%27,2) 1+, 34'ünde (%44,2) 2+, 22'sinde (%28,6) 3+ şiddetinde granüler tarzda membranöz boyanma izlendi. Sekonder membranöz glomerülonefrit ve IgA nefropatisi tanılı grupta ise Anti-PLA2R antikoruna ile 1+ şiddetinde granüler tarzda membranöz boyanma izlendi.

12. Primer membranöz glomerülonefrit tanılı hastalarda hastalık evresi ile boyanma şiddeti arasında korelasyon saptanmadı ( $p=0,249$ ).

13. Serumda Anti-PLA2R antikoruna değerlendirilen ve pozitif reaksiyon alınan hastaların 7'sinde (%16,3) 1/10 titrasyonda, 10'unda (%23,2) 1/50 titrasyonda, 15'inde (%34,9) 1/100 titrasyonda, 11'inde (25,6) 1/1000 titrasyonda antikor tespit edilmiştir.

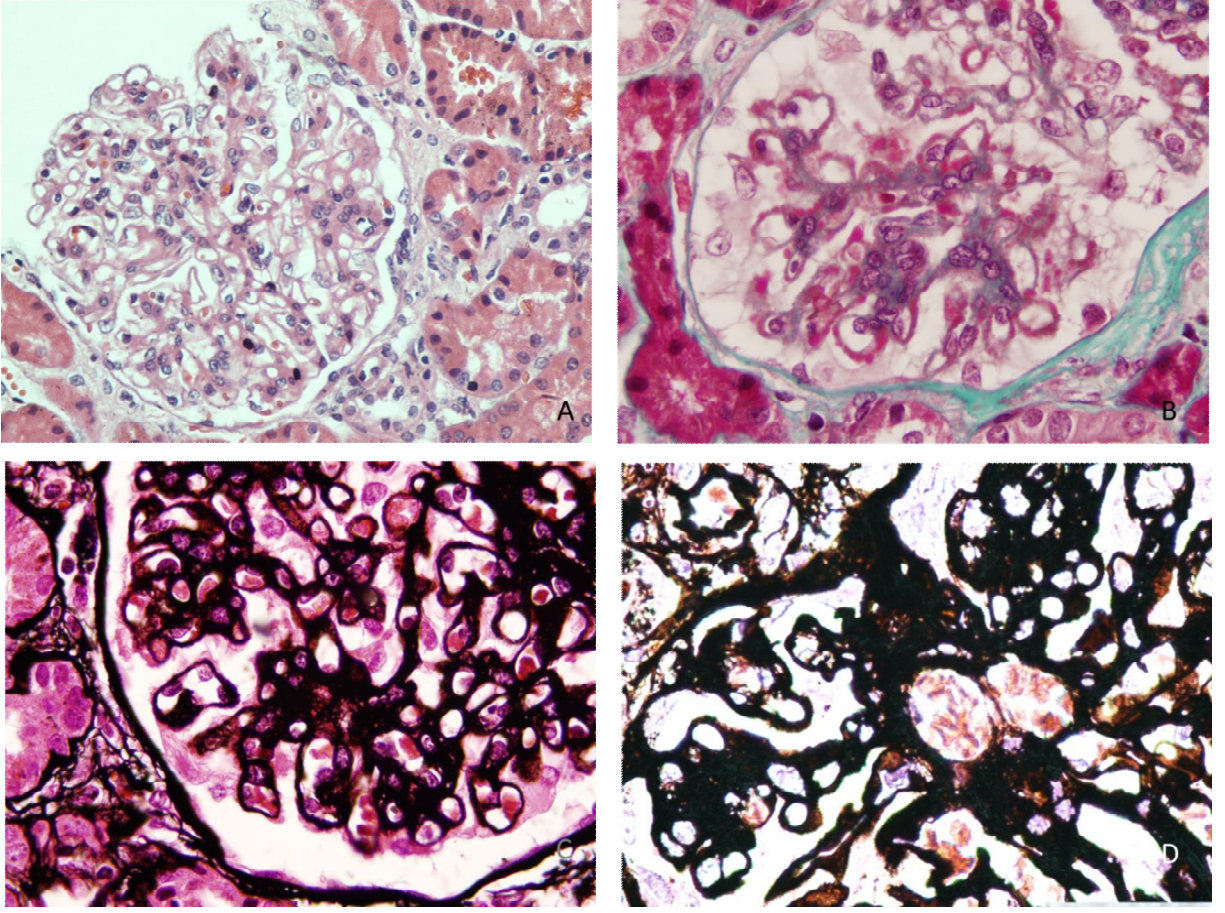
14. Serum Anti-PLA2R antikor titrasyonu ile boyanma şiddeti arasında güçlü bir korelasyon tespit edildi ( $r=0,671$ ,  $p<0.001$ ).

15. Biyopside Anti-PLA2R antikoruna boyanma şiddeti ile serum Anti-PLA2R antikoruna titrasyonu arasında da güçlü bir korelasyon tespit edildi ( $r=706$ ,  $p<0.001$ ).

16. Serum Anti-PLA2R antikorunun sensitivitesi %62, spesifitesi %100; İF mikroskopik inceleme ile Anti-PLA2R antikorunun sensitivitesi %88,5, spesifitesi %85,7 olarak bulundu. Anti-PLA2R antikorunun biyopsi örneklerinde değerlendirilmesinin sensitivitesinin yüksek, ancak spesifitesinin serumda değerlendirmeye göre daha düşük olduğu görüldü. Her iki testin birlikte kullanılması durumunda sensitivitenin %92,7, spesifitesinin %66,6 olduğu izlendi. Sonuç olarak her iki testin birlikte değerlendirilmesinin primer membranöz glomerülonefrit tanısında daha değerli olacağı kanısına varıldı.

17. Hastalara ait serum örneklemelerinin biyopsi örnekleme ile aynı anda yapılmasının sağlıklı bir sonuç için daha güvenilir olacağı kanısına varıldı.

18. Anti-PLA2R antikorunun primer MGN hastalarında varlığının daha geniş serilerde ve prospektif olarak değerlendirilmesinin gerekli olduğuna karar verildi.



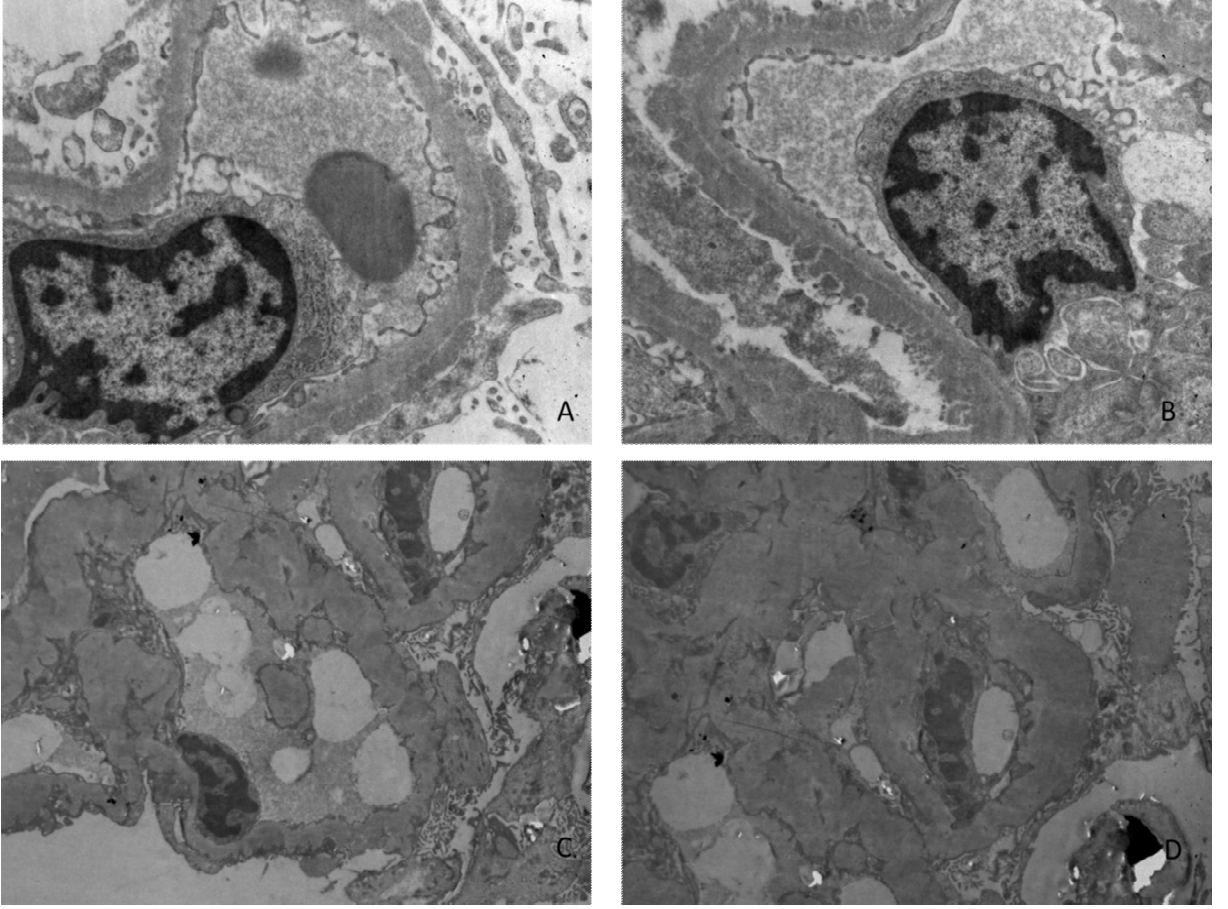
**Resim 1:** Membranöz glomerülonefritte histopatolojik bulgular

A: Glomerüler bazal membranda diffüz kalınlaşma (HEx400)

B: Bazal membran boyunca subepitelyal kırmızı renkli birikimler (Masson Trikromx400)

C: Glomerüler bazal membranda dikensi çıkıntılar (spike) ve köpüksü görünüm (PAS-Mx400)

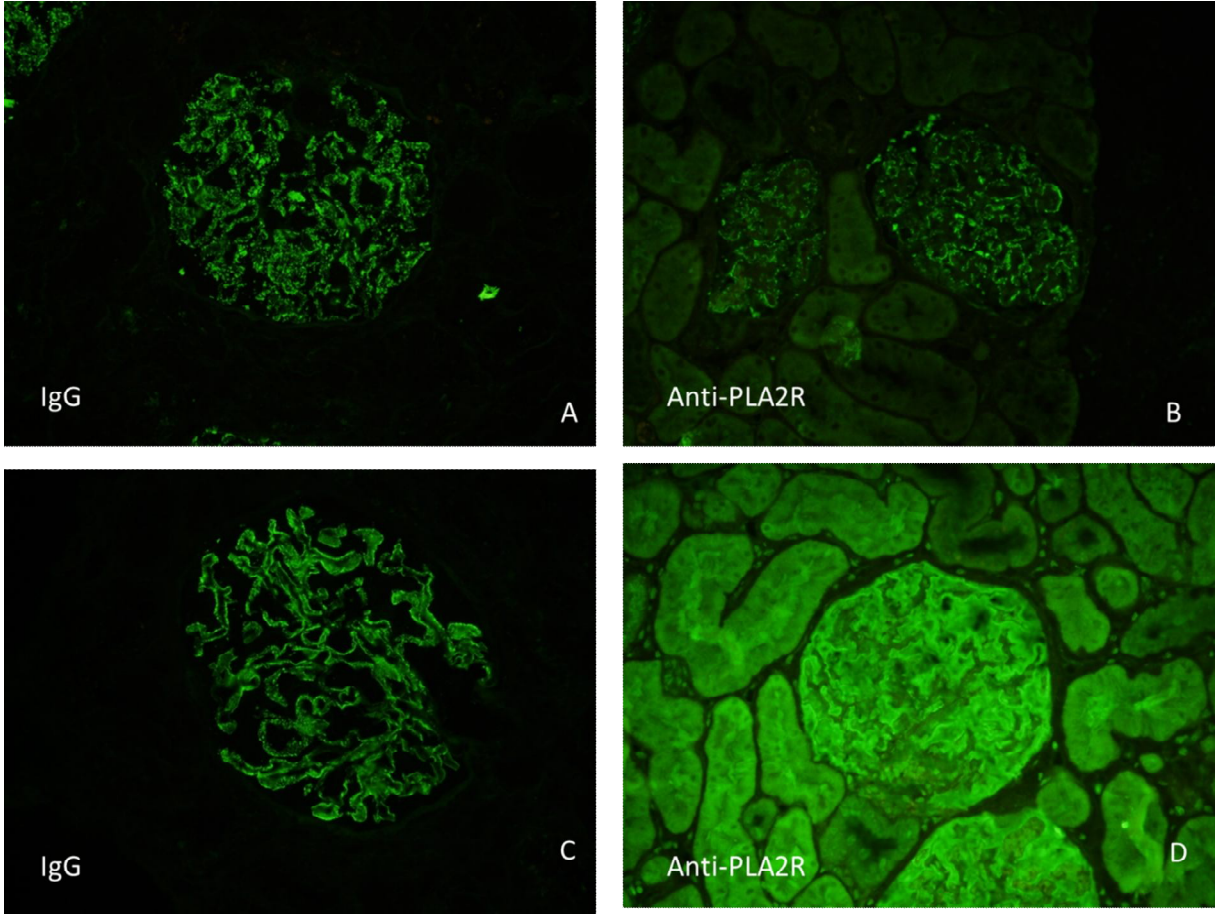
D: Glomerüler bazal membranda dikensi çıkıntılar ve duplikasyon (PAS-Mx1000)



**Resim 2:** Membranöz glomerülonefritte elektron mikroskopik görünüm.

A-B: Bazal membran boyunca subepitelyal alanda elektron yoğun birikimler ve dikensi çıkıntılar (İTF Histoloji Prot. No: 21053)

C-D: Bazal membran boyunca subepitelyal alanda elektron yoğun birikimler, dikensi çıkıntılar ve yeni membran oluşumu (İTF Histoloji Prot. No: 20402)



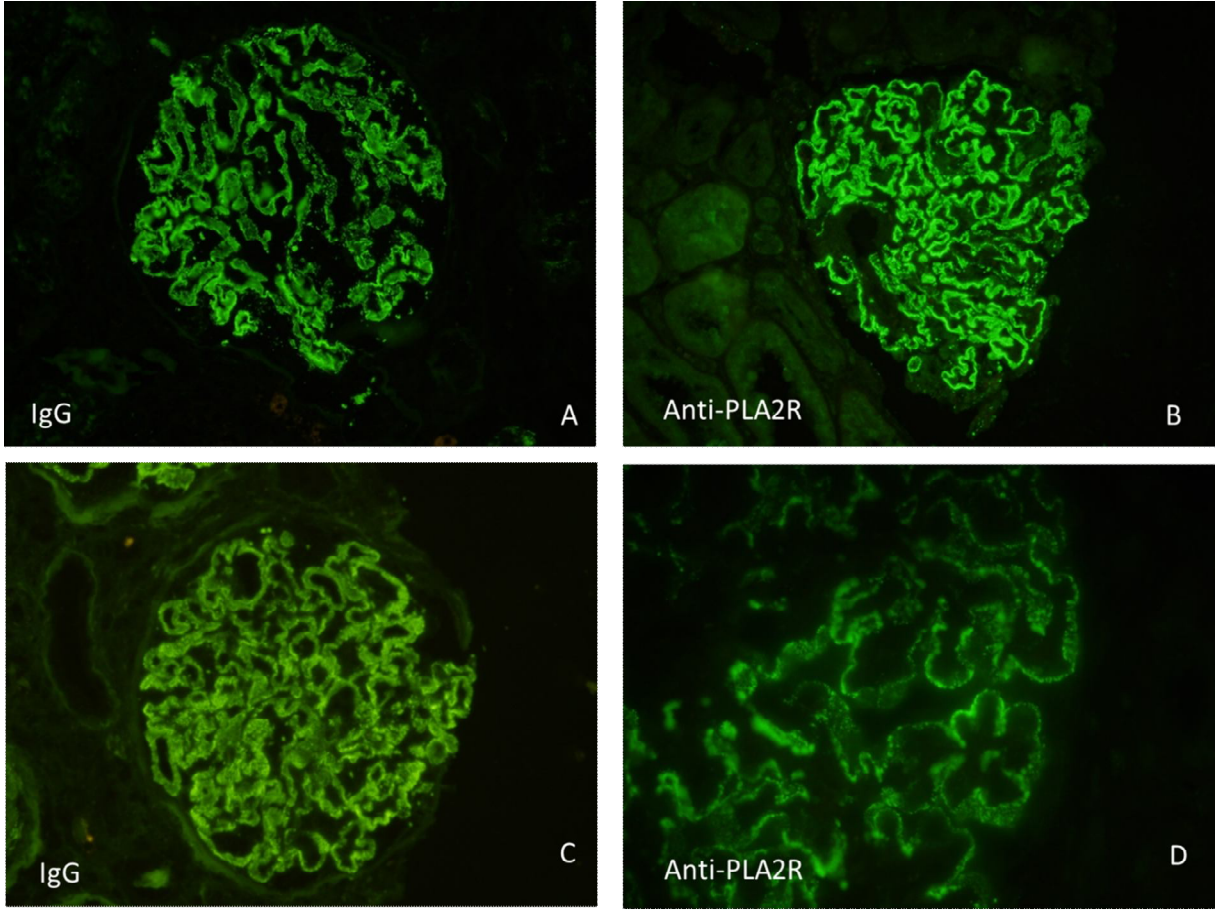
**Resim 3:** Evre 1 membranöz glomerülo nefritte immünflöresanda IgG ve Anti-PLA2R antikoruna ile boyanma.

A: IgG ile 3+ granüler membranöz boyanma (İTF Prot. No: 6639-2010, x400)

B: Anti-PLA2R antikoruna ile 2+ granüler membranöz boyanma ( İTF Prot. No: 6639-2010, x400)

C: IgG ile 3+ granüler membranöz boyanma (İTF Prot. No: 33346-2009, x400)

D: Anti-PLA2R antikoruna ile negatif boyanma ( İTF Prot. No: 33346-2009, x400)



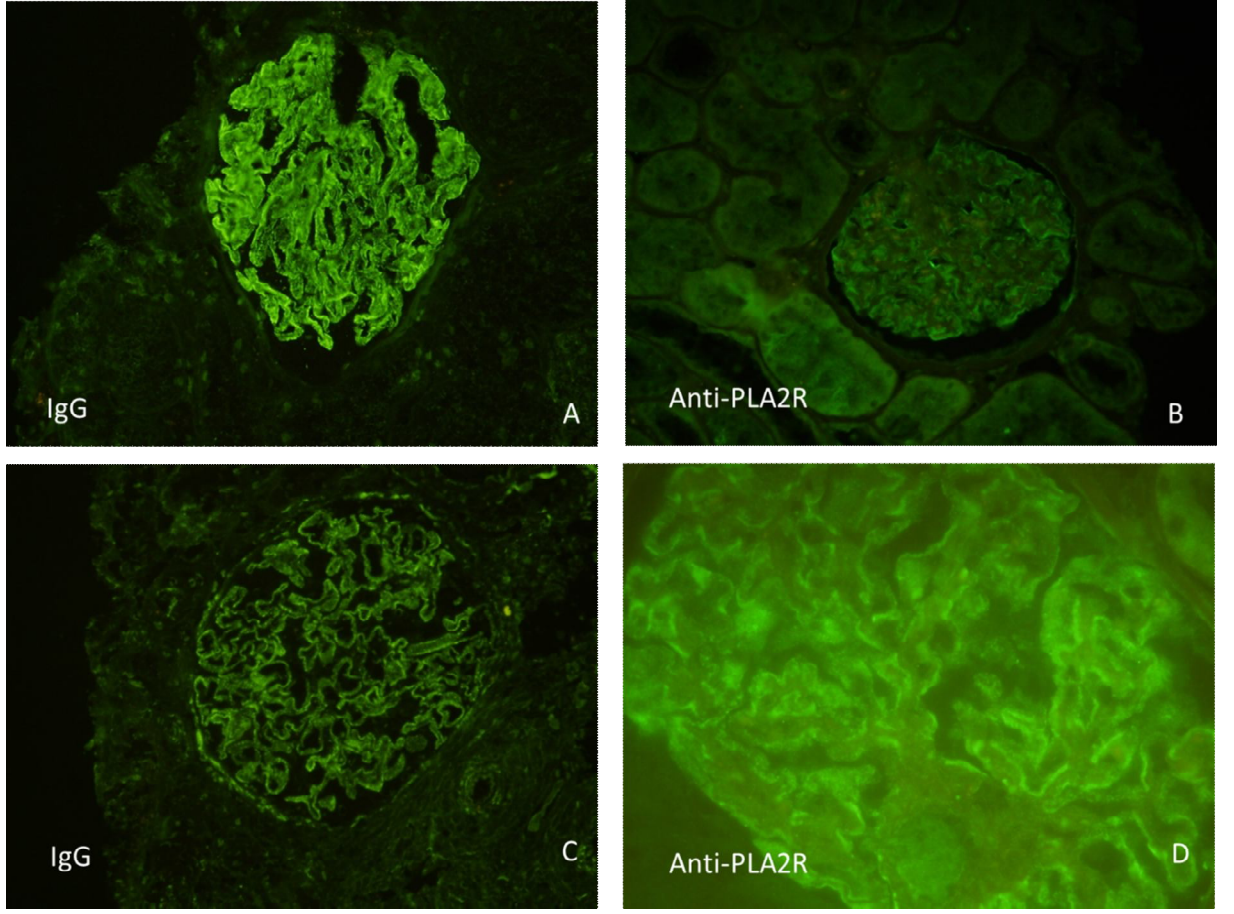
**Resim 4:** Evre 2 (A-B) ve evre 3 (C-D) membranöz glomerülonefrit, immünflöresanda IgG ve Anti-PLA2R antikoruna ile boyanma

A: IgG ile 3+ granüler membranöz boyanma (İTF Prot. No: 13755-2011, x400)

B: Anti-PLA2R antikoruna ile 3+ granüler membranöz boyanma ( İTF Prot. No: 13755-2011, x400)

C: IgG ile 3+ granüler membranöz boyanma (İTF Prot. No: 28255-2012, x400)

D: Anti-PLA2R antikoruna ile 3+ granüler membranöz boyanma ( İTF Prot. No: 28255-2012, x1000)



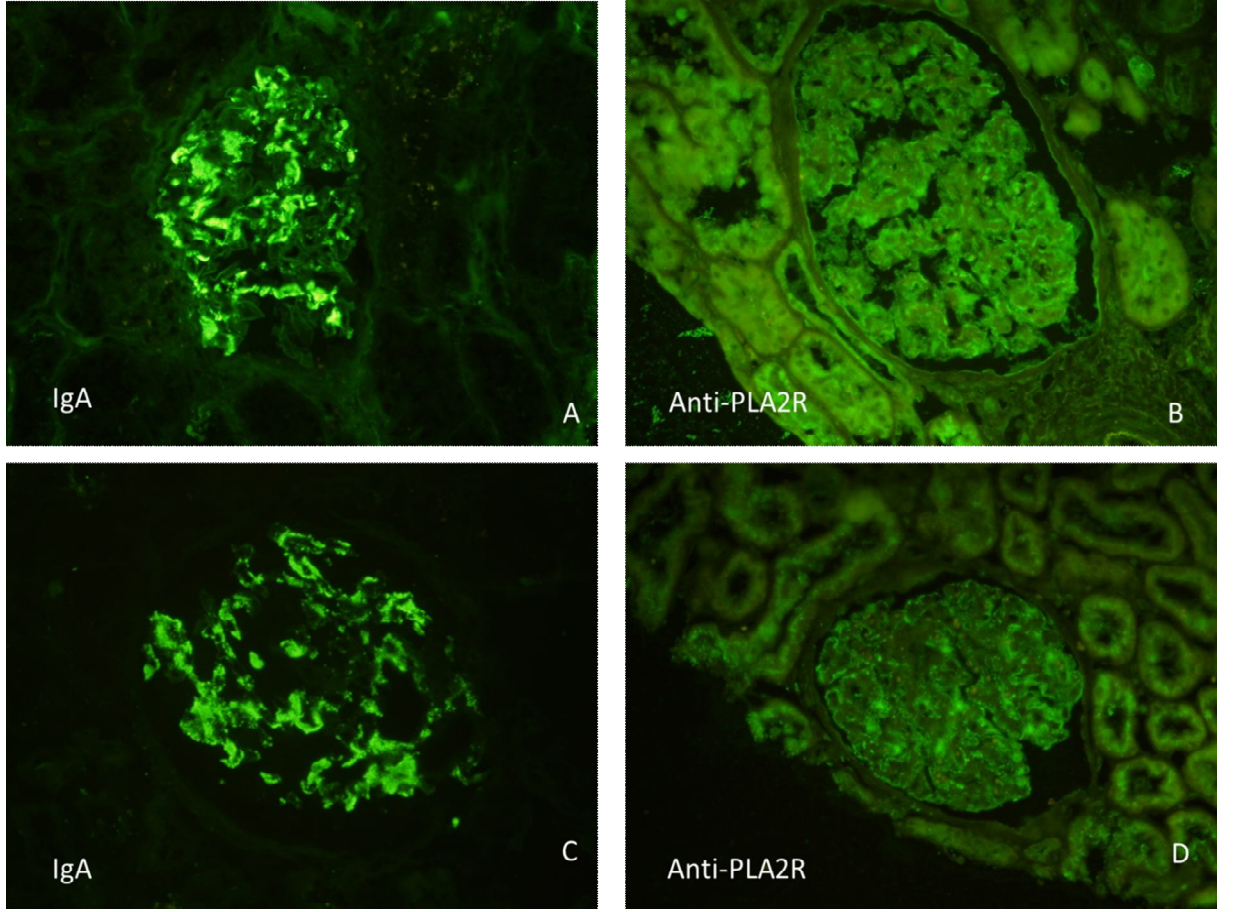
**Resim 5:** Membranöz tipte lupus nefriti, immünflöresanda IgG ve Anti PLA2R antikoruna ile boyanma

A: IgG ile 3+ granüler membranöz boyanma ( İTF Prot. No:23260-2012, x400)

B: Anti-PLA2R antikoruna ile negatif boyanma ( İTF Prot. No:23260-2012, x400)

C: IgG ile 3+ granüler membranöz boyanma ( İTF Prot. No: 30823-2012, x400)

D: Anti-PLA2R antikoruna 1+ boyanma ( İTF Prot. No: 30823-2012, x1000)



**Resim 6:** IgA nefropatisi, immünlöresanda IgA ve Anti-PLA2R antikorü ile boyanma.

A: IgA ile 3+ granüler mezangiyal boyanma ( İTF Prot. No: 23631-2013, x400)

B: Anti-PLA2R antikorü ile negatif boyanma ( İTF Prot. No: 23631-2013, x400)

C: IgA ile 3+ granüler mezangiyal boyanma ( İTF Prot. No: 32872-2013, x400)

D: Anti-PLA2R antikorü ile 1+ granüler membranöz boyanma ( İTF Prot. No: 32872-2013, x400)

## 8. KAYNAKLAR

1. Markowitz GS, D'Agati VD. Membranous Glomerulonephritis. In: Jennette JC, Silva FG, Olson JL, D'Agati VD (eds). *Heptinstall's Pathology of the Kidney*. Wolters Kluwer. Philadelphia, USA, 7th ed., 2015; p.255-99.
2. Fogo AB, Kashgarian M. *Diagnostic Atlas of Renal Pathology*. Elsevier Saunders. Philadelphia, USA, 2nd ed., 2012; p.65-80.
3. Rosen S, Tornroth T, Bernard DB. Membranous Glomerulonephritis. In: Tisher CC, Brenner BM et al (ed)., *Renal Pathology With Clinical and Functional Correlations*. J.B. Lippincott Company. Philadelphia, USA, 2nd ed., 1994; p. 258-93.
4. Kern FW, Silva FG, Laszik ZG, Bane BL, Nadasdy T, Pitha JV. *Atlas of Renal Pathology*, W.B. Saunders Company. Philadelphia, USA, 1st ed., 1999; p. 50-6.
5. Chang A, Colvin RB. Membranous Glomerulonephritis. In: Colvin RB, Chang A, 'Brad' Farris' BA, Kambham N, Cornell LD, Meehan SM et al (ed). *Diagnostic Pathology Kidney Diseases*. Amirsys. Altona, Canada, 1st ed., 2011; p. 46-61.
6. Lai WL, Yeh TH, Chen PM, Chan CK, Chiang WC, Chen YM, et al. Membranous nephropathy: a review on the pathogenesis, diagnosis, and treatment. *J Formos Med Assoc.* 2015;114(2):102-11.
7. Hu SL, Wang D, Gou WJ, Lei QF, Ma TA, Cheng JZ. Diagnostic value of phospholipase A2 receptor in idiopathic membranous nephropathy: a systematic review and meta-analysis. *J Nephrol.* 2015;27(2):111-6.
8. Herrmann SM, Sethi S, Fervenza FC. Membranous nephropathy: the start of a paradigm shift. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2012;21(2):203-10.
9. Qin W, Beck LH Jr, Zeng C, Chen Z, Li S, Zuo K, et al. Anti-phospholipase A2 receptor antibody in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2011;22(6):1137-43.
10. Beck LH Jr, Bonegio RG, Lambeau G, Beck DM, Powell DW, Cummins TD, et al. M-type phospholipase A2 receptor as target antigen in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med.* 2009;361(1):11-21.
11. Haas M, Meehan SM, Karrison TG, Spargo BH. Changing etiologies of unexplained adult nephrotic syndrome: a comparison of renal biopsy findings from 1976-1979 and 1995-1997. *Am J Kidney Dis.* 1997;30(5):621-31.

12. Korbet SM, Genchi RM, Borok RZ, Schwartz MM. The racial prevalence of glomerular lesions in nephrotic adults. *Am J Kidney Dis.* 1996;27(5):647-51.
13. Chen A, Frank R, Vento S, Crosby V, Chandra M, Gauthier B, et al. Idiopathic membranous nephropathy in pediatric patients: presentation, response to therapy, and long-term outcome. *BMC Nephrol.* 2007;6;8:11.
14. Glassock RJ. Secondary membranous glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant.* 1992;7 Suppl 1:64-71.
15. Ronco P, Debiec H. Idiopathic and secondary membranous nephropathies. *Presse Med.* 2012;41(3 Pt 1):290-7.
16. Medawar W, Green A, Campbell E, Carmody M, Donohoe J, Doyle G, et al. Clinical and histopathologic findings in adults with the nephrotic syndrome. *Ir J Med Sci.* 1990;159(5):137-40
17. Glassock RJ. The pathogenesis of idiopathic membranous nephropathy: a 50-year odyssey. *Am J Kidney Dis.* 2010;56(1):157-67.
18. Segal PE, Choi MJ. Recent advances and prognosis in idiopathic membranous nephropathy. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2012;19(2):114-9.
19. Ronco P, Debiec H. Molecular pathomechanisms of membranous nephropathy: from Heymann nephritis to alloimmunization. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16(5):1205-13.
20. Kerjaschki D, Farquhar MG. The pathogenic antigen of Heymann nephritis is a membrane glycoprotein of the renal proximal tubule brush border. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1982;79(18):5557-61.
21. Debiec H, Guignon V, Mougnot B, Decobert F, Haymann JP, Bensman A, et al. Antenatal membranous glomerulonephritis due to anti-neutral endopeptidase antibodies. *N Engl J Med.* 2002;346(26):2053-60..
22. Hofstra JM, Beck LH Jr, Beck DM, Wetzels JF, Salant DJ. Anti-phospholipase A<sub>2</sub> receptor antibodies correlate with clinical status in idiopathic membranous nephropathy. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011;6(6):1286-91.
23. Hoxha E, Harendza S, Zahner G, Panzer U, Steinmetz O, Fechner K, et al. An immunofluorescence test for phospholipase-A<sub>2</sub>-receptor antibodies and its clinical usefulness in patients with membranous glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant.* 2011;26(8):2526-32.
24. Debiec H, Ronco P. PLA2R autoantibodies and PLA2R glomerular deposits in membranous nephropathy. *N Engl J Med.* 2011;364(7):689-90.
25. Beck LH Jr, Fervenza FC, Beck DM, Bonegio RG, Malik FA, Erickson SB, et al. Rituximab-induced depletion of anti-PLA2R autoantibodies predicts response in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2011;22(8):1543-50.

26. Ruggenti P, Chiurciu C, Abbate M, Perna A, Cravedi P, Bontempelli M, et al. Rituximab for idiopathic membranous nephropathy: who can benefit? *Clin J Am Soc Nephrol*. 2006;1(4):738-48.
27. Jones DB. Nephrotic glomerulonephritis. *Am J Pathol*. 1957;33(2):313-29.
28. Farquhar MG, Vernier RL, Good RA. An electron microscope study of the glomerulus in nephrosis, glomerulonephritis, and lupus erythematosus. *J Exp Med*. 1957;106(5):649-60.
29. Mellors RC, Ortega LG, Holman HR. Role of gamma globulins in pathogenesis of renal lesions in systemic lupus erythematosus and chronic membranous glomerulonephritis, with an observation on the lupus erythematosus cell reaction. *J Exp Med*. 1957;106(2):191-202
30. Tiebosch AT, Wolters J, Frederik PF, van der Wiel TW, Zeppenfeldt E, van Breda Vriesman PJ. Epidemiology of idiopathic glomerular disease: a prospective study. *Kidney Int*. 1987;32(1):112-6.
31. Southwest Pediatr Nephrol Study Group. Hepatitis B surface antigenemia in North American children with membranous glomerulonephropathy. *J Pediatr* 1985;106:571-78.
32. The Southwest Pediatr Nephrol Study Group. Comparison of idiopathic and systemic lupus erythematosus-associated membranous glomerulonephropathy in children. *Am J Kidney Dis* 1986;7:115-124.
33. Sprangers B, Bomback AS, Cohen SD, Radhakrishnan J, Valeri A, Markowitz GS, et al. Idiopathic membranous nephropathy: clinical and histologic prognostic features and treatment patterns over time at a tertiary referral center. *Am J Nephrol*. 2012;36(1):78-89.
34. Troyanov S, Roasio L, Pandes M, Herzenberg AM, Cattran DC. Renal pathology in idiopathic membranous nephropathy: a new perspective. *Kidney Int*. 2006;69(9):1641-8.
35. Cattran DC, Pei Y, Greenwood CM, Ponticelli C, Passerini P, Honkanen E. Validation of a predictive model of idiopathic membranous nephropathy: its clinical and research implications. *Kidney Int*. 1997;51(3):901-7.
36. Ruggenti P, Chiurciu C, Brusegan V, Abbate M, Perna A, Filippi C, et al. Rituximab in idiopathic membranous nephropathy: a one-year prospective study. *J Am Soc Nephrol*. 2003;14(7):1851-7.
37. Maisonneuve P, Agodoa L, Gellert R, Stewart JH, Bucciante G, Lowenfels AB, et al. Distribution of primary renal diseases leading to end-stage renal failure in the United States, Europe, and Australia/New Zealand: results from an international comparative study. *Am J Kidney Dis*. 2000;35(1):157-65.

38. Stanescu HC, Arcos-Burgos M, Medlar A, Bockenbauer D, Kottgen A, Dragomirescu L, et al. Risk HLA-DQA1 and PLA(2)R1 alleles in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med*. 2011;364(7):616-26.
39. Kim S, Chin HJ, Na KY, Kim S, Oh J, Chung W, et al. Progressive Renal Disease and Medical Informatics and Genomics Research (PREMIER) members. Single nucleotide polymorphisms in the phospholipase A2 receptor gene are associated with genetic susceptibility to idiopathic membranous nephropathy. *Nephron Clin Pract*. 2011;117(3):c253-8. doi: 10.1159/000320194.
40. Liu YH, Chen CH, Chen SY, Lin YJ, Liao WL, Tsai CH, et al. Association of phospholipase A2 receptor 1 polymorphisms with idiopathic membranous nephropathy in Chinese patients in Taiwan. *J Biomed Sci*. 2010;17:81.
41. Donadio JV Jr, Torres VE, Velosa JA, Wagoner RD, Holley KE, Okamura M, et al. Idiopathic membranous nephropathy: the natural history of untreated patients. *Kidney Int*. 1988;33(3):708-15.
42. Shemesh O, Ross JC, Deen WM, Grant GW, Myers BD. Nature of the glomerular capillary injury in human membranous glomerulopathy. *J Clin Invest*. 1986;77(3):868-77.
43. Yokoyama H, Taguchi T, Sugiyama H, Sato H; Committee for the Standardization of Renal Pathological Diagnosis and for Renal Biopsy and Disease Registry in the Japanese Society of Nephrology. Membranous nephropathy in Japan: analysis of the Japan Renal Biopsy Registry (J-RBR). *Clin Exp Nephrol*. 2012;16(4):557-63.
44. Bomback AS, Herlitz LC, Markowitz GS. Renal biopsy in the elderly and very elderly: useful or not? *Adv Chronic Kidney Dis*. 2012;19(2):61-7.
45. Row PG, Cameron JS, Turner DR, Evans DJ, White RH, Ogg CS, et al. Membranous nephropathy. Long-term follow-up and association with neoplasia. *Q J Med*. 1975;44(174):207-39.
46. Cameron JS. Pathogenesis and treatment of membranous nephropathy. *Kidney Int*. 1979;15(1):88-103
47. Cattran DC. Membranous nephropathy: quo vadis? *Kidney Int*. 2002;61(1):349-50. Review.
48. Marx BE, Marx M. Prediction in idiopathic membranous nephropathy. *Kidney Int*. 1999;56(2):666-73.
49. Magil AB. Tubulointerstitial lesions in human membranous glomerulonephritis: relationship to proteinuria. *Am J Kidney Dis*. 1995;25(3):375-9.
50. Wehrmann M, Bohle A, Bogenschütz O, Eissele R, Freislederer A, Ohlschlegel C, et al. Long-term prognosis of chronic idiopathic membranous glomerulonephritis. An analysis of 334 cases with particular regard to tubulointerstitial changes. *Clin Nephrol*. 1989;31(2):67-76.

51. Horvatic I, Ljubanovic DG, Bulimbasic S, Knotek M, Prkacin I, Tisljar M, et al. Prognostic significance of glomerular and tubulointerstitial morphometry in idiopathic membranous nephropathy. *Pathol Res Pract*. 2012;208(11):662-7.
52. Wu Q, Jinde K, Nishina M, Tanabe R, Endoh M, Okada Y, et al. Analysis of prognostic predictors in idiopathic membranous nephropathy. *Am J Kidney Dis*. 2001;37(2):380-7.
53. Gupta R, Sharma A, Mahanta PJ, Jacob TG, Agarwal SK, Roy TS, et al. Focal segmental glomerulosclerosis in idiopathic membranous glomerulonephritis: a clinico-pathological and stereological study. *Nephrol Dial Transplant*. 2010;25(2):444-9.
54. Dumoulin A, Hill GS, Montseny JJ, Meyrier A. Clinical and morphological prognostic factors in membranous nephropathy: significance of focal segmental glomerulosclerosis. *Am J Kidney Dis*. 2003;41(1):38-48.
55. Wakai S, Magil AB. Focal glomerulosclerosis in idiopathic membranous glomerulonephritis. *Kidney Int*. 1992;41(2):428-34.
56. Kanigicherla D, Gummadova J, McKenzie EA, Roberts SA, Harris S, Nikam M, et al. Anti-PLA2R antibodies measured by ELISA predict long-term outcome in a prevalent population of patients with idiopathic membranous nephropathy. *Kidney Int*. 2013;83(5):940-8.
57. Clapp WL, Croker BP. The Kidney. In: Mills SE (ed). *Histology for Pathologist*. Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia, USA, 3rd ed. 2007;p.839-909.
58. Rouiller C. General anatomy and histology of the kidney. In: Rouiller C, Muller AF, eds. *The Kidney: Morphology, Biochemistry and Physiology*. New York: Lippincott, 1989:67-121.
59. Bonsib SM. Renal Anatomy and Histology. In: Jennette JC, Silva FG, Olson JL, D'Agati VD (eds). *Heptinstall's Pathology of the Kidney*. Wolters Kluwer. Philadelphia, USA, 7th ed. 2015; p.1-66.
60. Jefferson JA, Alpers CE, Shankland SJ. Podocyte biology for the bedside. *Am J Kidney Dis*. 2011;58(5):835-45.
61. Pavenstädt H, Kriz W, Kretzler M. Cell biology of the glomerular podocyte. *Physiol Rev*. 2003;83(1):253-307.
62. Takahashi-Iwanaga H. Comparative anatomy of the podocyte: A scanning electron microscopic study. *Microsc Res Tech*. 2002;57(4):196-202.
63. Gagliardini E, Conti S, Benigni A, Remuzzi G, Remuzzi A. Imaging of the porous ultrastructure of the glomerular epithelial filtration slit. *J Am Soc Nephrol*. 2010;21(12):2081-9.
64. Romagnani P. Parietal epithelial cells: their role in health and disease. *Contrib Nephrol*. 2011;169:23-36.

65. Ohse T, Pippin JW, Chang AM, Krofft RD, Miner JH, Vaughan MR, et al. The enigmatic parietal epithelial cell is finally getting noticed: a review. *Kidney Int.* 2009;76(12):1225-38.
66. Lazzeri E, Mazzinghi B, Romagnani P. Regeneration and the kidney. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2010;19(3):248-53.
67. Singh SK, Jeansson M, Quaggin SE. New insights into the pathogenesis of cellular crescents. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2011;20(3):258-62.
68. Garg P, Rabelink T. Glomerular proteinuria: a complex interplay between unique players. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2011;18(4):233-42.
69. Schlöndorff D, Banas B. The mesangial cell revisited: no cell is an island. *J Am Soc Nephrol.* 2009;20(6):1179-87.
70. Miner JH. Glomerular basement membrane composition and the filtration barrier. *Pediatr Nephrol.* 2011;26(9):1413-7.
71. Steffes MW, Barbosa J, Basgen JM, Sutherland DE, Najarian JS, Mauer SM. Quantitative glomerular morphology of the normal human kidney. *Lab Invest.* 1983;49(1):82-6.
72. Sariola H, Timpl R, von der Mark K, Mayne R, Fitch JM, Linsenmayer TF, et al. Dual origin of glomerular basement membrane. *Dev Biol.* 1984;101(1):86-96.
73. Timpl R, Fujiwara S, Dziadek M, Aumailley M, Weber S, Engel J. Laminin, proteoglycan, nidogen and collagen IV: structural models and molecular interactions. *Ciba Found Symp.* 1984;108:25-43.
74. Kurihara I, Saito T, Soma J, Sato H, Hotta O, Taguma Y, et al. Clinicopathological characteristics of interstitial foam cells in membranous nephropathy. *Kidney Int Suppl.* 1999;71:S144-6.
75. Jennette JC, Iskandar SS, Dalldorf FG. Pathologic differentiation between lupus and nonlupus membranous glomerulopathy. *Kidney Int.* 1983;24(3):377-85.
76. Lai FM, To KF, Wang AY, Choi PC, Szeto CC, Li PK, et al. Hepatitis B virus-related nephropathy and lupus nephritis: morphologic similarities of two clinical entities. *Mod Pathol.* 2000;13(2):166-72.
77. Stokes MB, Alpers CE. Combined membranous nephropathy and IgA nephropathy. *Am J Kidney Dis.* 1998;32(4):649-56.
78. Jennette JC, Newman WJ, Diaz-Buxo JA. Overlapping IgA and membranous nephropathy. *Am J Clin Pathol.* 1987;88(1):74-8.
79. Bertani T, Appel GB, D'Agati V, Nash MA, Pirani CL. Focal segmental membranous glomerulonephropathy associated with other glomerular diseases. *Am J Kidney Dis.* 1983;2(4):439-48.

80. Ohtani H, Wakui H, Komatsuda A, Okuyama S, Masai R, Maki N, et al. Distribution of glomerular IgG subclass deposits in malignancy-associated membranous nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*. 2004;19(3):574-9.
81. Doi T, Mayumi M, Kanatsu K, Suehiro F, Hamashima Y. Distribution of IgG subclasses in membranous nephropathy. *Clin Exp Immunol*. 1984;58(1):57-62.
82. Haas M. IgG subclass deposits in glomeruli of lupus and nonlupus membranous nephropathies. *Am J Kidney Dis*. 1994;23(3):358-64.
83. Kuroki A, Shibata T, Honda H, Totsuka D, Kobayashi K, Sugisaki T. Glomerular and serum IgG subclasses in diffuse proliferative lupus nephritis, membranous lupus nephritis, and idiopathic membranous nephropathy. *Intern Med*. 2002;41(11):936-42.
84. Aalberse RC, Schuurman J. IgG4 breaking the rules. *Immunology*. 2000;105(1):9-19.
85. Makker SP, Tramontano A. Idiopathic membranous nephropathy: an autoimmune disease. *Semin Nephrol*. 2011;31(4):333-40.
86. Huang CC, Lehman A, Albawardi A, Satoskar A, Brodsky S, Nadasdy G et al. IgG subclass staining in renal biopsies with membranous glomerulonephritis indicates subclass switch during disease progression. *Mod Pathol*. 2013;26(6):799-805.
87. Li SJ, Zhang SH, Chen HP, Zeng CH, Zheng CX, Li LS et al. Mercury-induced membranous nephropathy: clinical and pathological features. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010;5(3):439-44.
88. Hoxha E, Kneißler U, Stege G, Zahner G, Thiele I, Panzer U et al. Enhanced expression of the M-type phospholipase A2 receptor in glomeruli correlates with serum receptor antibodies in primary membranous nephropathy. *Kidney Int*. 2012;82(7):797-804.
89. Larsen CP, Messias NC, Silva FG, Messias E, Walker PD. Determination of primary versus secondary membranous glomerulopathy utilizing phospholipase A2 receptor staining in renal biopsies. *Mod Pathol*. 2013;26(5):709-15.
90. Svobodova B, Honsova E, Ronco P, Tesar V, Debiec H. Kidney biopsy is a sensitive tool for retrospective diagnosis of PLA2R-related membranous nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*. 2013;28(7):1839-44.
91. Cybulsky AV. Membranous nephropathy. *Contrib Nephrol*. 2011;169:107-25.
92. Törnroth T, Skrifvars B. The development and resolution of glomerular basement membrane changes associated with subepithelial immune deposits. *Am J Pathol*. 1975;79(2):219-36.
93. Ehrenreich T, Churg J. Pathology of Membranous Nephropathy. *Pathology Annual*. New York: Appleton-Century-Crofts, 1968:389-433.

94. Waldman M, Austin HA 3rd. Controversies in the treatment of idiopathic membranous nephropathy. *Nat Rev Nephrol.* 2009;5(8):469-79.
95. Nickolas TL, Radhakrishnan J, Appel GB. Hyperlipidemia and thrombotic complications in patients with membranous nephropathy. *Semin Nephrol.* 2003;23(4):406-11.
96. Giordano M, De Feo P, Lucidi P, DePascale E, Giordano G, Cirillo D, Dardo G, Signorelli SS, Castellino P. Effects of dietary protein restriction on fibrinogen and albumin metabolism in nephrotic patients. *Kidney Int.* 2001;60(1):235-42.
97. Hogan SL, Muller KE, Jennette JC, Falk RJ. A review of therapeutic studies of idiopathic membranous glomerulopathy. *Am J Kidney Dis.* 1995;25(6):862-75.
98. Radhakrishnan J, Cattran DC. The KDIGO practice guideline on glomerulonephritis: reading between the (guide)lines--application to the individual patient. *Kidney Int.* 2012;82(8):840-56.
99. Bomback AS, Derebail VK, McGregor JG, Kshirsagar AV, Falk RJ, Nachman PH. Rituximab therapy for membranous nephropathy: a systematic review. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2009;4(4):734-44.
100. Fervenza FC, Abraham RS, Erickson SB, Irazabal MV, Eirin A, Specks U, et al. Mayo Nephrology Collaborative Group. Rituximab therapy in idiopathic membranous nephropathy: a 2-year study. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;5(12):2188-98.
101. Remuzzi G, Chiurciu C, Abbate M, Brusegan V, Bontempelli M, Ruggenti P. Rituximab for idiopathic membranous nephropathy. *Lancet.* 2002;360 (9337):923-4.
102. Ronco P, Debiec H. Membranous glomerulopathy: the evolving story. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2010;19(3):254-9.
103. Couser WG. Basic and translational concepts of immune-mediated glomerular diseases. *J Am Soc Nephrol.* 2012;23(3):381-99.
104. Koffler D, Schur PH, Kunkel HG. Immunological studies concerning the nephritis of systemic lupus erythematosus. *J Exp Med.* 1967;126(4):607-24.
105. Lai KN, Li PK, Lui SF, Au TC, Tam JS, Tong KL, et al. Membranous nephropathy related to hepatitis B virus in adults. *N Engl J Med.* 1991; 324(21):1457-63.
106. Bhimma R, Coovadia HM. Hepatitis B virus-associated nephropathy. *Am J Nephrol.* 2004;24(2):198-211.
107. Caliskan B, Yazici H, Caliskan Y, Ozluk Y, Gulluoglu M, Kilicaslan, I et al. The Effects of *Helicobacter pylori* Eradication on Proteinuria in Patients with Primary Glomerulonephritis. *Int J Nephrol.* 2014;2014:180690.

108. Charles EA, Chang A. The Kidney. In: Kumar V, Abbas AK, Aster JC (eds). *Pathologic Basis of Disease*. Elsevier Saunders. Philadelphia, USA, 9th ed., 2015;p.897-957.
109. Kerjaschki D, Farquhar MG. Immunocytochemical localization of the Heymann nephritis antigen (GP330) in glomerular epithelial cells of normal Lewis rats. *J Exp Med*. 1983;157(2):667-86.
110. Edgington TS, Glassock RJ, Dixon FJ. Autologous immune complex nephritis induced with renal tubular antigen. I. Identification and isolation of the pathogenetic antigen. *J Exp Med*. 1968;127(3):555-72.
111. Couser WG, Steinmuller DR, Stilmant MM, Salant DJ, Lowenstein LM. Experimental glomerulonephritis in the isolated perfused rat kidney. *J Clin Invest*. 1978;62(6):1275-87.
112. Couser WG. Membranous nephropathy: a long road but well traveled. *J Am Soc Nephrol*. 2005;16(5):1184-7.
113. Salant DJ, Belok S, Madaio MP, Couser WG. A new role for complement in experimental membranous nephropathy in rats. *J Clin Invest*. 1980;66(6):1339-50.
114. Baker PJ, Ochi RF, Schulze M, Johnson RJ, Campbell C, Couser WG. Depletion of C6 prevents development of proteinuria in experimental membranous nephropathy in rats. *Am J Pathol*. 1989;135(1):185-94.
115. Cybulsky AV, Rennke HG, Feintzeig ID, Salant DJ. Complement-induced glomerular epithelial cell injury. Role of the membrane attack complex in rat membranous nephropathy. *J Clin Invest*. 1986;77(4):1096-107.
116. Cunningham PN, Quigg RJ. Contrasting roles of complement activation and its regulation in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2005;16(5):1214-22.
117. Nangaku M, Shankland SJ, Couser WG. Cellular response to injury in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2005;16(5):1195-204.
118. Yuan H, Takeuchi E, Taylor GA, McLaughlin M, Brown D, Salant DJ. Nephrin dissociates from actin, and its expression is reduced in early experimental membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2002;13(4):946-56.
119. Saran AM, Yuan H, Takeuchi E, McLaughlin M, Salant DJ. Complement mediates nephrin redistribution and actin dissociation in experimental membranous nephropathy. *Kidney Int*. 2003;64(6):2072-8.
120. Erdős EG, Skidgel RA. Neutral endopeptidase 24.11 (enkephalinase) and related regulators of peptide hormones. *FASEB J*. 1989;3(2):145-51.

121. Letarte M, Vera S, Tran R, Addis JB, Onizuka RJ, Quackenbush EJ, et al. Common acute lymphocytic leukemia antigen is identical to neutral endopeptidase. *J Exp Med.* 1988;168(4):1247-53.
122. Debiec H, Nauta J, Coulet F, van der Burg M, Guignon V, Schurmans T, et al. Role of truncating mutations in MME gene in fetomaternal alloimmunisation and antenatal glomerulopathies. *Lancet* 2004;364:1252–1259.
123. Hanasaki K. Mammalian phospholipase A2: phospholipase A2 receptor. *Biol Pharm Bull.* 2004;27(8):1165-7.
124. Debiec H, Martin L, Jouanneau C, Dautin G, Mesnard L, Rondeau E, et al. Autoantibodies specific for the phospholipase A2 receptor in recurrent and De Novo membranous nephropathy. *Am J Transplant.* 2011;11(10):2144-52.
125. Prunotto M, Carnevali ML, Candiano G, Murtas C, Bruschi M, Corradini E, et al. Autoimmunity in membranous nephropathy targets aldose reductase and SOD2. *J Am Soc Nephrol.* 2010;21(3):507-19.
126. Murtas C, Ravani P, Ghiggeri GM. New insights into membranous glomerulonephritis: from bench to bedside. *Nephrol Dial Transplant.* 2011; 26(8):2428-30.
127. Debiec H, Lefeu F, Kemper MJ, Niaudet P, Deschênes G, Remuzzi G, et al. Early-childhood membranous nephropathy due to cationic bovine serum albumin. *N Engl J Med.* 2011;364(22):2101-10.
128. Tomas NM, Beck LH Jr, Meyer-Schwesinger C, Seitz-Polski B, Ma H, Zahner G, et al. Thrombospondin type-1 domain-containing 7A in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med.* 2014;371(24):2277-87.
129. Lambeau G, Lazdunski M. Receptors for a growing family of secreted phospholipases A2. *Trends Pharmacol Sci.* 1999;20(4):162-70.
130. Zvaritch E, Lambeau G, Lazdunski M. Endocytic properties of the M-type 180-kDa receptor for secretory phospholipases A2. *J Biol Chem.* 1996;271(1):250-7.
131. Granata F, Petraroli A, Boilard E, Bezzine S, Bollinger J, Del Vecchio L, et al. Activation of cytokine production by secreted phospholipase A2 in human lung macrophages expressing the M-type receptor. *J Immunol.* 2005;174(1):464-74.
132. Ishizaki J, Hanasaki K, Higashino K, Kishino J, Kikuchi N, Ohara O, et al. Molecular cloning of pancreatic group I phospholipase A2 receptor. *J Biol Chem.* 1994;269(8):5897-904.
133. Wild G. Immunofluorescent techniques. In: Suvarna SK, Layton C, Bancroft JD (eds). *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques.* Churchill Livingstone, Elsevier, China, 7th ed., 2013;p.427-434.

134. Oto ÖA, Membranöz nefropatili hastalarda M-tipi fosfolipaz A2 reseptörlerine karşı gelişmiş antikorların (Anti-PLA2R) varlığı ve klinik bulgular ile olan ilişkisi, Nefroloji yan dal uzmanlık tezi, İÜ İstanbul Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı, İstanbul, 2014.
135. Kitiyakara C, Eggers P, Kopp JB. Twenty-one-year trend in ESRD due to focal segmental glomerulosclerosis in the United States. *Am J Kidney Dis.* 2004;44(5):815-25.
136. Glassock RJ. Diagnosis and natural course of membranous nephropathy. *Semin Nephrol.* 2003;23(4):324-32.
137. Blosser CD, Ayalon R, Nair R, Thomas C, Beck LH Jr. Very early recurrence of anti-Phospholipase A2 receptor-positive membranous nephropathy after transplantation. *Am J Transplant.* 2012;12(6):1637-42.
138. Oh YJ, Yang SH, Kim DK, Kang SW, Kim YS. Autoantibodies against phospholipase A2 receptor in Korean patients with membranous nephropathy. *PLoS One.* 2013;8(4):e62151.
139. Ardalan M, Ghafari A, Hamzavi F, Nasri H, Baradaran B, Majidi J, et al. Anti-phospholipase A2 receptor antibody in idiopathic membranous nephropathy: A report from Iranian population. *J Nephropathol.* 2013;2(4):241-8.
140. Medrano A.S., Caceres CC, Pamplona IA, Allende MT, Terrades NR, et al. Prevalence, diagnostic value and clinical characteristics associated with the presence of circulating levels and renal deposits of antibodies against the M-type phospholipase A2 receptor in idiopathic membranous nephropathy. *Nefrologia.* 34, 353-359 (2014).
141. Barrett CM, Troxell ML, Larsen CP, Houghton DC. Membranous glomerulonephritis with crescents. *Int Urol Nephrol.* 2014;46(5):963-71.
142. Dai H, Zhang H, He Y. Diagnostic accuracy of PLA2R autoantibodies and glomerular staining for the differentiation of idiopathic and secondary membranous nephropathy: an updated meta-analysis. *Sci Rep.* 2015;5:8803. doi: 10.1038/srep08803.

## 9. ÖZGEÇMİŞ

- AD-SOYAD** : Nalan Turan GÜZEL
- DOĞUM TARİHİ** : 22.02.1974
- DOĞUM YERİ** : Ünye
- GÖREV YERİ** : İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı
- YABANCI DİL** : İngilizce
- E-POSTA ADRESİ** : nalanturan@hotmail.com
- EĞİTİM** : 1980-1983, Balıkesir Dursunbey Yukarı Musalar Köyü İlköğretim Okulu  
1983-1985: Balıkesir Bigadiç Atatürk İlköğretim Okulu  
1985-1988: Balıkesir Bigadiç Cumhuriyet Lisesi Ortaöğretim Okulu  
1988-1989: Balıkesir Bigadiç Cumhuriyet Lisesi  
1989-1991: Balıkesir Muharrem Hasbi Koray Lisesi  
1991-2001: Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi (İngilizce)
- İŞ** : 2003-2005: Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı, araştırma görevlisi  
2006-2008: İstanbul Üsküdar Zeynep Kamil Sağlık Ocağı, pratisyen hekimlik  
2009-Halen: İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, araştırma görevlisi