



T.C.

İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ ATATÜRK EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ

İÇ HASTALIKLARI KLİNİĞİ

PAUCİ-İMMUN GLOMERULONEFRİT TANILI HASTALARIN BÖBREK İĞNE BİYOPSİLERİNDE mTOR YOLAĞININ
ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Özlem Zekiye Çakmak

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Zeki Soypaçacı

İZMİR-2016

T.C İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ ATATÜRK EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
İÇ HASTALIKLARI KLİNİĞİ

PAUCİ-İMMUN GLOMERULONEFRİT TANILI HASTALARIN
BÖBREK İĞNE BİYOPSİLERİNDE mTOR YOLAĞININ ROLÜNÜN

ARAŞTIRILMASI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Özlem Zekiye Çakmak

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Zeki Soypaçacı

Bu tez İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından
2016-TDU-TIPF-0015 proje numarası ile desteklenmiştir.

İZMİR-2016

TEŞEKKÜR

Tezimin yazılması sırasında hem zamanını, hem de değerli görüş ve önerilerini benden esirgemeyen danışmanım Yrd.Doç.Dr. Zeki Soypaçacı'ya,

Özellikle patoloji preparatlarının değerlendirilmesinde ve tez yazımım sırasında gösterdiği fedakarlıklardan dolayı Patoloji Anabilim Dalı'ndan hocam Prof.Dr.Fulya Çakalağaoğlu'na,

Uzmanlık eğitim yıllarım boyunca bana değerli bilgilerini aktaran, yol gösteren, desteğini esirgemeyen sevgili hocam Prof.Dr.Servet Akar'a, uzmanlık eğitimim boyunca çok şey öğrendiğim hocalarım Uzm.Dr.Mehmet Sonbahar ve Doç.Dr.Dilek Ersil Soysal'a,

Bütün hayatım boyunca bana her zaman her konuda destek veren ve hep yanımda olan sevgili annem Binnaz Çakmak, sevgili babam Lutfi Çakmak, sevgili kardeşlerim Can Çakmak ve Canan Çakmak'a,

Uzmanlık eğitim yıllarım boyunca bana manevi destek olan, eğitim yıllarımı güzelleştiren mesai arkadaşlarım Melek Yılmaz, Uğur Bayram Korkmaz ve Eren Kalender' e,

Tezimin yazımını kolaylaştıran, bana yardımcı olan ve beni destekleyen Zeynep Zehra Gümüş'e teşekkür ederim.

Dr. Özlem Zekiye ÇAKMAK

Aralık 2016

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	i
KISALTMALAR.....	ii
TABLolar LİSTESİ.....	iii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	iv
ÖZET.....	14
ABSTRACT.....	15
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	17
2. GENEL BİLGİLER.....	18
2.1. GLOMERULONEFRİTLER.....	18
2.1.1. Glomerulonefritlerin klinik görünümü.....	19
2.2. HIZLI İLERLEYEN GLOMERULONEFRİT.....	19
2.2.1. Histopatolojik Özellikleri.....	19
2.2.2. Hızlı İlerleyen Glomerulonefrit (HİGN) ve alt tipleri.....	22
2.3. PAUCİ-İMMUN GLOMERULONEFRİT (HİGN Tip3).....	22
2.3.1. Patogenezi.....	23

2.3.2. T ve B hücrelerinin glomerulonefrit patogenezindeki rolü.....	23
2.3.3. Klinik özellikler	24
2.3.4. Serolojik özellikler	25
2.3.5. Tedavi ve prognoz.....	26
2.4. mTOR YOLAĞI.....	27
2.4.1. mTOR multiprotein komplekleri ve yapısal özellikleri	27
2.4.2. mTOR ve fizyolojik işlevleri	28
2.4.3. mTOR aktivitesini etkileyen mekanizmalar.....	31
2.4.4. mTOR inhibisyonu ve etkileri.....	34
2.4.5 mTOR yolağının böbrek hasarı ve glomerulonefrit ile ilişkisi	35
2.4.6. mTOR inhibitörleri ve klinik kullanımı.....	37
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	38
3.1. Hasta ve veri seçimi	38
3.2. Böbrek iğne biyopsisi yöntemi	40
3.3. Histolojik değerlendirme	41
3.4. İmmunohistokimyasal boyama	42
3.5. İmmunohistokimyasal boyamanın değerlendirilmesi.....	44

3.5. İstatiksel Analiz	44
4. SONUÇLAR	45
5.TARTIŞMA.....	56
6. KAYNAKLAR.....	65



KISALTMALAR

4EBP1:eukaryotic initiation factor 4E (eIF4E) binding protein-1

AAV: Anti-nötrofilik sitoplazmik antikor ilişkili vaskülit

ABD: Anabilim dalı

ADP: Adenozin difosfat

AMPK: AMP aktive edici protein kinaz

ANA: Anti nükleer antikor

ANCA: anti-nötrofilik sitoplazmik antikor

c-ANCA: Sitoplazmik anti-nötrofilik sitoplazmik antikor

p-ANCA: Perinükleer anti-nötrofilik sitoplazmik antikor

anti-dsDNA: Anti-çift sarmal DNA antikoru

Anti-GBM-Ab: Antiglomerüler bazal membran antikoru

AKT: Protein kinaz B

ATM: *Ataxia telangiectasia mutated*

ATP: Adenozin trifosfat

BAD: Bcl-2-associated death promoter

Bcl-2: B hücreli lenfoma 2 (B cell lymphoma 2)

BNIP3: *BCL2/adenovirus E1B 19 kDa protein-interacting protein 3*

CAP-57: cationic protein 57

CD: *Cluster of differentiation*

Cxcr4: C-X-C chemokine receptor type 4

Cxcl12 : C-X-C motif chemokine ligand 12

Deptor: *DEP-domain-containing mTOR-interacting protein*

DNA: Deoksiribonükleotid asit

eIF4E:eukaryotic initiation factor 4E

ERK: *Extracellular-signal-regulated kinase*

EUVAS: European Vasculitis Study Group

FDA: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi

FGF: Fibroblast growth factor

FKBP12: FK506 binding protein 12 kDa

FOXP3: *Forkhead box P3*

FRAP1: FK506 bağlayan protein 12- rapamisin ilişkili protein (*FK506-binding protein 12-rapamycin-associated protein 1*)

FRB: *FKBP12/rapamisin binding*

FSGS: Fokal segmental glomeruloskleroz

GbL: (veya diğer adıyla mLST8) mammalian lethal with Sec13 protein 8

GM-CSF: Granülosit-makrofaj koloni stimulan faktör

GN: Glomerulonefrit

HCV: Hepatit C virüs

HE: Hematoksilen eozin

HIF: hipoksi-indüklenebilir faktör

HİGN: Hızlı ilerleyen glomerülonefrit

HOCL: Hipoklorik asit

ICAM-1: İntersellüler adhezyon molekülü-1

ICMGN: immun kompleks aracılı glomerülonefrit

IF: İmmunfloresan

IFN: İnterferon

IGF-1: Insulin Growth Factor 1 (IGF1)

İHK: İmmunhistokimyasal

IKK β : aktive I κ B (Inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit alpha) kinaz beta

IL-1 : interlökin-1

IL-6: interlökin-6

INR: International Normalized Ratio

JAK-STAT: Janus Kinaz- transkripsiyonun sinyal güç çeviricileri ve aktive edicileri (Janus kinase- signal transducers and activators of transcription)

JunD: *a novel function of transcription factor*

kD : Kilodalton

KBH: Kronik böbrek hastalığı

LAT: L-tipi amino asit taşıyıcısı

MAPK: Mitojen aktive edici protein kinaz

MCP-1: Makrofaj kemoatraktan protein-1

MIF: Makrofaj inhibitör faktör

MIP-1: Makrofaj inflamatuvar protein-1

MMF: Mikofenolat mofetil

MMP: Matriks metalloproteinaz

MPA: Mikroskobik polianjitis

MPO: Miyeloperoksidaz

mRNA: mesajcı RNA

mTOR: Mammalian target of rapamycin

mTORC1: mTOR kompleks 1

mTORC2: mTOR kompleks 2

mSIN1: mammalian stress-activated protein kinase interacting protein

NF- κ B: Nükleer faktör kappa B

NK: Doğal öldürücü hücre (natural killer)

PDGF: Platelet derived growth factor

PI3K: Fosfoinositid-3-kinaz

PKC- α : Protein kinaz C alfa PKC- α

p-mTOR: *Fosforile mammalian target of rapamycin*

PPAR γ : *Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma*

PR3: proteinaz 3

PRAS40: *Prolinerich AKT substrate 40 kDa*

Protor-1: *protein observed with Rictor-1*

PT: Protrombin zamanı

PTT: Parsiyel tromboplastin zamanı

PTEN: Phosphatase and tensin homolog

RAG proteini: Rekombinasyon aktive edici protein

Raptor: *Regulatory-associated protein of mTOR*

REDD1: *DNA damage response 1*

ROR γ t: *Retinoik asit reseptör ilişkili orphan reseptör*

S6K1: Ribosomal subunit 6 kinaz 1

SDBY: Son dönem böbrek yetmezliği

SMAD: Suppressor of mothers against decapentaplegic

SPSS V.21: Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi Versiyon 21 (Statistical Package for the Social Sciences vertion 21th)

SREBP1: Sterol regulatory element binding protein 1

STAT3: Signal transducer and activator of transcription 3

TGF- β 1: Transforming growth factor- β 1

Th: Yardımcı T hücre (T helper)

TİA: Tübülointerstisyel alan

TNF: Tümör Nekrozis Faktör

TOR: target of rapamycin

Treg: Regülatuar T hücre

TSC: Tuberoskleroz kompleks

ULK1: Unc51-like kinase 1

VCAM1: vasküler hücre yapışma molekülü-1

VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

WG: Wegener granülomatozu

WNT: *Wingless-Type Integration Site*



TABLolar LİSTESİ

- Tablo 1: Hızlı ilerleyen glomerülonefritlerde etiopatogenetik faktörler ve bunlara örnek oluşturan klinik tablolar.
- Tablo 2: Hastaların klinik ve demografik özellikleri.
- Tablo 3: Hastaların biyopsi materyalindeki kresent ve skleroz yüzdesi ortalamaları.
- Tablo 4: Hastaların biyopsi materyalindeki fibrozis derecesi verileri.
- Tablo 5: Hastaların glomeruler ve tübülointerstisyel alan mTOR boyanma yoğunluğu skorları.
- Tablo 6: Hastaların glomeruler ve tübülointerstisyel alan mTOR boyanma yüzdesi skorları.
- Tablo 7: Hastaların PTEN ve TGF- β 1 boyanma yüzdesi skorları.
- Tablo 8: Değişkenlerin birbiriyle Spearman analizine göre korelasyon verileri.
- Tablo 9: Grupların ortalama kreatinin ve kresent yüzdesi sonuçları.
- Tablo 10: Değişkenlerin birbirleriyle Spearman analizine göre korelasyon verileri.

FİGÜRLER LİSTESİ

- **Figür 1:** Hüresel kresentlerin görüldüğü glomerül yapısı.
- **Figür 2:** Fibroselüler kresentin oluştuğu glomerül yapısı.
- **Figür 3:** mTOR kompleks 1 ve 2'yi oluşturan yapısal proteinler ve aktive olan mTOR komplekslerinin etkileşime girdiği yolaklar.
- **Figür 4:** mTOR işlevleri ve işlevlerine aracılık eden proteinler.
- **Figür 5:** mTOR'un T hücre farklılaşması üzerindeki işlevi.
- **Figür 6:** T hücreleri ve T hücrelerinin enerji gereksinimleri için gerekli olan yüksek mTOR aktivitesi.
- **Figür 7:** Çeşitli büyüme faktörleri ve mTOR arasındaki etkileşim.
- **Figür 8:** PTEN ve PI3K/Akt/mTOR yolağı arasındaki ilişki.
- **Figür 9:** TGF- β reseptörünün uyarılması ile mTOR arasındaki etkileşim.
- **Figür 10:** Böbrek biyopsisinde Masson Trikrom boyamada 20x büyütmede (a), Hematoksilen Eozin boyamada 40x büyütmede (b) kresentik glomerul
- **Figür 11:** Böbrekte glomeruler alanda 10x büyütmede 1 pozitif (a) ve 20x büyütmede 1 pozitif (b) mTOR boyanması
- **Figür 12:** Böbrekte tübülointerstisyel alanda 20x büyütmede 2 pozitif (a) ve 10x büyütmede (b) 3 pozitif mTOR boyanması
- **Figür 13:** Böbrekte glomeruler alanda 20x büyütmede 2 pozitif (a) ve tübülointerstisyel alanda 10x büyütmede 3 pozitif (b) PTEN boyanması
- **Figür 14:** Böbrekte glomeruler ve tübülointerstisyel alanda 20x büyütmede 3 pozitif (a) ve 10x büyütmede negatif (b) TGF- β 1 boyanması

PAUCİ-İMMUN GLOMERULONEFRİT TANILI HASTALARIN BÖBREK İĞNE BİYOPSİLERİNDE mTOR YOLAĞININ ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Giriş: Pauci-immun glomerulonefrit, erişkinlerde hızlı ilerleyen glomerulonefritlerin en yaygın formudur. Hastalığın karakteristik lezyonu fokal nekrotizan ve kresentik glomerulonefrittir. Pauci-immun kresentrik glomerulonefrit, sistemik küçük damar vaskülitinin bir komponenti veya böbreğe sınırlı (primer) şekilde olabilir. En sık sistemik olgular; Wegener Granülomatozu, Mikroskopik Polianjitis ve Churg-Strauss Sendromudur. Tedavi kısa zamanda başlatılmaz ise hücresel kresentler hızla fibröz kresentlere dönüşür ve glomerüller kapiller yumakta kollaps ortaya çıkar. Pauci-immun kresentik glomerulonefritlerin en tipik özelliği, yaklaşık %80-90 olguda saptanan, anti-nötrofilik sitoplazmik antikor (ANCA) pozitifliğidir. ANCA, miyeloperoksidaza (MPO-ANCA veya sıklıkla p-ANCA) veya proteinaz-3'e karşı (PR3-ANCA veya sıklıkla c-ANCA) oluşmuş olabilir. Mammalian target of rapamycin (mTOR), bir serin treonin kinaz olup, hücre büyümesi ve çoğalmasının düzenlenmesinde rol oynar. mTORC1 ve mTORC2 olmak üzere, 2 farklı multi protein komplekslerinden oluşur. mTORC1, hücre büyümesi, proliferasyonu ve sağ kalımını kontrol eder. mTORC2, aktin hücre iskeletini düzenler. mTOR multi protein komplekslerinin, fibrotik interlökinler üzerine pozitif etkisi mevcut olup, mTOR'un rapamisin ile inhibisyonu sonucu interlökin (IL)4, IL6, IL17 ve transforming growth faktör- β (TGF- β) nın azaldığı gösterilmiştir. Phosphatase and tensin homolog (PTEN) molekülü ise mTOR yolağını etkiler. Sistemik otoimmün hastalıklarda Mitojen aktive edici protein kinaz (MAPK), Protein kinaz B (AKT), Nükleer faktör-kappaB (NF-Kb), Bcl-2 ailesi ve JAK/STAT molekülleri gibi birçok moleküler sinyalizasyon yollarının aktive olduğu görülmüştür. Ancak tüm bu moleküler yollar içerisinde, terapötik hedef olma özelliği nedeni ile PI3K/AKT/mTOR yolağı öne çıkmaktadır. Bu nedenle, bu çalışma ile böbrek biyopsileri sonrası, pauci-immun glomerulonefrit tanısı almış hastalarda, mTOR yolağının rolünü ve bu yolağın potansiyel terapötik hedef olma özelliğini araştırmayı hedefledik.

Materyal-Metod: İzmir Katip Çelebi Üniv. Atatürk Eğ. Arş. Hastanesi Nefroloji kliniğinde yatırılarak, Ocak 2009 ile Mayıs 2016 tarihleri arasında böbrek iğne biyopsisi yapılmış ve patolojik tanısı pauci-immun glomerulonefrit olarak rapor edilmiş hastalar retrospektif olarak tarandı. Böbrek biyopsisi ile pauci-immun glomerulonefrit tanısı konmuş hastalar, mTOR ve mTOR yolağının indirekt göstergeleri olan PTEN ve TGF- β 1 açısından histokimyasal olarak boyanıp değerlendirildi. mTOR, glomerüller ve tübülointerstisyel alanda ayrı ayrı semikantitatif olarak skorlandı. Boyanma yoğunlukları 0 (negatif), 1 (zayıf pozitif), 2 (orta yoğunlukta pozitif), 3 (kuvvetli pozitif); pozitif boyanma yüzdesi ise 0 (<%5), 1 (%5-25), 2 (%26-50), 3 (%51-75), 4 (>%75) olarak derecelendirildi. PTEN için hücreler zayıf boyanma gösterdiyse 1 pozitif, orta derecede boyanma gösterdiyse 2 pozitif, güçlü boyanma gösterdilerse 3 pozitif olarak değerlendirilirken, boyanma göstermedilerse skor 0 olarak not edildi. TGF- β 1 için kontrol dokuda immunreaksiyon görüldükten sonra, böbrek iğne biyopsisi preparatları boyanmış olup, boyanma negatif ise skor 0, %1-25 (1 pozitif), %26-50 (2 pozitif), %51-75 (3 pozitif) ve %76-100 (4 pozitif) olarak değerlendirildi. Tüm boyama kesitleri aynı nefropatolog tarafından kör olarak yorumlandı.

Bulgular: Yaşları $54,4 \pm 14,3$ yıl olan, 58 hasta (29 erkek, 29 kadın) çalışmaya dahil edildi. Teknik sorunlar nedeniyle 51 hastada glomeruler mTOR ve 50'sinde TİA mTOR boyanabildi. 50 hastanın PTEN, 52 hastanın da TGF- β 1 boyaması yapılabildi. TİA, mTOR - PTEN ve TİA mTOR - TGF- β 1 arasında anlamlı ilişki saptamazken ($p=0,114$, $p=0,411$), TGF- β 1 ve PTEN boyanma yüzdesi arasındaki ilişkinin anlamlı olduğunu gördük ($p=0,032$).

TİA mTOR boyanma yüzdesi ile kresent yüzdesi arasında anlamlı korelasyon ($p=0,021$) vardı. TİA mTOR boyanma yüzdesi ile immünsüpresif tedavi yanıtı arasında da anlamlı korelasyon ($p=0,048$) olduğunu tespit ettik..

Sonuçlarımız mTOR yolağının, pauci-immun glomerulonefrit patogenezinde rol oynuyor olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, PTEN ve TGF- β 1 de mTOR'dan bağımsız olarak patogeneizde rol oynuyor olabilir. Bu açıdan mTOR ekspresyonunun, immünsüpresif tedaviye yanıt verme oranını arttırması, mTOR yolağını hedefleyen tedavilerin denenmesi için araştırmalara cesaret verici nitelikte olduğunu ve daha kapsamlı çalışmalar ile bu sonuçların desteklenmesi gerektiğini düşünürüz.

ABSTRACT

Background: Pauci-immun glomerulonephritis is the most common form of rapidly progressive glomerulonephritis in adults. The characteristic lesion of disease is focal necrotizing and crescentic glomerulonephritis. Pauci-immun type of crescentic glomerulonephritis is a component of small vessel vasculitis or renallimited (primary) together with systemic vasculitis. The major clinicopathologic expressions of ANCA associated small-vessel vasculitis are Wegener's granulomatosis, microscopic polyangiitis, Churg-Strauss syndrome, and renal-limited vasculitis. If the treatment does not start in short time, cellular crescents turn to the fibrous crescents and occur collapse in glomerular capillary. The most typical feature of pauci-immun type crescentic glomerulonephritis is positivity of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) that detected the case of %80-90. ANCA may against to occur that myeloperoxidase (MPO-ANCA or often PANCA) or proteinase-3 (PR-3 ANCA or often C-ANCA). mTOR is a serine treonine kinase and regulates cell proliferation and growth. mTOR is formed by mTORC1 and mTORC2 multiprotein complexes. mTORC1 has a role in mRNA translation and activates S6K1 and 4EBP1. Growth factors, nutrients, energy, stress signals, PI3K, MAPK and AMPK stimulate mTOR activiy and control cell growth, proliferation and survival. mTORC2 activates PKC- α and AKT and regulates actine skeleton of cell. mTOR has a positive effect on fibrotic mediators. Liang et al. showed that IL4, IL6, IL17 and TGF- β decreases after mTOR inhibition with rapamycin. PTEN inhibits Akt/PKB and controls mTOR pathway. Most of molecular signalization pathways such as MAPK, AKT, NF- κ B, Bcl-2 family and JAK/STAT are activated during systemic autoimmune diseases. But, through these pathways, PI3K/AKT/mTOR pathway is also important since it is a therapeutic target. So, in this study, we aimed to evaluate the role of mTOR, which is a potential therapeutic target in pauci-immun glomerulonephritis kidney biopsies of glomerulonephritis patiens.

Methods: We retrospectively scanned who admitted to our outpatient Nephrology clinic between January 2009 and May 2016 and were performed a kidney needle biopsy. Patologically diagnosed pauci-immun glomerulonephritis patients were stained and evaluated histologically for PTEN and TGF- β 1, which are indirect indices of mTOR and mTOR pathways. mTOR of glomerular and tubulointerstitial area were scored separately as semiquantitative. Staining concentrations rated as 0 (negative), 1 (weak positive), 2 (medium intensity positivite), 3 (strong positive). For PTEN, the cells were rated as positive if they showed weak staining, 2 positive if they showed moderate staining, and 3 as positive staining, and score 0 if they did not stain. For TGF- β 1, kidney needle biopsy preparations were stained after immunoregulation with control tissue. If

the staining was negative, the score was 0, 1-25% (1+), 26-50% (2+), 51-75% - 100% (4+). Slides were read blindly.

Results: A total of 58 patients (50% male, 50% female, mean age of 54.4 ± 14.3 years) were included in the study. Of these patients, 51 were glomerular mTOR, 50 were tubulointerstitial mTOR could be painted. 50 patients could be done colouring with PTEN and 52 patients could be done with TGF- β 1 staining. It was seen that there was no significant correlation between tubulointerstitial area (TIA) mTOR-PTEN and TIA mTOR-TGF- β 1 ($p = 0,114$, $p = 0,411$) and there was a significant correlation between TGF- β 1 and PTEN staining percentage ($p = 0,032$). There was a significant correlation ($p = 0.021$) between percentage of TIA mTOR staining and percentage of crescent.

Conclusion: The results suggest that mTOR pathway may play a role in the pathogenesis of pauci-immun glomerulonephritis. Plus, PTEN and TGF- β 1 may also have a role in this disease, probably with another pathways from PI3K/Akt/mTOR pathway. In this respect, we believe that mTOR expression is encouraging to research immunotherapeutic treatment response rates, to test treatments targeting mTOR pathway, and to support these results with more extensive studies.

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Pauci-immun glomerulonefrit, erişkinlerde hızlı ilerleyen glomerulonefritlerin en yaygın formudur. Hastalığın karakteristik lezyonu fokal nekrotizan ve kresentik glomerulonefrittir. Pauci-immun kresentik glomerulonefrit, sistemik küçük damar vaskülitinin bir komponenti veya böbreğe sınırlı şekilde (primer) olabilir. Pauci-immun kresentik glomerulonefritlerin en tipik özelliği yaklaşık %80-90 olguda saptanan anti-nötrofilik sitoplazmik antikor (ANCA) pozitifliğidir. (1) Tedavi kısa zamanda başlatılmaz ise hücresel kresentler, hızla fibröz kresentlere dönüşerek, glomeruler kapiller yumakta kollaps ve sonrasında son dönem böbrek yetmezliği gelişir. (2,3)

Glomerüler yumağın kresentik hasarı, vasküler hücre yapışma molekülü-1 (VCAM-1) yoluyla makrofaj birikimi ile karakterizedir. Makrofajlar, böbrek hasarının kronik ilerlemesinde matriksin yeniden modellenmesine katılan, TGF-beta gibi maddelerin üretimi ile önemli bir yer işgal ederler. Ayrıca B ve T hücrelerinin de ANCA ilişkili vaskülit (AAV) patogeneze katkıda bulunduğu inanılmaktadır.(4-6)

Mammalian target of Rapamisin (mTOR), bir serin treonin kinaz olup, hücre büyümesi ve çoğalmasının düzenlenmesinde rol oynar. mTOR kompleks 1 (mTORC1) ve mTOR kompleks 2 (mTORC2) olmak üzere 2 farklı multi protein komplekslerinden oluşur. (7) mTORC1, mRNA translasyonunda görevli olan ribosomal subunit 6 kinaz 1 (S6K1) ve eukaryotic initiation factor 4E (eIF4E) binding protein-1 (4EBP1) proteinlerini aktive eder. Büyüme faktörleri, besinler, enerji, stres sinyalleri, Fosfoinositid-3-kinaz (PI3K), Mitojen aktive edici protein kinaz (MAPK), AMP aktive edici protein kinaz (AMPK) gibi en yaygın sinyal yolları ile stimüle olarak hücre büyümesini, proliferasyonunu ve sağ kalımını kontrol eder. mTORC2, Protein kinaz C alfa (PKC- α) ve Protein kinaz B (AKT)'yi aktive eder ve aktin hücre iskeletini düzenler.(8) Sistemik otoimmün hastalıklarda MAPK, AKT, Nükleer faktör kappa B (NF- κ B), B hücreli lenfoma 2 (B cell lymphoma 2) [Bcl-2] ailesi ve Janus Kinaz- transkripsiyonun sinyal güç çeviricileri ve aktive edicileri (Janus kinase- signal transducers and activators of transcription) [JAK/STAT] molekülleri gibi birçok moleküler sinyalizasyon yollarının aktive olduğu görülmüştür. Ancak tüm bu moleküler yollar içerisinde, terapötik hedef olma özelliği nedeni ile PI3K/AKT/m-TOR yolağı öne çıkmaktadır. (9)

Kronik böbrek hastalıklarında artmış fibrozisin m-TOR ile olan ilişkisi, in vivo ve in vitro çalışmalarda daha önce araştırılmıştır. Ancak, pauci-immun glomerulonefrit ve m-TOR yolağı arasındaki ilişkiyi göstermek açısından in vivo veya in vitro yapılmış insan veya hayvan deneyi bulunmamaktadır. Bu nedenle, pauci-immun kresentik glomerulonefritli hastaların böbrek biyopsilerinde, m-TOR yolağının önemli etkisinin olup olmadığını belirleyebilmeyi hedefledik.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.GLOMERULONEFRİTLER

Glomerulonefritler(GN) etiyopatogenezi farklılıklar gösteren bir hastalık grubudur. Genellikle immünolojik mekanizmalarla gelişen GN'lerde, daha ağırlıklı glomerüller olmak üzere, tubüluslar ve intertisyum gibi nefron yapılarının, inflamasyon ve/veya proliferasyon şeklinde etkilenmesi söz konusudur. Klinik olarak asemptomatik idrar bulguları, ya da ciddi böbrek yetmezliği gibi çeşitli bulgulara yol açabilir. Kesin tanı ve tiplendirme için, böbrek biyopsisi ile histopatolojik inceleme gereklidir. (10)

GN'lerin patogenezi karmaşıktır ve çeşitli faktörlerden dolayı da tam olarak anlaşılamamıştır. Birçok hasar tipi GN'leri başlatabilmektedir. Endojen mekanizmaları içeren otoimmünite, kanser, böbrekteki ultrayapısal anormallikler, ilaç ve enfeksiyöz organizmaları içeren dış faktörler başlıcalarıdır. Ayrıca genetik olarak, GN'lere duyarlılık açısından da bireysel farklılıklar vardır. Örneğin, hepatit C virüsü ile enfekte bireylerin yalnızca az bir kısmında GN gelişmektedir. Son olarak çözünebilir faktörler (antikorlar, komplemanlar, kemokinler, sitokinler ve büyüme faktörleri) ile glomerül aracılı enflamasyon hücreleri (lökositler ve intrinsik böbrek hücreleri) arasındaki karmaşık bir etkileşim sonucu böbrekte ilerleyici bir hasara sebep olur. Ayrıca hipertansiyon ve proteinüri gibi faktörlerin de bu ilerleyişe katkı sağladığı bilinmektedir. (2)

Hayvan modeli çalışmalar, GN'lerin patogenezinde böbreğin intrinsik hücreleri ve kemik iliği kaynaklı inflamatuvar hücreler arasındaki önemli etkileşimi göstermiştir. (2) GN'lerin gelişmesinde immün sistemin tüm komponentlerinin rolü vardır. Dolaşan immün kompleksler veya in-situ olarak oluşan kompleksler, kompleman sistemini aktive ederek, böbrekte immün mekanizmayı başlatmaktadır. İmmün olayın başlaması ile dolaşımda artan miktarda bulunan inflamatuvar hücreler (bilhassa monositler, T ve B lenfositleri ve trombositler) immün olayın devamında da önemlidir. Dolaşımdaki mononükleer hücreler tarafından salgılanan Platelet derived growth factor (PDGF) ve Transforming Growth Factor (TGF) kolaylıkla glomerüle, interstisyuma ve hatta kan damarlarının duvarına girebilirler. Insulin Growth Factor 1 (IGF1), IL-1 (interlökin-1), IL-6 (interlökin-6) ve TNF (tümör nekrotizan faktör) hem otokrin, hem de parakrin etki gösterdiği gibi, sistemik dolaşıma geçerek de etki ederler. Bu olaylar esnasında monositler, makrofajlar ve T hücreleri birbirleriyle etkileşimleri yanında, intrinsek glomerüler ve interstisyel hücreler ile de etkileşirler. Bu etkileşim sonucu açığa çıkan sitokinler ve büyüme faktörleri, hücre proliferasyonuna, matriksin genişlemesine ve sonuçta glomerüloskleroza ve interstisyel fibroze ve tübüler atrofinin oluşmasına neden olurlar (11).

2.1.1. Glomerulonefritlerin klinik görünümü

GN'ler klinikte beş ana major sendrom ile karşımıza çıkmaktadır (2).

I. Asemptomatik anormal idrar bulgusu: Nefrotik olmayan proteinüri ve/veya mikroskopik hematüri, bazen makroskopik hematüri ile birlikte.

II. Akut Nefritik sendrom: Ani başlangıçlı glomeruler hematüri (dismorfik eritrositler) ve proteinüri, böbrek fonksiyonlarında bozulma, sıvı ve tuz retansiyonunun sebep olduğu hipertansiyon ile karakterizedir.

III. Nefrotik sendrom: Nefrotik düzeyde proteinüri (3.5 g/gün üzeri), hipoalbuminemi (serum albümin düzeyi 3.5g/dl altında), hiperlipidemi ve ödem ile karakterize klinik görünüm.

IV. Hızlı ilerleyen glomerulonefrit: Akut nefritik özelliklerle birlikte, böbrek biyopsisinde yaygın glomeruler kresent formasyonu yanında günler ve haftalar içerisinde böbrek yetmezliğine ilerleyiş gösteren klinik ile kendini gösterir.

V. Kronik glomerulonefrit: Hematüri ile birlikte veya birlikte olmaksızın dirençli proteinüri ve yavaş bir şekilde ilerleyici renal fonksiyonlarda bozulma ile seyreden durum.

2.2 HIZLI İLERLEYEN GLOMERULONEFRİT

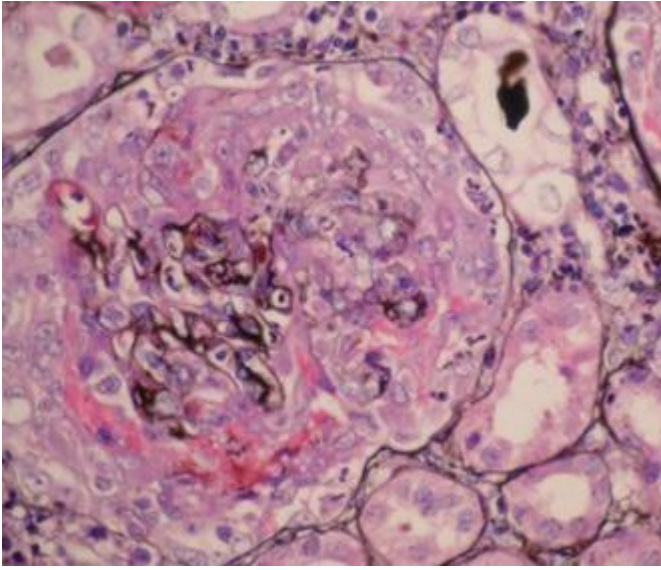
2.2.1. Histopatolojik Özellikleri

Hızlı ilerleyen glomerulonefrit (HİGN), glomerüllerde çok sayıda kresent oluşumu ile kendini gösteren ve tedavisiz olgularda haftalar veya aylar içinde son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) ile sonuçlanan heterojen bir hastalık grubuna verilen ortak isimdir (12). Bu hastalık genellikle akut nefritik sendrom tablosu ile seyrederek. Akut nefritik tabloya göre daha sinsi ve yavaş bir şekilde başlar ve prognozu da daha kötüdür (13). Böbrek biyopsisinde glomerüllerin Bowman boşluğunun parietal yaprağındaki epitel hücrelerinin anormal şekilde proliferasyon olarak, yarımay görünümü alması karakteristiktir. (14) Ayrıca, hastalığın şiddeti kresent oluşumunun derecesiyle orantılıdır. Dairesel bir kresent, glomerüllerin %80'inden fazlasını tutmuşsa ileri bir böbrek yetersizliği vardır ve genellikle tedaviye yanıt vermez. Tüm glomerüllerin %50'sinden daha azında kresent mevcutsa ve daireysel değilse, daha yavaş seyirli ve tedaviye yanıt alınabilir (13).

Patogenez: Hastalığa özgü bir bulgu olarak algılanan kresent formasyonu, aslında özgün bir olay değil, ancak glomerül lezyonuna bir yanıttır. Aynı zamanda glomerül hasarının çok ağır olduğunun da bir göstergesidir (15). Değişik patogenetik mekanizmalar bu olaylara eşlik eder. Kresent oluşumunun humoral bir mekanizmadan daha çok, hücresel bir mekanizma ile geliştiğine dair deliller mevcuttur (16).

Kresent oluşumu: Bu süreçte ilk aşama glomerüler kapiller duvar bütünlüğünün bozulmasıdır. Böylelikle dolaşımda bulunan hücreler, özellikle makrofajlar, T-hücreleri, inflamasyon öncüsü sitokinler [(interlökin-1 (IL-1), tümör nekrozis faktör (TNF) alfa)] ve plazma proteinleri kapiller duvarı geçerek Bowman boşluğuna gelirler (15). Benzer olarak Bowman kapsülünde oluşan delikler, fibroblast gibi hücrelerin ve mediatörlerin interstisyumdan Bowman boşluğuna geçişine izin verirken, Bowman boşluğundaki içeriğin

de interstisyuma geçmesine neden olur ve böylelikle periglomerüler inflamasyona katkıda bulunurlar(16). Kresent oluşumuna neden olan yapılar, en başta fibrin olmak üzere koagülasyon faktörleri, doku faktörleri, makrofajlar, parietal glomerüler epitel hücreleri ve interstisyel fibroblast gibi proliferen olan farklı hücre tipleridir (17). Koagülasyon faktörlerinin Bowman boşluğunda bulunması, kresent oluşumu açısından oldukça önemlidir. Öyle ki, bu koagülasyon faktörleri fibrinin çapraz bağlanmasını sağlar ve Bowman boşluğunda fibrinolitik mekanizmaların yetersizliği nedeniyle fibrin pıhtısı oluşumunu kolaylaştırır (18). Endotel hücreleri, podositler ve makrofajlardan üretilen ve 31 kD ağırlığında bir protein olan doku faktörü de fibrin depozitleri için uyarıcı role sahiptir (19). Parietal epitel hücreleri de kısıtlı proliferasyon kapasitesine sahip visseral glomerüler (podosit) hücrelerin aksine, platelet derived growth factor (PDGF) gibi büyüme faktörleri ile proliferen olabilirler ve kresent oluşumuna katkıda bulunurlar (20) (Figür-1).

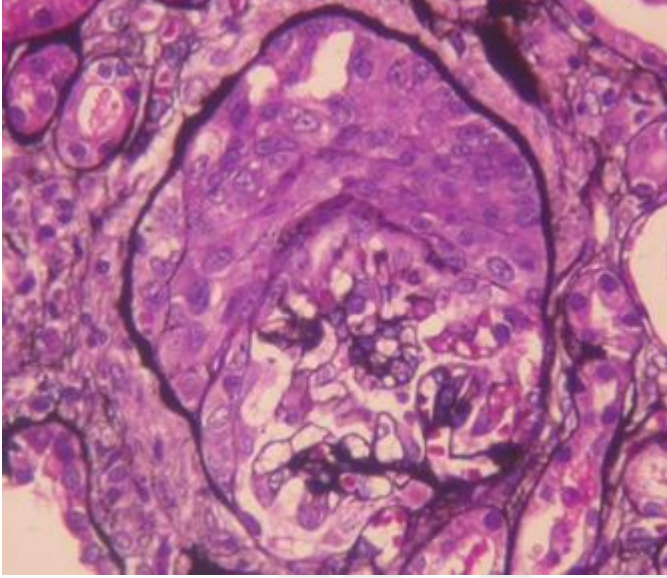


Figür-1: Hüresel kresentlerin görüldüğü glomerül yapısı

Makrofajlar da kresent oluşumunda oldukça önemli bir role sahiptirler (21). Makrofajların glomerüllere lokalizasyonu, parietal epitel hücrelerde ortaya çıkan C-C kemokinler, macrophage chemoattractant protein-1 (MCP-1), macrophage inhibitory factor (MIF), macrophage inflammatory protein-1 (MIP-1) alfa, osteopontin, VCAM-1 ve intersellüler adhezyon molekülü-1 (ICAM-1) gibi adezyon molekülleri ve CD44 gibi birçok kemoatraktan sayesinde olmaktadır (22).

Bowman boşluğuna geçmiş ve aktive olmuş makrofajlar, hem proliferasyon yoluyla, hem de salgıladıkları faktörler, IL-1, TNF- α , transforming growth factor beta (TGF- β), matrix metalloproteinase (MMP) ile kresent oluşumuna katkıda bulunurlar. IL-1 ve TNF- α , adezyon moleküllerinin sayısını artırma, hücre proliferasyonunu uyarma ve daha fazla makrofajı çağırma rol alırlar (23). Deneysel modellerde, aktive T-lenfositlerin de glomerüler bazal membran (GBM) da olan hasarda rol aldığı gösterilmiştir (24). T-helper hücrelerinin glomerüllere göçü geleneksel kemoatraktanlar (MCP-1 ve MIP-1 alfa), belli sitokinler (IL-12p40 ve IL-18), mast hücreleri, makrofajlar ve lenfoid dışı hücreler (CD80 ve CD86) ile olmaktadır. T-hücrelerinin glomerüler hasarda esas rolü, antijenleri tanıma, MIF ve interferon-gama gibi faktörlerin salınımı yoluyla makrofajlara takviyede bulunmaktır. (25)

Kresent oluşumu başladıktan yaklaşık 1 hafta sonra hücresel elemanlar apoptoz ile ortadan kaybolmaya başlar. Fibroblastlar periglomerüler interstisyumdan, Bowman kapsülündeki deliklerden geçerek, Bowman boşluğuna gelirler ve hücresel kresentten fibröz kresente geçişte majör rol oynayan interstisyel kollajeni (tip 1) sentezlerler (25) (Figür-2). TGF- β , kollajen üretimi için güçlü bir uyarıcı olarak rol alır.



Figür-2: Fibroselüler kresentin oluştuğu glomerül yapısı

Klinik ve laboratuvar bulguları: HİGN’de akut nefritik sendromun componentleri vardır. En önemli fark; semptom ve bulguların günler değil, haftalar içinde ortaya çıkmasıdır ve klinikte daha sinsi bir seyir göstermesidir (12). Bu nedenle HİGN, önceden subakut glomerülonefrit olarak da isimlendirilmiştir. Oligüri sıktır, bazen mutlak anüri de görülebilir. Makroskopik veya mikroskopik hematüri olabilir, eritrositlerin hemen hepsi dismorfiktir ve sedimentte eritrosit silindirlerine sık rastlanır. İdrar sedimentinde lökositler, renal tübülüs epitel hücreleri, çok sayıda hiyalen ve granüler silindirler de görülür (12). Proteinüri genellikle nefrotik düzeylere erişmez, nonselektif olan bu proteinüri fibrin yıkım ürünleri ve fibrinopeptidleri de içerir (13).

Tanı: Subakut seyirli bir böbrek yetersizliği karşısında öncelikle bu hastalığı akla getirmelidir. O nedenle, klinik seyrin bilinmesi tanıda çok önem taşır. Hastanın idrar ve kan tahlillerinde yukarıda sayılan tablolara ait bulguların saptanması ve ayrıntılı serolojik inceleme (Antiglomerüler bazal membran antikoru (Anti-GBM-Ab), anti-nükleer antikor (ANA), anti-çift sarmal DNA antikoru (anti-dsDNA), sitoplazmik ANCA (c-ANCA), perinükleer ANCA (p-ANCA), hepatit B yüzey antijeni (HBsAg), hepatit C virüs antikoru (Anti-HCV), HCV-RNA, C1q, C3, C4, kriyoglobülin gibi) tanıda yarar sağlar. Kesin tanı için böbrek biyopsisi ve materyalin hem ışık, hem de IF mikroskopi ile incelenmesi şarttır.

2.2.2. HİGN ve alt tipleri

Patogenezin saptanmasında, hem de hastalığın sınıflandırmasında glomerüllerdeki antikörlerin immünofloresan ile boyanma paternleri önemlidir. Buna göre HİGN'ler 3 ana gruba ayrılır (14)(tablo-1):

Tablo-1: Hızlı ilerleyen glomerülonefritlerde etiyopatogenetik faktörler ve bunlara örnek oluşturan klinik tablolar (14)



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

2.3. PAUCİ-İMMUN GLOMERULONEFRİT (HİGN TİP3)

Klinik ve histolojik olarak küçük damar vaskülitlerine benzeyen, ancak damar duvarlarında immüno kompleks birikiminin çok az olması veya birikimin olmaması ile ayrılan nekrotizan vaskülitlerdir. Erişkinlerde hızlı ilerleyici glomerülonefritin en sık nedenidir. Sadece böbrek tutulumu ile başvuran hastalarda bile ateş, kilo kaybı, halsizlik, kas ve eklem ağrısı gibi sistemik belirtiler vardır. Bu hastalarda daha sonra böbrek dışı organlar da tutulabilir. Özel alt grupları (26);

Wegener granülomatozu: Sıklıkla solunum yollarını etkileyen nekrotizan glanülomatoz yangı ile birliktedir. Böbrek tutulumu %90 hastada bulunur.

Mikroskopik polianjitis: Wegener granülomatozu ve Churg-Strauss sendromu bulgularının olmadığı, sistemik ve immünoite bakımından sınırlı vaskülitir. Böbrek tutulumu %80 hastada bulunur.

Böbreğe sınırlı vaskülit: Sistemik vaskülitin eşlik etmediği durumlarda “ böbreğe sınırlı vaskülit” ya da “ idiyopatik HİGN “ tablosudur.

Churg-Strauss sendromu: Astım, eozinofili ve nekrotizan yangı ile kendini gösterir. Böbrek tutulumu %45 hastada bulunur.

Hastalıkların tümü, serumda nötrofil sitoplazma bileşenlerine karşı otoantikörlerle – anti nötrofil sitoplazma antikörleri (ANCA) ilişkilidir. Vaskülit ve glomerulonefrit hastalarında en sık saptanan özgül ANCA tipleri proteinaz 3 (PR3) ve myeloperoksidaz (MPO) için olanlardır. ANCA ile patogenetik ilişki, birçok çalışma ile desteklenmiştir. Propiltiourasil, hidralazin ve penisilamin gibi, dolaşımında ANCA sunumunu tetikleyen ilaçların verilmesi sonrasında da pauci-immun kresentik glomerulonefrit ve küçük damar vaskülit gelişmesi güçlü bir kanıttır. İlginç olarak MPO-ANCA IgG‘ nin, plasenta yolu ile geçişine bağlı yenidoğanda glomerulonefrit ve pulmoner kanama bildirilmiştir. Aynı şekilde ANCA IgG enjeksiyonu ile, farelerde de kresentik glomerulonefrit ve vaskülit geliştiği gösterilmiştir. (27)

2.3.1. Patogenezi

ANCA ilişkili vaskülitler, enfeksiyon, genetik yatkınlık, silika gibi çevresel patojenlerin etkisiyle immun toleransın bozulması ve anti-MPO (mieloperoksidaz) ya da anti-PR3 antikörleri ile ortaya çıkmaktadır. Tetikleyici nedenlere bağlı olarak açığa çıkan sitokinler nötrofilleri uyarır. Sonuçta nötrofil yüzeyinde ANCA antijenlerinin sunumu artar, antikörler oluşur ve antijen-ANCA etkileşmesi sonrasında, nötrofilik granüllerden IgG ve toksik oksijen metabolitleri ve proteazlar salınır. Bu metabolitler, endotel hücre harabiyetine neden olur. ANCA-antijen kompleksleri, endotel hücrelerine yapışarak, (in situ) immunkompleks oluşumuna da katılırlar ve ayrıca uyarılmış nötrofiller de endotele yapışarak; yangı mediatörlerinin salınmasına, hücre hasarına ve sonuçta damar duvarı yıkımına neden olurlar. MPO–ANCA, in-vitro olarak hipoklorik asit (HOCL) üretimini artırır. Meydana gelen diğer yan ürünlerle birlikte, endotelial hücrelerde sitolitik etki gösterir (28).

T hücreleri, özellikle Wegener Granulomatozu (WG) patogenezinde önemli rol almaktadır. T helper 1 (Th-1) ilişkili mediatörler, lokalize hastalıkta artmış saptanırken, T helper 2 (Th-2) ilişkili mediatörler, generalize hastalıkta artmış saptanır (29). İnterlökin 17 üretimini sağlayan CD 4 hücrelerinin, patogenezinde önemli rol aldığını gösteren çalışmalar mevcuttur (30). Xiao ve ark.’nın (31) yaptığı çalışmada, MPO IgG uygulanan farelerde, altı gün içinde kresentik glomerulonefrit ve bazı farelerde de küçük damar vaskülit geliştiği saptanmıştır. Nolen ve ark. intravital mikroskopiyi yaptıkları çalışmada TNF- α , antiMPO antikörleri gibi proinflamatuvar sitokinlerin, endotelden lökosit adezyonu ve transmigrasyonunu uyardığı gösterilmiştir (32).

2.3.2. T ve B Hücrelerinin Glomerulonefrit Patogenezinde Rolü

T ve B hücrelerinin de AAV patogenezinde katkıda bulunduğuna inanılmaktadır. Wilde ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, hem aktif hem de pasif AAV’de B regülatuar hücrelerinin sayısında bir azalma olduğu gösterilmiştir. Bu çalışma, pasif AAV’de B ve T regülatuar hücreler arasında pozitif bir korelasyon olduğunu göstermiş ve aktif AAV’de, B regülatuar hücreler tarafından Th1 hücre supresyonunun yetersiz kalmış olabileceğini öne sürmüştür. (33) AAV tanılı hastalarda diğer çalışmalar, regülatör T hücrelerinin fonksiyonunun bozulması ile birlikte, bu hücreler tarafından supresyona karşı dirençli olan efektör T hücrelerinin varlığını göstermiştir. (34) Ayrıca yapılan invitro çalışmalarda, AAV patogenezinde, efektör T hücrelerinin bir alt grubu olan Th17 hücrelerinin de olası bir rolünün olduğu sonucuna varılmıştır. (35-37)

Th17 hücrelerinin pauci-immün ANCA ilişkili GN'deki rollerini araştıran çalışmalar da vardır. ANCA ilişkili vaskülitte IL-17 üreten Th17 hücrelerinin, önemli bir rolünün olduğu belirtilmiştir. (38) Th17 hücreleri, Th1 ve Th2 hücrelerinden farklı sitokinleri salgılamakta ve farklılaşma için bu hücrelerden farklı sitokine gereksinim duymaktadır. IL-6, TGF- β , IL-1, IL-21, Retinoik asit reseptör ilişkili orphan reseptör ROR γ t (ROR γ t), ROR α ve Signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3), Th17 farklılaşmasında rol alan sitokinlerdir(39). Kresentik GN lezyonlarının gelişiminde, MPO'nun önemli bir antijen olduğu bilinmektedir. ANCA ile ilişkili hastalıklarda IL-17A, nötrofil çoğalmasını artırarak hastalık gelişimine katkıda bulunur.(40) ANCA pozitif WG hastalarında, IL-17A üreten aktif T hücrelerinin arttığı gösterilmiştir. (38) Aktif Churg-Strauss hastalarında IL-17A üretiminin, kontrol ve inaktif hastalık grubuna göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. (41) Organizmadaki immün yanıtların ayrıntılı incelemesinde, bazı hücrelerin "effektör" T lenfositlerin aktivasyonunu ve fonksiyonlarını engellediği saptanmıştır. Bu inhibitör hücreler de T hücre alt gruplarından ve düzenleyici (baskılayıcı) T hücreler (Treg) olarak adlandırılır. Düzenleyici T hücre ile "effector" T hücreler arasında etkileşim sonrası, IL-2, IL-10, TGF- β gibi sitokinler salgılanır. Bu sitokinler, "effektör" T hücrelerinin fonksiyonunda rol alan NFAT ve NF-B (Nükleer faktör beta) gibi önemli yolların rol aldığı intranükleer gen transkripsiyon inhibisyonunu engeller.(42) CD4+ Th hücrelerinin Treg veya Th17 hücrelerine farklılaşmasını sağlayan sitokin TGF- β 'dir. Karşılanmamış TGF- β uyarısı FOXP3 ekspresyonunu artırarak, Treg oluşumuna ve immünregülasyonuna yol açar. Ancak inflamasyon sitokini olan IL-6 da ortamda varsa, TGF- β "naive" Th hücrelerini Th17 yönünde farklılaştırır. (43)

Kresentik GN geliştirilen murine deney modelinde Treg depleksyonu geliştirilen farelerde Th17 yanıtı artmaksızın, sistemik ve renal IFN-gamma (interferon gama) ekspresyonunun ve IFN-gamma üreten Th1 hücrelerinin enflamasyon alanında toplanmasının arttığı gözlenmiştir. (44). Düzenleyici T hücrelerinin GN baskılayıcı özellikleri olması nedeni ile, bu tür hastalıkların tedavisinde de kullanılabilen düşüncesini uyandırmıştır.

2.3.3. Klinik Özellikler

Kresentik glomerülonefrit, sıklıkla HİGN tablosuyla, ani başlayan, tamamen iyileşmenin çok az olduğu, günler-haftalar içinde kronik böbrek yetmezliği gelişimi ile karakterizedir. Başlangıcı çoğunlukla sinsidir. Hastaların çoğunluğunda viral enfeksiyonu takiben halsizlik, bulantı, kusma, artralji, oligüri gibi nonspesifik semptomlarla ortaya çıkabilir. Bazı hastalarda ise başlangıç anidir, makroskopik hematuri, ödem, oligüri ile ortaya çıkar. Klinik olarak, poststreptokokal glomerülonefrite benzer. Başvuru esnasında çoğu vakada kreatinin değeri 5mg/dl üzerindedir. İdrar analizinde dismorfik eritrositler, eritrosit silendirleri saptanır. Değişik derecelerde proteinüri mevcuttur, glomerüler filtrasyon hızının düşüklüğü, proteinüriniyi kısıtlar. Bu yüzden nefrotik sendrom seyrek (45). Ekstrarenal bulgular ise altta yatan hastalığa bağlı olarak değişir. Anti GBM hastalığında renal bulgulara ek olarak, hemoptizi saptanabilir. Pauci-immün kresentik glomerülonefrit vakalarında ise vaskülitin sistemik bulgularına rastlanabilir. Pürülan kanlı burun akıntısı, oral-nazal ülserler, kulak akıntısı, otitis media, işitme kaybı WG vakalarının %90'ında, MPA vakalarının ise %35'inde rastlanır. Akciğer tutulumuyla ilgili olarak öksürük, hemoptizi, plöretik göğüs ağrısı saptanabilir (46-48). Alt ekstremitelerde fokal nekroz ve purpura, ürtiker, livedo

retikularis, eritama nodosum, pyoderma gangrenosum gözlenebilir (49). Konjuktivit, episklerit, optik nöropati, diplopi, retinal vaskülit bulguları ortaya çıkabilir. Nörolojik olarak mononöritis miltipleks ve kranial sinir tutulumları da saptanabilir. Alerji-astım bulguları, karın ağrısı gibi non-spesifik semptomlar da olabilir (50,51).

2.3.4. Serolojik Özellikler

Antinötrofil sitoplazmik antikorlar (ANCA) son yıllarda tanımlanmış bir grup otoantikordur (52). ANCA'nın tanımlanmasından sonra, çeşitli vaskülitlerin patogeneğinde rolü olduğu yolunda ipuçları elde edilmiş ve ANCA (+) vaskülit patogeneğinde, otoimmünite ağırlık kazanmıştır. ANCA'lar, yöneldikleri antijene göre 3 alt gruba ayrılırlar (53)

cANCA'nın hedef antijeni, proteinaz 3 ve cathionic protein 57 (CAP-57) dir. İmmünofloresan boyama tekniği ile klasik diffüz boyama örneği verir. WG ve cPAN ile birlikteliği rapor edilmiştir. pANCA'nın hedef antijeni, MPO, elastaz ve lactoferrin'dir. İmmünofloresan boyama tekniği ile perinükleer boyanma örneği verir. xANCA'nın hedef antijeni ise Cathepsin G dir. İmmünofloresanla her iki tip boyanma örneği vermektedir (53).

Sistemik nekrotizan vaskülit ve glomerulonefritlerle ANCA'nın birarada bulunuşu önemlidir. İnvitro çalışmalarda, bu antikorların patogeneğinde rollerinin olduğu ortaya konmuştur. Nötrofillerin ve monositlerin stimülasyonu ve T lenfositlerdeki değişikliklerde rollerinin olduğu düşünülmektedir. ANCA'nın, T lenfositler üzerine olan etkisi incelenmiş ve WG'de T lenfosit aktivasyonu kanıtları gösterilmiştir (53-55). Üçüncü Uluslararası ANCA seminerinde lökositler üzerine, ANCA'nın etkilerini gösteren yeni veriler ortaya konmuştur. Nötrofillerin aktivasyonu ile agregasyon, kemotaksis, adherens, reaktif oksijen metabolitlerinin açığa çıkması ve degranülasyon ile hedef hücre hasarı oluşur (53,54). ANCA pozitif bir kişide vasküler inflamasyon potansiyeli vardır. Ancak doku harabiyeti için bu yeterli değildir. Viral enfeksiyon gibi lokal ya da dolaşan sitokin düzeyini artıran nonspesifik bir olaya ihtiyaç vardır. Bu nonspesifik olayın sitokin düzeyini artırması ile adezyon molekülleri ile nötrofil endotel adezyonu sağlanır. Bunun sonucunda antijenler, yüzeye hareket eder ve bu ortama ANCA'nın yönelmesi ve ANCA ile antijeni arasındaki ilişki sonucu serbest oksijen metabolitleri üretimi, degranülasyon ve endotel hasarı oluşur. Degranülasyon, nötrofil aktivasyonunun bir göstergesidir.(56)

ANCA pozitif hastalıklarda, etkilenen organlardan bağımsız olarak ortak patolojik özellikler vardır. Bunlar; fibrinoid nekroz, nötrofil akümüasyonu ve damar duvarı nekrozudur. Fibrinoid nekroz, ANCA ile birlikteki vaskülitlerde ortak karakteristik özelliktir. Ayrıca WG'de multinükleuslu dev hücreler, CSS'de hipereozinofilinin bulunuşu bu hastalıklara özeldir.(56)

ANCA ile birlikte olan nekrotizan glomerulonefritli hastalar, ekstrarenal bulgular olsun ya da olmasın, oral veya IV kortikosteroid ve siklofosamid tedavisine (24 ayda %75 yaşam oranı) cevap verirler. Tedaviden sonra relaps olabilir. Bunun yanısıra tedaviye dirençli vakalar da görülebilir. Ancak erken tanı ve erken dönemde immünsüpressif tedavi başlanması, uzun süreli optimal yaşam fırsatını sağlaması yönünden gereklidir. Sonuç olarak, ANCA(+)'liğin WG'de %95, sistemik vaskülitlerde %84 sensitivitesi ile tanı açısından önemli yeri vardır. Relaps olmadan önce ANCA titresinin yükselmesi, relapsların önceden fark edilebilmesi açısından önemlidir. ANCA tayini primer nekrotizan kresentik

glomerulonefritlerin tanı ve izleminde yapılması gereken önemli bir tetkiktir. Ancak ANCA pozitifliği, histolojik tanının yerini almamalıdır.(56)

2.3.5. Tedavi ve Prognoz

Güncel ve destekleyici tedavi yaklaşımları, HİGN uzun dönem sonuçlarını düzeltmiştir. Ancak tedavinin geliştirilmesi önemli bir ihtiyaçtır. Kresentik glomerulonefritte de prognoz ve uygun tedavi, başlangıçtaki hastalığın ciddiyeti, immünpatolojik kategoriye göre değişir. AntiGBM ve ANCA ilişkili glomerulonefrit, kresent formasyonu oluşturmayan ya da kısmen oluşturan glomerulonefrite göre daha agresiftir, akciğer tutulumu da olmuşsa ciddi immünsüpressif tedavi düşünülmelidir. ANCA ilişkili glomerulonefritlerle ilgili iyi organize edilmiş prospektif bir çalışma, Avrupa Vaskulit Çalışma Grubu tarafından oluşturulmuştur. Remisyon indüksiyon tedavisinde siklofosfamid, hala ilk seçilecek ilaçtır (57) AntiGBM kresentik glomerulonefrit, ANCA ilişkili glomerulonefrit ve diğer ciddi kresentik glomerulonefrit tiplerinde, standart tedavi yüksek doz kortikosteroid ve sitotoksik immünsüpressif ajan kullanımındır (58). ANCA pozitif kresentik glomerulonefrit ve antiGBM kresentik glomerulonefrit tiplerinde pulmoner tutulum mevcutsa, tedaviye plazmaferez eklenebilir (59). Siklofosfamid, remisyon indüksiyon tedavisinde hala en sık kullanılan ajandır. Her 3-4 hastadan birinde zaman içinde nüks meydana gelir. İmmüsupresyonun devamı için kullanılacak tedavi, uzun dönem immünsüpressif tedavinin neden olabileceği toksik etkilerden dolayı problemlidir. Siklofosfamid, geçmişte en sık kullanılan ajandı günümüzde remisyon idamesinde azatiyoprin ve mikofenolat mofetil gibi ajanlar kullanılmaktadır. Amaç, rekürrens hızlarını %20'nin altında tutarken, toksisiteyi azaltmaktır. Bu amaçla kullanılan ajanlar arasında leflunomide, deoksipergualin, TNF α blokerleri ve kalsinörin inhibitörleri de bulunmaktadır (59).

Tüm kresentik glomerulonefrit tiplerinde sonucu tahmin eden en önemli durum, tedavi öncesi böbrek yetmezliğinin derecesidir (57,59,60). Renal patolojinin ciddiyeti, aktivitesi, glomerüller ve interstisyel tutulumun derecesi, prognozu netleştirmeye yardımcıdır. Örneğin ANCA glomerulonefritli hastalarda, yüksek oranda etkilenmemiş glomerul sayısı, artmış sağ kalım ile ilişkilidir (60). Tanı esnasında antiGBM pozitif, ANCA negatif saptanan hastalar, ANCA pozitif ve antiGBM negatif saptanan hastalara göre, daha kötü bir klinik gidiş ve prognoza sahiptir. Tahminlere aykırı olarak, anti GBM ve ANCA birlikte pozitif saptanan hastaların kresent oranları yüksek değildir. Daha iyi prognoza sahiptirler.(61) PR3-ANCA pozitif hastalar, MPO-ANCA pozitif hastalarla karşılaştırıldıklarında daha çok kronikleşme oranına, patolojik olarak daha az aktiviteye ve daha uzun sağ kalıma sahiptirler (58, 60, 61).

2.4. mTOR YOLAĞI

2.4.1 mTOR multiprotein komplekleri ve yapısal özellikleri

mTOR, 290 kilo Dalton (kDa) ağırlığında bir atipik serin/treonin protein kinaz olup fosfatidil inozitol kinaz ilişkili kinaz (PIKK) ailesine mensuptur(62). Yapısal olarak 20 ardışık *Huntingtin*, *elongation factor 3 (EF3)*, *protein phosphatase 2A (PP2A)* ve *the yeast kinase TOR1* (HEAT) proteininden oluşur. Amino uç bölgesini *FAT* (tümü PIKK aile üyesi olan FK506 bağlayan protein 12- rapamisin ilişkili protein [FRAP], *Ataxia telangiectasia*

mutated [ATM], *Transformation/transcription domain-associated protein* [TRAPP]) takip eder. Kinaz alanı, FKBP12/rapamisin binding (FRB) ile FAT C- terminus (FATC) arasında olup proteinin C-terminal kısmındadır. FRB, FAT ve FATC alanları, mTOR kinaz aktivitesinden sorumludur (63).

mTORC1

mTORC1 5 kısımdan oluşur (64):

- 1) mTOR (kompleksinin katalitik alt birimidir)
- 2) Raptor (*regulatory-associated protein of mTOR*)
- 3) GbL (veya diğer adıyla *mLST8 -mammalian lethal with Sec13 protein 8*)
- 4) PRAS40 (*prolinerich AKT substrate 40 kDa*)
- 5) Deptor (*DEP-domain-containing mTOR-interacting protein*)

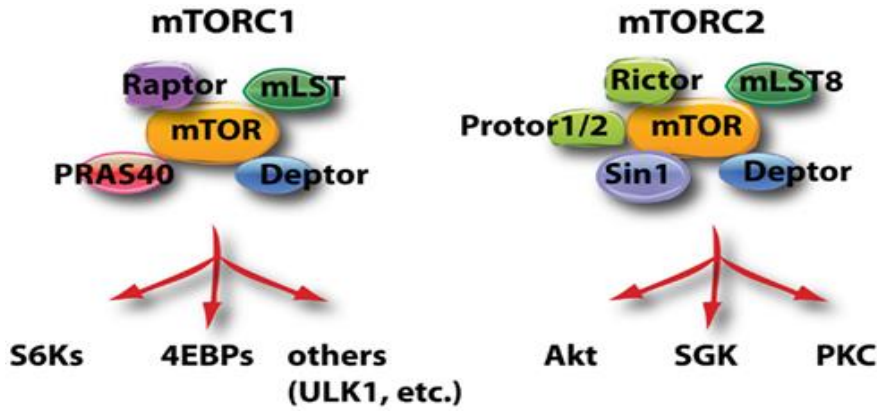
mTOR ile ilişkili pek çok molekülün kesin işlevi hala net değildir. Raptorun mTOR substratlarını toplayıp, kompleksi düzenleyerek mTORC1 aktivitesini etkilediği öne sürülmektedir(65,66). mLST8 proteininin, *in vivo* delesyonu ile mTORC1 işlevi etkilenmediği için, mLST8 işlevi henüz belli değildir(67). PRAS40 ve Deptor mTORC1 için belirgin negatif düzenleyicilerdir.(64,68,69)

mTORC2

mTORC2, bazıları mTORC1 kompleksinde de yer alan 6 farklı proteinden oluşur(64):

- 1) mTOR (kompleksinin katalitik alt birimidir)
- 2) Rictor (*rapamycin-insensitive companion of mTOR*)
- 3) GbL (veya diğer adıyla *mLST8 -mammalian lethal with Sec13 protein 8*)
- 4) mSIN1 (*mammalian stress-activated protein kinase interacting protein*)
- 5) Protor-1 (*protein observed with Rictor-1*)
- 6) Deptor (*DEP-domain-containing mTOR-interacting protein*)

Rictor ve mSIN1 moleküllerinin birbirlerini stabilize ederek mTORC2 yapısını kurduğuna dair kanıtlar mevcuttur (70,71). mTORC1 içindeki görevine benzer olarak Deptor mTORC2 aktivitesini inhibe eder (64). Son olarak, mLST8 (GbL) mTORC2 işlevi için çok önemlidir. Bu proteinin eksikliğinde kompleks stabilizasyonu bozulur ve kompleksin aktivitesi kaybedilir (67). Akt hem mTORC1 hem de mTORC2'yi fosforilleyerek aktive ederken, mTORC2 daha sonra Akt'yi fosforilleyerek Akt'nin tam aktivasyonu ile çalışmasını katalizler(72).



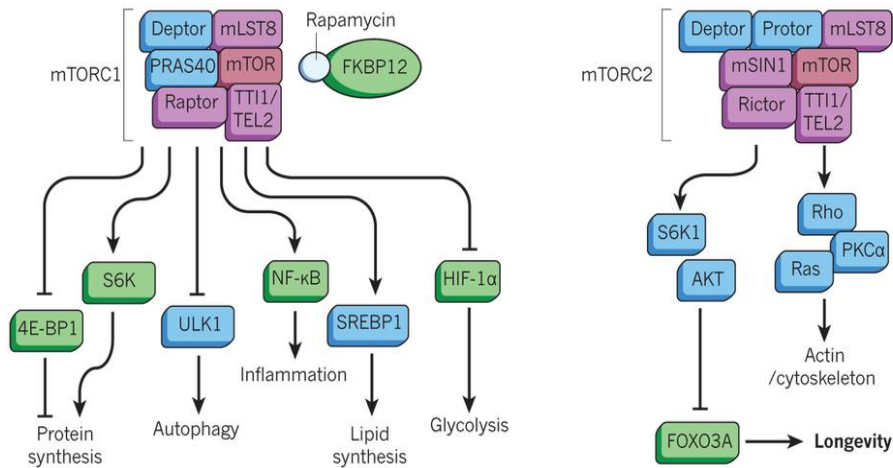
Figür-3: mTOR kompleks 1 ve 2'yi oluşturan yapısal proteinler ve aktive olan mTOR komplekslerinin etkileşime girdiği yollar (73).

2.4.2. mTOR ve Fizyolojik işlevleri

mTOR kompleks aktivasyonu ile hücre büyümesi, hücre çoğalması ve hücrenin boyutsal olarak genişlemesi pozitif yönde etkilenir. mTOR bu etkilerini mRNA translasyonu, ribozom biyogenezini, besin metabolizması ve otofaji gibi birkaç yolla yapabilmektedir.

Protein sentezi

mTORC1, hücre büyümesi için gerekli olan protein sentezini, çeşitli efektörleri etkileyerek artırır. mTORC1, eIF4E ve bunu bağlayan protein olan *eIF4E binding protein-1* (4E-BP1) ile S6K1 proteinlerini fosforile ederek, protein sentezini artırır. 4E-BP1 molekülünün fosforillenmesi, bu molekülün eIF4E'ye bağlanmasını önler. Böylece eIF4E şapka bağımlı translasyonu başlatır (74). S6K1 aktivitesinin mTORC1 ile uyarılması mRNA biyogenezinde, şapka bağımlı translasyon ve uzama ile ribozomal proteinlerin translasyonunda artışa yol açar. Bu durum Figür 4'te şematize edilmiştir.



Figür-4: mTOR işlevleri ve işlevlerine aracılık eden proteinler (75).

mTORC1 uyarısı ile 4E-BP1, translasyonu başlatacak olan eIF4E'den ayrılır ve böylece şapka bağımlı translasyon başlar. Yine mTOR uyarısı ile S6K1 aktivitesi başlar. Translasyon ve elongasyon ile protein sentezi artmış olur.

Otofaji

Otofaji, hücre içi komponentlerin otofagozomlar içine alınarak lizozomlar aracılığı ile sindirilmesi demektir. Organellerin degradasyonu ve protein döngüsünde önemli bir katabolik süreçtir. Besin yetersizliğinde protein sentezi ve enerji sentezi gibi anabolik olaylar için biyolojik materyal, otofaji ile sağlanır. Çalışmalar mTORC1 inhibisyonunun, otofajiyi arttırdığını, diğer yandan mTORC1 aktivitesinin de otofajiyi azalttığını göstermiştir (76). mTOR, Unc51-like kinase 1 (ULK1) molekülünü fosforile ederek otofajiyi önlemektedir (77) (Figür 4).

Lipid sentezi

mTORC1 lipid sentezinde görevli olan sterol regulatory element binding protein 1 (SREBP1) ve peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR- γ) moleküllerini pozitif yönde kontrol etmektedir (78,79). Bu iki molekül (SREBP1 ve PPAR- γ) lipid ve kolesterol homeostazında görevli proteinlerin kodlandığı genlerin transkripsiyon faktörleridir. mTOR kompleksinin rapamisin ile bloke edilmesi PPAR- γ ve SREBP1 ekspresyonunu ve aktivitesini azaltmaktadır (78,80).

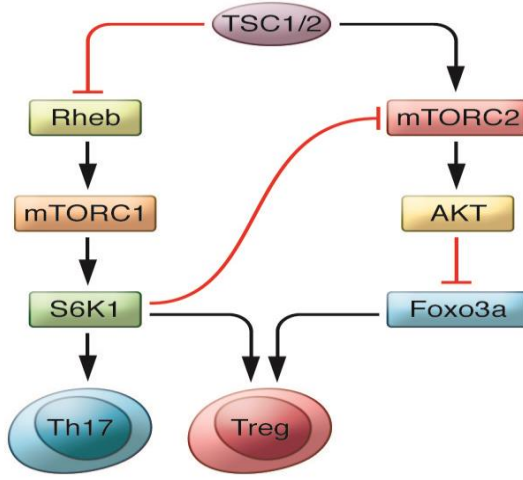
Mitokondriyal Metabolizma ve Biyogenez

Mitokondriyal metabolizma ve biyogenezin her ikisi de mTORC1 ile kontrol edilmektedir. Rapamisin ile mTORC1 inhibisyonu mitokondriyal membran potansiyelini, oksijen tüketimini ve hücreselel adozin trifosfat (ATP) düzeylerini azaltır (81). Son yapılan çalışmalarda oksidatif metabolizmada yer alan proteinlerin yanında mitokondriyal DNA kopya sayısının rapamisin ile azaldığı ve mTORC1 aktivasyonuna yol açan mutasyonlarla arttığı gösterilmiştir (82). Bunlara ek olarak fare iskelet hücresinde Raptorun delesyonu ile mitokondriyal biyogenezi düzenleyen genlerin ekspresyonunda azalma saptanmıştır (83).

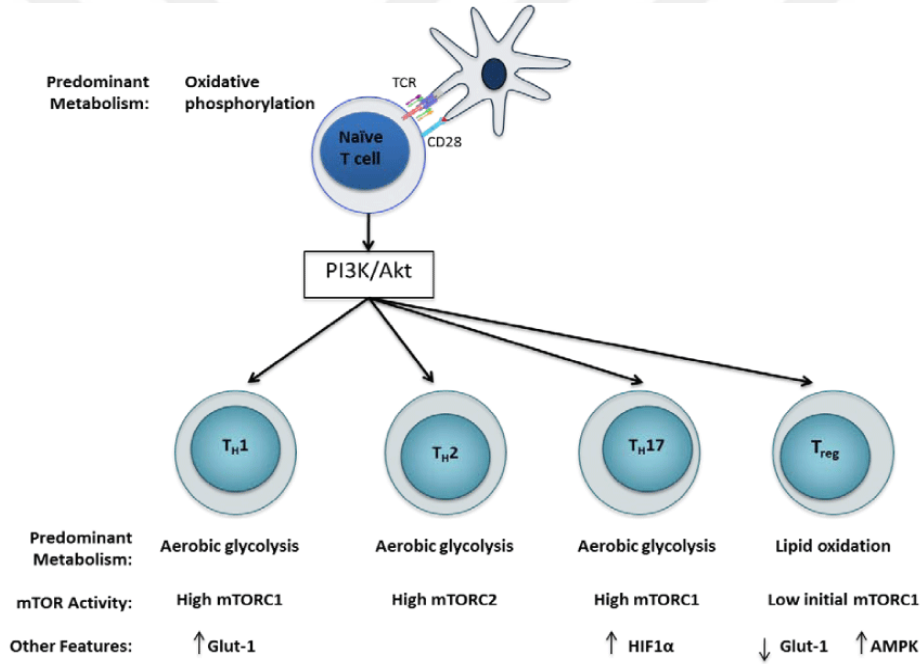
T Hücre Farklılaşması

T hücrelerinin farklılaşması için başlıca 3 sinyale gerek vardır: T hücre reseptör (TCR) etkileşimi, kostimülatör sinyaller ve sitokinler. Bu sinyallerin tamamı mTOR duyarlıdır. mTOR aktive olduğunda T hücre sinyal yolları ile etkileşime girerek hücre farklılaşması, çoğalması, sağ kalımı ve metabolizmasını düzenler. T hücrelerindeki mTOR'un fonksiyon kaybı Th1, Th2 ve Th17 hücrelerinin azalmasına ve Treg hücrelerinin artışına neden olur (Figür 5). Treg hücreleri organizmanın kendi antijenlerine karşı duyarlı hale gelmesini önleyerek otoimmün hastalıkları önlemektedir. Bu nedenle organ naklinde organ reddini önlemek amaçlı mTOR inhibitörleri kullanılmaktadır. mTOR inhibisyonu ile Treg hücre artışı sağlanırken yardımcı T hücreler baskılanmaktadır (84). Ayrıca mTOR inhibitörü ile naif T hücresi yüzeyinde, Treg hücre yüzeyinde fazla miktarda bulunan FoxP3'ün de novo artışı in vivo ve in vitro çalışmalarda gösterilmiştir (84). Yine benzer şekilde in vitro ortamda TGF β ve IL2 varlığında, T hücre reseptörlerinin uyarıldığı ve T hücre yüzeyinde FoxP3 artışı olduğu tespit edilmiştir (85). Figür 6'da T hücreleri ve başlıca enerji kaynakları gösterilmekte olup yardımcı T hücrelerin fazla enerji gereksinimleri için yüksek mTOR aktivitesine ihtiyaç

vardır. Böylece mTOR yalnızca T hücre farklılaşması değil sağ kalımında da önemli rol oynamaktadır.



Figür-5: mTOR'un T hücre farklılaşması üzerindeki işlevi (86)



Figür-6: T hücreleri ve T hücrelerinin enerji gereksinimleri için gerekli olan yüksek mTOR aktivitesi (84)

B hücreler

PI3K ve mTOR B hücre çoğalması için gerekli olup erken ve geç B hücre reseptörlerini (BCR) mTOR inhibisyonu ile bloke olurlar. Fare B hücrelerinde mTOR inhibisyonu ile S6K1 aktivasyonu ve DNA sentezinin de bloke olduğu gösterilmiştir (85). B hücrelerinin lipopolisakkaride olan duyarlılığı da yine mTOR aracılığıyla olur.

Doğal Öldürücü Hücreler

mTOR inhibisyonu ile sıçan NK hücrelerinde mitoz bölünmenin *Gap-1* (G1) fazından sentez (S) fazına geçişin durması ile hücre çoğalmasının engellendiği gösterilmiştir. Ancak bu durumdan IFN- γ salınımı etkilenmemektedir (85).

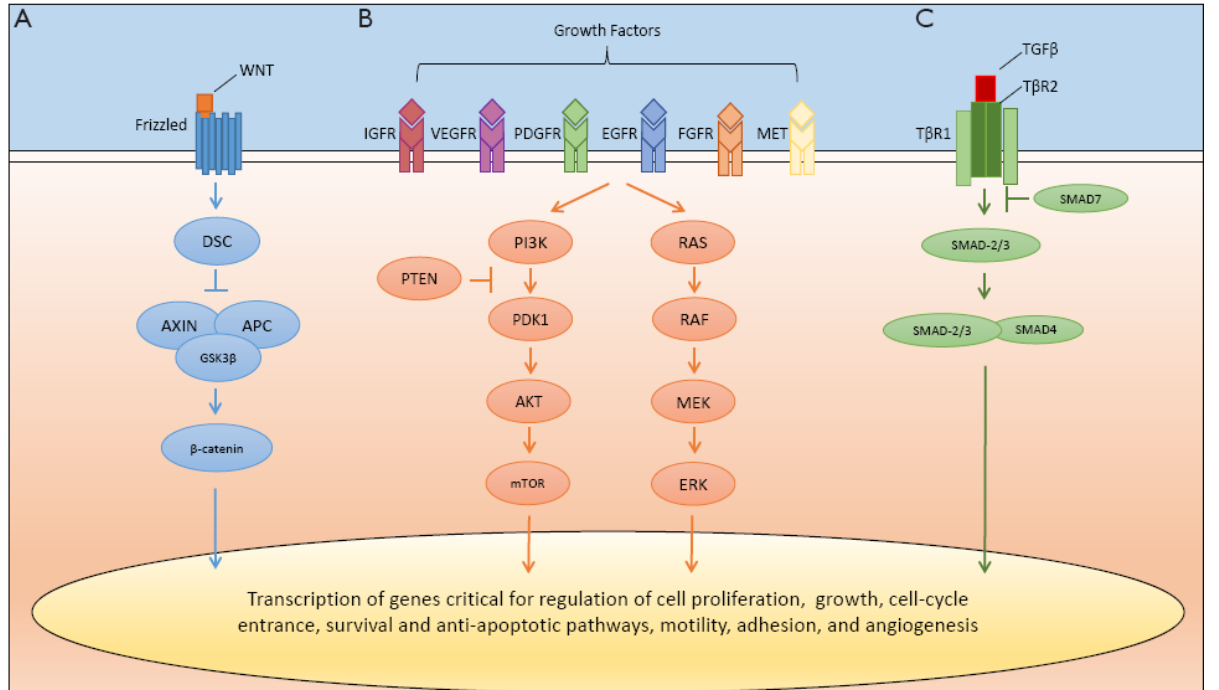
Nötrofiller

mTOR nötrofillerin kemotaksis ve granülosit makrofaj koloni stimulan faktör (GM-CSF) ile ortaya çıkan kemokinesisinde görev alır. mTOR inhibisyonu ile kemotaksis, kemokinesis ve IL8'e verilen nötrofil yanıtı azalır. GM-CSF hücre için S6K1 düzeyini arttırarak lökosit migrasyonu için gerekli olan aktin liflerini arttırır (85). Hücre migrasyonunda görev alan PI3K/Akt/mTOR yolğunun oral PI3K inhibitörü ile engellenmesi sonucunda fare romatoid artrit modellerinde eklem inflamasyonu ve hasarının engellendiği gösterilmiştir (87).

2.4.3. mTOR aktivitesini etkileyen mekanizmalar

Büyüme faktörleri:

Büyüme faktörleri, standart insülin ve Ras sinyalizasyon yollarından mTOR aktivitesini uyarırlar. Bu yolların uyarımı ile tuberoskleroz kompleks (TSC)-2 fosforilasyonu artar. TSC2 kompleksinin fosforile olup inaktif olmasıyla mTORC1 aktive olur. Büyüme faktörleri ile Akt aktive olduğunda, direkt PRAS40 molekülünü fosforiller ve mTORC1 aktivasyonuna neden olur (68,69,88).



Figür-7: Çeşitli büyüme faktörleri ve mTOR arasındaki etkileşim (89)

Enerji Düzeyi

Hücre enerji düzeyi, AMPK aracılığıyla mTORC1 kompleksine yansıtılır (90). Enerji düzeyinin azalmasına yanıt olarak (düşük ATP:adenozin difosfat [ADP] oranı oluşunca), AMPK aktive olarak mTORC1'in aktivitesinin azalmasına yol açar (91).

Oksijen Düzeyi

Oksijen düzeyleri mTORC1 aktivitesini pek çok yolak üzerinden etkileyebilir ve net etki olarak mTOR düzeylerini azaltır (92). Orta düzeyde bir hipoksi oluşması halinde ATP azalarak yukarıda bahsedilen AMPK mekanizması üzerinden mTORC1 aktivitesi baskılanır (93,94). Hipoksi ayrıca *DNA damage response 1* (REDD1), promiyelositik lösemi tümör supresör ve *BCL2/adenovirus E1B 19 kDa protein-interacting protein 3* (BNIP3) molekülleri aracılığıyla mTORC1 sinyalizasyonunu azaltır (95-97).

Aminoasitler

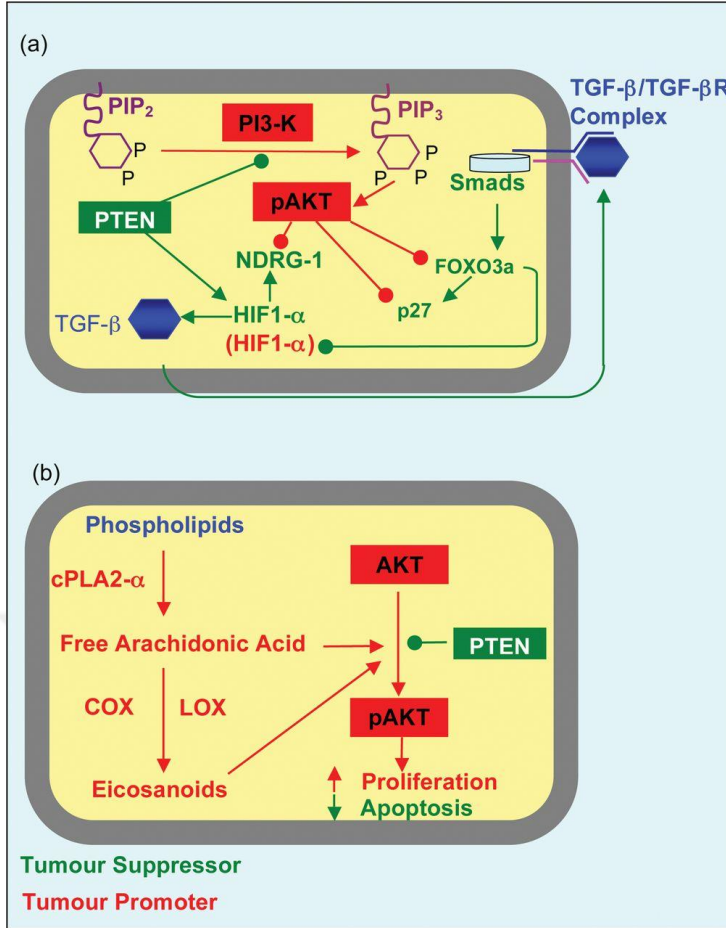
Aminoasitler mTORC1'i kuvvetli olarak uyaran sinyaller sunarlar (98). mTORC1 aktivasyonu için bir esansiyel aminoasit olan lösin gereklidir ve hücre içine glutamin aracılıklı bir yol ile alınır (99).

Aminoasit varlığında rekombinasyon aktive edici protein (RAG proteini) Raptor'a bağlanır ve mTORC1 aktivatörü olan Rheb proteinine bağlanmasını sağlar (100). Bu nedenle aminoasit yokluğunda büyüme faktörleri olsa bile mTORC1 yolağı aktive olamamaktadır (100).

PTEN

PTEN, Akt/mTOR yolağının negatif düzenleyicisidir (101). Akt'nin fosforile olmasını engelleyerek, mTOR kompleksinin aktive olmasını da inhibe eder (102) (Figür 7). PTEN'in bu etkisine karşılık araşidonik asit ise Akt fosforilasyonunu arttırarak, mTOR'u aktive eder. PTEN düzeyinin hücre içinde düşüşü ile PI3K/Akt/mTOR yolağı aktive olarak, hücre proliferasyonu, sağ kalımı, hücre adezyonu ve migrasyonu ile anjiogenezis artmaktadır (102).

PTEN'in mTOR üzerindeki bu negatif etkisinin yanında, immün sistemde mTOR ile benzer etkileri bulunmaktadır. Nötrofil migrasyonu, PI3K/Akt/mTOR ve PTEN'den oluşan 2 farklı yolak aracılığıyla olmaktadır (103). PTEN delesyonu olan hücrelerin, migrasyon yeteneği kaybolmuş olup, bakteriyel kemoatraktanlara yeterli yanıt verilemez (103). Bu nedenle PTEN, otoimmün artritlerde araştırılmış olup, PTEN delesyonu olan antijen sunucu hücrelere sahip fare modellerinde; kollajen ile indüklenmiş artrit neredeyse tamamen önlendiği, IL23 ve IL6 gibi sitokinlerin, antijen sunan hücreler tarafından üretilme kapasitelerinin azaldığı gösterilmiştir (104).

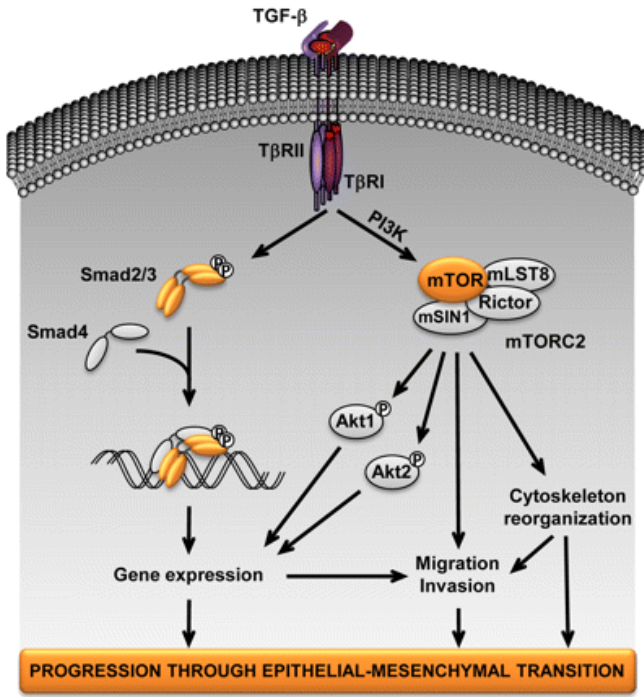


Figür-8: PTEN ve PI3K/Akt/mTOR yoluğları arasındaki ilişki (102)

TGF-β

TGF-β reseptörünün uyarılması hem de SMAD üzerinden hücre içi yolakları aktive eder (105,106) (Figür 9). PI3K molekülünün, TGF-β reseptörü ile fosforile olması Akt, mTOR ve S6K1'i aktive eder (105,106). Bu durum S6 kinaz aktivasyonu ve translyasyon artışı ile devam eder (105). Sonuçta protein sentezi artışı ve hücre migrasyonunda artış meydana gelir.

TGF-β'nın PTEN molekülünü hem artırır, hem de baskılama yönünde etkilediği daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir. Bu etkisi Ras/*Extracellular-signal-regulated kinase* (ERK) yoluğının durumuna göre değışiklik göstermektedir. Ras/ERK yoluğı aktive olduğunda, SMAD4 bağımsız sinyal yoluğı üzerinden TGF-β'nın PTEN üzerine baskılayıcı etkisi görülmektedir. Ancak Ras/ERK yoluğı inaktive edildiğinde TGF-β klasik SMAD bağımlı yolaktan PTEN molekülünün ekspresyonunu arttırmaktadır (102) (Figür 9).



Figür-9: TGF- β reseptörünün uyarılması ile mTOR arasındaki etkileşim (107)

Diğer hücresel durumlar ve sinyaller

Yukarıda bahsedilenlerin dışında genotoksik stres faktörleri, inflamasyon, *Wingless-Type Integration Site* (WNT) ligandı ve p53 de mTORC1 aktivitesini düzenlemektedir. Örneğin DNA hasarı sonrası aktive olan p53, TSC2'yi aktifler ve böylece indirekt olarak, mTORC1 aktivitesini inhibe eder (108).

TNF α , aktive I κ B kinaz β (IKK β) gibi proinflamatuvar sitokinler fiziksel olarak TSC1 ile temas ederek onu inhibe ederler. Bu da mTORC1 aktivasyonuna yol açar (109). İnflamasyon ve mTORC1 arasındaki bu pozitif ilişkinin tümör anjiyogenezinde ve insülin direnci gelişiminde önemli olduğu düşünülmektedir (109).

2.4.4. mTOR inhibisyonu ve Etkileri

mTOR etkinliğini inhibe eden moleküller; (1) rapamisin ve rapamisin analogları, (2) mTOR ve PI3K üzerinde dual etki gösteren inhibitörler, (3) seçici mTORC1/2 inhibitörleri ve (4) diyet türevi doğal ürünler olmak üzere 4 ayrı başlık altında gruplandırılmıştır. Bu gruplar içinde yalnızca rapamisin ve rapamisin analogları, özgül olarak mTOR etkinliğini inhibe etmektedir. Diğer başlıklar altında bahsedilen moleküller, farklı mekanizmalarla mTOR etkinliğini inhibe etmektedir (110).

Rapamisin, hücre içi bir reseptör olan FKBP12 proteinine bağlanarak, inhibitör etkisinden sorumlu bir kompleks oluşturan rapamisin, mTOR'un, C-terminal ucundaki FRB bölgesine bağlanarak, hücre büyümesini inhibe etmekte ve sitotoksik etkilerini meydana getirmektedir (111-114). FRB bölgesi aracılığıyla, mTORC1 inhibisyonunun mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, FKBP12-rapamisin protein kompleksi bu bölgeye

bağlanarak, mTOR'un otoposforilasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu etkilerin, FRB bölgesi ile katalitik kinaz bölgesi arasındaki allosterik etkileşme sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir (115). Bununla birlikte, rapamisinin, FKBP12 proteini ile kompleks oluşturmadan da FRB bölgesine düşük afinite ile bağlandığı gösterilmiştir. (116). Ayrıca rapamisinin, mTOR'un otoposforilasyonunu inhibe edici etkisinin yanı sıra, mTOR-raptor kompleksini destabilize ederek de, mTORC1 etkinliğini inhibe ettiği ileri sürülmektedir (117).

Rapamisine ek olarak temsirolimus, everolimus ve deforolimus olmak üzere 3 adet rapamisin analogu (rapaloglar) günümüzde insanlarda kullanılmaktadır. Bu rapaloglar, rapamisin ile aynı etki mekanizmasına sahip olup, FKBP12 proteinine bağlanarak, mTOR'un FRB bölgesi ile etkileşmektedir. Temsirolimus (CCI779) bir ön ilaç olup, rapamisinin dihidroksimetil-propionik asit esteridir. Bu modifikasyon, bileşiği suda çözünebilir yapmakla birlikte, damar içi uygulamaya da olanak sağlamaktadır. Temsirolimus, vücutta rapamisine dönüşerek, benzer farmakolojik etkiler oluşturmaktadır. Everolimus (RAD001), C-40 konumunda O-(2-hidroksietil) zincirine sahiptir. Deforolimus (AP23573) ise lakton halkasının C-40 konumunda fosfin oksit sübsitüsyonuna sahiptir (117).

Rapamisin ve analogları, mTOR inhibisyonuna neden olan diğer ilaç gruplarından farklı olarak mTORC1 için oldukça spesifiklerdir. Hücre biyolojisinde mTORC1'in işlevinin araştırıldığı çalışmalarda kullanılan rapamisin, mTORC1'in potent ve spesifik bir inhibitörü olarak bilinmektedir (118). Rapamisinin mTORC1'e seçicilik oranı mTORC2'e göre oldukça yüksek olup, yaklaşık 500 katı kadardır (119).

Rapamisin, ilk olarak antifungal bir madde olarak keşfedilmiştir. Rapamisinin immün sistemi baskılayıcı bir ilaç olarak geliştirilmesi ve bu amaç ile kullanılmaya başlanması, mTOR sinyal iletiminin immün sistemde önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Enfeksiyonun ardından hızla başlayan ve mast hücreleri, fagositler ile doğal öldürücü hücreler (natural killer cells; NK)'in rol aldığı doğal immün yanıtta mTOR, nötrofillerin ve mast hücrelerinin yaşamı, migrasyonu ve sitokin üretimi için gereklidir (120-122).

Özgül bir mTORC1 inhibitörü olan rapamisinin, nötrofil hücrelerinde proinflamatuvar sitokin üretimini ve iyege akciğer zedelenmesinin şiddetini azalttığı gösterilmiştir. mTORC1'in, inflamatuvar yanıtların düzenlenmesindeki rolü ile ilgili mekanizmalar, gen transkripsiyonu üzerinden açıklanmaktadır. TNF- α ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin transkripsiyonel düzenlenmesinde bir transkripsiyon faktörü olan NF- κ B önemli rol oynamaktadır. Bununla birlikte, rapamisinin lipopolisakkarid ile artan NF- κ B'nin nükleer translokasyonunu ve transkripsiyonel etkinliğini azalttığı gösterilmiştir (123). Rapamisin, bu etkisini, lipopolisakkarid ile uyarılmanın ardından, artan I κ B- α fosforilasyonu ve degradasyonunu azaltarak ve NF- κ B'nin p65 alt biriminin Ser276 bölgesinden fosforilasyonuna bağlı etkinliğindeki artışı inhibe ederek göstermektedir (124, 125).

2.4.5. mTOR yolağının böbrek hasarı ve glomerulonefrit ile ilişkisi

mTOR yolağı, genellikle normal şartlar altında hücre proliferasyonunda yer almaktadır. mTOR sinyal yolunun inhibisyonu, kanser, kalp-damar hastalıkları, otoimmün ve metabolik bozuklukların tedavisinde genel olarak yararlı olabilir ve yaşam süresini uzatan bir rol oynayabilir. Bunun aksine, böbreklerde, yüksek mTOR aktivitesi, kısmen alt kompleksleri

mTORC1 ve mTORC2 tarafından düzenlenir ve artmış reaktif oksijen türleri, renal onarımı ve in vitro ve in vivo çalışmalarda bulunan yaşlanma proseslerini göstermektedir. (126)

Up-regüle mTOR yolağı ve renal hastalık progresyonu, mTOR'un polikistik böbrek hastalığındaki bağlayıcı rolüne iyi bir örnektir. Up-regüle mTOR aktivitesi, bazı kemirgen modellerinde, diyabetik nefropati, membranöz glomerulopati, minimal değişiklik hastalığı ve kresentik glomerulopati gibi böbrek hastalıklarıyla ilişkili olduğu bulunmuştur. Wei ve ark. yaptıkları çalışmada, upregüle mTOR ve onun rapamisin duyarlı dalının (mTORC1) doğal ve transplant böbreklerde ilerleyici böbrek hastalığının önemli göstergesi olduğunu göstermişler. (126)

Fokal segmental glomeruloskleroz (FSGS) ve immun kompleks aracılı glomerülonefritin (ICMGN) yer aldığı her iki grupta ise, proksimal tübül, glomerüler visseral ve paryetal epitelde kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında mTORC1'in önemli ölçüde yüksek ekspresyonu saptanmıştır ve bu da nativ böbrek hastalıklarında aktif bir mTOR yolağı olduğunu göstermektedir. Aktive mTOR yolunun hastalıklı böbreklerde küresel bir fenomen olduğu teorisini destekleyen üç belirteç arasında anlamlı korelasyon mevcuttur. mTOR aktivitesi çeşitli hastalıklarda upregüledir. Bildiğimiz kadarıyla, çeşitli insan renal hastalıklarında doğal ve transplant biyopsilerde, glomeruler ve tübüler epitelde up-regüle p-mTOR ve mTORC1 ilişkili sinyaller, pp70S6K ve p-4EBP i gösteren Wei ve ark.'ın yaptığı çalışma mevcuttur. Bu çalışmanın verileri, insan böbrek hastalıklarında up-regüle mTOR yolağı ile, diyabetik nefropati, membranöz nefropati, minimal değişiklik hastalığı ve kresentik glomerulonefritte, upregüle mTOR yolağını gösteren in-vivo dotalarla uyumludur. Son zamanlarda, podositlerin bowman kapsül duvarları boyunca glomerüler paryetal epiteliumunda bulunan projenitör hücrelerinden türemiş olduğu tespit edilmiştir (126).

FSGS nin kollaps varyantlarında kresent formasyonu ve podosit proliferasyonu, primer olarak aynı progenitör hücrelerden (glomeruler pariyetal epitel) geliyor olabilir. Bu nedenle, podositler glomerüllerde etkin olmayan bir aşamada düşünülmemelidir. Nitekim Wei ve ark. çalışmasında kresentik glomerulonefritli 23 renal biyopside, hücresele kresentik hücrelerde (pariyetal epitelde kaynaklandığı bilinen) upregüle p-mtor ve onun alt sinyali p-p70S6K olduğu bulunmuştur. Transplant ve normal böbreklerin her ikisinde, böbrek hastalığı mevcut olduğunda, podositlerde up-regüle mTOR yolağı aktivitesi, glomerüler pariyetal epitel ve proksimal tübüler epitele kadar yaygın olabilir. Ayrıca görülüyor ki; aktive renal hastalıkların varyantlarında, podositler dinamik şekilde aktive edilebilir. Yine bu çalışmada, upregüle mTOR aktivitesinin, doğal böbrek biyopsilerinde yükselmiş serum kreatinini ve transplant böbrek biyopsilerinde akut hücresele rejeksiyon ve interstisyel fibrozis ile bağlantılı olduğu da bulunmuştur. Hem doğal, hem transplant biyopsilerin bütün glomerüler ve tübüler epitelinde upregüle mTOR aktivitesi gösterir ki; aktive mTOR sinyali, renal hastalık varyantlarında genel bir fenomendir. mTOR yolağı durumunun belirlenmesi, böbreklerde aktif hastalık evresinin değerlendirilmesi için güvenilir bir göstergedir (126).

Böbreklerde yüksek reaktif oksijen türleri yoluyla kısmen düzenlenmiş mTOR aktivitesinin yüksek düzeyi, böbrek onarım ve yaşlanma süreçlerini temsil eder. Güncel çalışmalarda renin -anjyotensin sistem blokajı ile, mTOR'u, reaktif oksijen türlerini ve renal hasar/fibrozisi azalttığı gösterilmektedir (126).

2.4.6. mTOR inhibitörleri ve klinik kullanımı

İlk olarak antifungal bir madde olarak keşfedilmiş rapamisin, klinikte esas kullanıldığı alan, immünsupressif ve antiproliferatif özelliklerinin gösterilmesiyle birlikte hızla farklı bir yöne ilerlemiştir. Rapamisin ile ilgili kemoterapiden, transplante edilen organın rejeksiyonuna; kardiak cerrahide uygulanan stentlerin açık tutulmasından, kornea yanıkları tedavisine kadar pek çok alanda farklı araştırmalar ve olumlu sonuçlar elde edilmiştir (119). Rapamisin, 1999 yılında, Amerika’da, Food and Drug Administration (FDA) tarafından immünsupressif bir ilaç olarak onaylanmıştır (127).

Rapamisin ve türevleri, hücreleri G1 fazında durduran sitostatik ajanlar gibi davranmaktadırlar. S6K1, pro-apoptotik molekül olan BAD (Bcl-2-associated death promoter, Bcl-2 gen ailesinden olup apoptozisi başlatır) inaktivasyonu, rapamisin tedavisi ile geriye dönmektedir.(128)

mTOR inhibisyonu beraberinde, başka bir hedefli tedavi ajanının kullanılmasının da özellikle ortak yolak aktivasyonu gösteren kanserlerde, daha da anlamlı olabileceği ileri sürülmektedir. Preklinik ve erken insan çalışmalarında, Tuberous Sclerosis Complex (TSC) ilişkili tümörlerde de mTOR inhibitörlerinin etkili olduğu gösterilmiş olup, özellikle kanser tedavisinde PI3K ve mTOR inhibisyonunun beraberce uygulanmasının, çok daha avantajlı olabileceği bildirilmiştir.(129) Radyoterapi ile beraber rapamisin kullanılması, apoptozisi ve otofajiyi de arttırmaktadır (130).

Sirolimusun FKBP-12’ye afinitesi, everolimus’a göre daha fazladır. T hücre uyarımında sinyal- 3 adı verilen yolu bloke ederler. Reseptör bağlanması sonrası, hücre proliferasyonunda anahtar bir role sahip target of rapamycin (m-TOR) adlı bir serin treonin kinazı inhibe ederler. Bu inhibisyon da sitokin aracılı sinyal iletimini ve hücre bölünmesini, lenfositlerin sitokin ve büyüme faktörlerine olan yanıtlarını da bloke ederler. Yeni ribozomal protein sentezi inhibe edilerek, hücreler bölünme siklusunun G1-S fazında dururlar. IL-2 ve IL-4 aracılı, T ve B lenfosit proliferasyonu da engellenir. Bu inhibisyondan hem immun, hem de nonimmun hücreler etkilenir. Fibroblast, endotel hücreleri, hepatositler ve düz kas gibi hücrelerin growth faktörlere (FGF, PDGF, VEGF, TGF-β) olan yanıtlarını inhibe ederler (131).

Sirolimus ve everolimus hem sitokrom P450 3A4 (CYP3A4), hem de P-glikoprotein’in (P-gp) substratıdır. Sirolimus ve everolimus, başlıca karaciğerde ve barsak duvarında CYP3A4 tarafından metabolize olur ve ince barsak enterositinden barsak lümenine P-gp pompasıyla atılır. CYP3A4 ve P-gp inhibitörleri, sirolimus konsantrasyonunu artırır. Barsak duvarında sirolimusun metabolizmasının boyutu bilinmemektedir. Everolimus ve sirolimusun renal fonksiyonu koruma ve iyileştirme yanında vasküler endotelial dokuya olumlu etkisi de gösterilmiştir. Nitekim kalp transplantasyonunda, aterosklerozu ve vaskülopatiyi önlemede yardımcı olduğu gösterilmiştir (132). Diğer yandan; sirolimus da koroner stentlerde restenozu engellemeleri nedeniyle kullanılmaktadır. Bu etkisini vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu ve mediadan intimaya göçünü engelleyerek göstermektedirler (132).

Alzheimer ve Huntington hastalıkları hayvan modellerinde rapamisin uygulanması, oluşan bu toksik proteinlerin otofaji ile yok edilmesini indüklemekte ve klinik tabloyu

iyileştirmektedir (133, 134). Polikistik Over Sendromunda mTOR inhibitörlerinin kullanımı ile ilgili çalışmalar devam etmektedir.

Ayrıca mTOR inhibitörleri, renal hücreli kanser ve renal transplantasyonda immunsupresif olarak kullanılmaktadır. Polikistik böbrek hastalıklarında kullanılabilmesi açısından yapılan çalışmalar devam etmektedir (118,120).

RADIANT-3 çalışmasında pankreatik nöroendokrin tümörlerde everolimus'un etkinliği gösterilmiştir (135). BOLERO-2 çalışmasında ise hormonoterapiye direnç kazanmış postmenepozal hormon reseptör pozitif ileri evre meme kanserinde hormonoterapiye everolimus'un eklenmesi araştırılmıştır (136). ASCO 2012'de yayınlanmış PILLAR-2 çalışma sonuçlarında yaygın büyük B hücreli lenfoma tanılı kötü risk faktörlerine sahip olan hastalarda birinci basamak rituximab ve kemoterapi sonrası adjuvan olarak everolimus kullanımını araştırılmaktadır (137).

Zhang ve ark. 'nın yaptığı bir çalışmada kresentik glomerulonefritte fosforile mTOR ve onun belli başlı alt sinyali olan p-p70S6K incelenmiş, kresentik glomerulonefritte mTOR yolağı upregüle bulunmuş ve kontrol grubuna göre; renal tübüllerde, glomerulun parietal ve visseral epitelinde, mTOR ve p-p70S6K sinyal upregülasyonu gösterilmiştir (138). Çeşitli böbrek hastalıklarının renal biyopsilerinde glomerüler visseral/parietal epitel ve renal tübüler epitelde, glomerulonefritlerin birçok tipinde artmış proliferatif aktiviteyi belirten önemli oranda artmış mTOR aktivitesi gözlenmiştir (126).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta ve veri seçimi

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğt. Arş. Hastanesi Nefroloji Kliniğinde 2009-2016 tarihleri arasında yatırılarak böbrek biyopsileri yapılmış ve böbrek biyopsisinden Pauci-immun glomerulonefrit tanısı almış hastaların verileri, retrospektif olarak hastane bilgi sisteminden tarandı. Hastaların aşağıda belirtilen demografik özellikleri kaydedildi.

- Ad, soyad
- Protokol numarası
- Yaş
- Cinsiyet
- Hastalık tanısı ve tanı tarihi
- Glomerulonefrit alt tipi
- Patoloji numarası, ışık ve immünfloresan mikroskopi sonuçları
- Serum antikor pozitiflikleri ve dilüsyonları
- Uygulanan immunsupresif tedavileri; siklofosamid, kortikosteroid, azatiopurin, rituximab, eculizumab
- Uygulanan diğer tedaviler; hemodiyaliz, plazmaferez
- Klinik tedavi ve takip sonucunda, tedavi öncesi ve sonrası böbrek fonksiyon testleri.

Böbrek biyopsileri, hastanemizde daha önceden gerekli görülen hastalardan alınmış ve hastanemiz Patoloji Anabilim Dalı tarafından incelenmiş olan preparatlardı. Bu çalışma için herhangi bir hastadan tekrar böbrek biyopsisi alınmadı. Çalışmamız retrospektif olduğundan taze dokuda frozen kesitte çalışılan immünfloresan boyama yöntemi kullanılmadı. Hastalara herhangi bir anket, ek vizit, klinik veya laboratuvar tetkik yapılmadı. Tüm veriler, tamamen sağlık kayıtlarının retrospektif olarak taranması ile elde edildi. Vakaların formalin fikse – parafin gömülü blokları ve Hematoksilen Eozin boyalı preparatları, Patoloji Kliniği arşivinden çıkarılarak tekrar değerlendirildi. İmmünohistokimyasal boyama için her vakadan bir blok seçildi. Patoloji Kliniği arşivinde mevcut olan, parafin bloklanmış biyopsi materyalleri Patoloji Anabilim Dalı tarafından PTEN (Spring Bioscience Rabbit Anti-Human PTEN Monoclonal Antibody, Clone SP218), TGF-β1 (Spring Bioscience Rabbit Anti-Human Transforming Growth Factor 1 β Polyclonal Antibody) ve p-mTOR (*Spring Bioscience Rabbit Anti-Human mTOR Polyclonal Antibody*) antikorları immünohistokimyasal methodla boyanarak yeniden incelendi.

Hasta grupları:

- 1) Böbrek biyopsilerind Pauci-immun glomerulonefrit olduğu gösterilmiş hastalar.

Çalışmaya dahil olma kriterleri:

- o Böbrek biyopsisi ile pauci-immun glomerulonefrit tanısı almış,
- o 18 yaş üstü,
- o mTOR inhibitörü tedavisi ve immunsupresif tedavi almamış olan,
- o Hastanemizde son 7 yıl içinde yapılmış böbrek biyopsisi olan,
- o Bilgisayar sistemimizde sağlık kayıtlarına ulaşılabilen hastalar çalışmaya dahil edildi.

Çalışma dışı bırakılma kriterleri:

- o Hastanemizde son 7 yıl içinde yapılmış böbrek biyopsisi olmayan,
- o 18 yaş altı,
- o Son dönem böbrek yetmezliği gelişmiş,
- o Hematüri ve proteinürisi bulunmayan,
- o mTOR inhibitörü tedavisi almış olan,
- o Sağlık kayıtları eksik olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

Hastaların Laboratuvar Tetkikleri ve Kayıt Edilen Özellikleri

Dosyalardan ve otomasyon sisteminden hastaların yaş, cinsiyet, böbrek biyopsi öncesi laboratuvar incelemeleri ve endikasyonları, biyopsi sonrası doktor ve hemşire takibi ve patolojik tanılarına ulaşıldı. Biyopsi öncesi tüm hastaların tam kan sayımı, protrombin zamanı (PT), parsiyel tromboplastin zamanı (PTT), INR (International Normalized Ratio), üre, kreatinin (Kr), 24 saatlik idrarda protein, 24 saatlik idrarda mikroalbüminüri ve serum total protein, albümin değerleri incelendi. Hastalara biyopsi öncesi HbsAg, Anti-Hbs, Anti-HCV ve Anti-HIV serolojik incelemeleri yapılmıştı. Gereken hastalarda da ANA profili, C3, C4, IgG, IgM, IgA, cANCA ve pANCA bakıldı. Böbrek biopsi raporları (biopsi tarihi, tanı, glomeruler, tubulointerstisyel ve damarsal değişiklikleri, immünfloresans bulguları), hastalara uygulanan tedaviler (immünsüpresifler, diğer ilaçlar, hemodializ, plazmaferez), tedavinin 1-2-6-12. aydaki üre-kreatinin değerleri, hastaların tedavi sonrası son durumları ve eksitus olmuş hastalarda ölüm nedenleri kaydedildi.

3.2.Böbrek İğne Biyopsisi Yöntemi

Çalışmamız için hiçbir hastaya yeni böbrek iğne biyopsisi yapılmamıştır. 2013 yılına kadar yapılmış böbrek biyopsileri Nefroloji kliniğinde, 2013 yılından sonraki biyopsiler ise Girişimsel Radyolojide yapılmış biyopsilerdi. Tüm hastaların böbrek biyopsi öncesi onamları alındıktan sonra, periferik intravenöz damar yolları açılmış halde, biyopsi odasına alınır ve hastanın karın kısmı sedye üzerine konmuş bir yastıkla desteklenecek şekilde yüzüstü pozisyon verilip, ultrasonografi ile biyopsi yeri belirlenip, lokal anestezi işlem yapıldıktan sonra ultrasonografi eşliğinde, 16G yarı otomatik iğne ile böbrek biyopsileri alınmıştı. Böbrek dokusu alındıktan sonra, iğne çıkarılarak biyopsi yerine bandaj uygulanır. Alınan doku örnekleri fosfat tampon içine konularak, ivedilikle patoloji bölümüne ulaştırılır.

3.3. Histolojik değerlendirme:

Tüm olguların biyopsi örnekleri İzmir Katip Çelebi Üniv. Atatürk Eğitim Araştırma Hastanesi'nde görevli deneyimli aynı nefropatolog tarafından değerlendirildi. Böbrek biyopsi örnekleri, standart tekniklere göre işlem gördü. İmmü Floresan inceleme için küçük bir renal kortikal doku (2–4 mm uzunluğunda) örneği ayrıldı. Bu ayrılan doku örneklerinden kriyostat ile frozen kesitler alınarak, immü Floresan yöntem ile IgG, IgA, IgM, C3, C1q, fibrinojen, kappa ve lambda boya ları uygulanarak, immü Floresan mikroskopunda (Olympus, BX50, Japan) özel filtreler ile değerlendirildi. Geriye kalan biyopsi örneği, ışık mikroskopunda incelenmek üzere %10'luk formaldehit ile fikse edildi. Rutin doku takibi sonrası, parafin bloklara gömülen doku örneklerinden 4µm kalınlığında alınan kesitler, Hematoksilen Eozin, Periyodik Asid Schiff, Masson Trikrom, Kongo Kırmızısı ve Methenamine Silver boya ları ile boyanarak ışık mikroskopunda (Olympus BX51, Japan) değerlendirildi. Biyopsi örnekleri, ışık mikroskopu ve immü Floresan yöntemiyle incelendi. Işık mikroskopu ile glomerüller, tübüller, interstisyum ve damarlar değerlendirildi. Işık mikroskopik incelemede, ilk olarak materyal hipersellülarite yönünden değerlendirildi. Buna göre vasküler kutuptan uzakta tek bir mezangiyal bölgede, iki hücreden daha fazla sayıda hücre içeren glomerullerde hipersellülarite olduğuna karar verildi. Işık mikroskopik değerlendirmede, immersiyon objektifi kullanıldı. Lezyonların böbrek biyopsisindeki yaygınlık ve dağılımı yapılırken, European Vasculitis Study Group (EUVAS) tarafından (139) tanımlanan yeni ANCA ilişkili glomerulonefrit sınıflamasına uyuldu.

Fokal (odaksal) : Glomerullerin %50 'den azının tutulması, kalan glomerullerin normal olması.

Kresentik : Sellüler kresent oranı %50'den fazla olanlar.

Mikst: Normal glomerül sayısı, kresentik glomerül sayısı ve global sklerotik glomerül sayısı %50'in altında kalanlar.

Sklerotik : Global sklerotik glomerül oranı %50'nin üstünde olanlar.

Aktif ve kronik lezyonlar, 2004 İnternational Society of Nephrology/Renal Pathology Society (ISN/RPS) sınıflamasına göre değerlendirildi (140).

2004 ISN/RPS Aktif ve Kronik Lezyonlar Sınıflaması

Aktif lezyonlar:

- Endokapiller proliferasyon
- Karyoreksis
- Fibrinoid nekroz
- Glomeruler bazal membran rüptürü
- Fibrosellüler veya sellüler kresent
- Işık mikroskopunda subendotelyal depozitler (wire loop)
- İntraluminal immun agregatlar (Hyalen trombüs)

Kronik lezyonlar:

- Glomeruler skleroz
- Fibröz adhezyon
- Fibröz kresent

Glomerüllerde kresent, hyalinizasyon, skleroz, periglomerüler fibrozis oluşumu, tübüler atrofi, interstisyel fibrozis ve inflamasyon, damar duvar kalınlığı incelendi. Histokimyasal PAS boyası ile glomerüller ve bazal membranlar değerlendirilirken, Masson Trikrom boyası ile interstisyel ve glomerüler fibrozis, Methenamin Silver boyası ile glomerüler bazal membranlar, Kongo Red boyasında polarize filtre ile amiloid birikimine bakıldı. İmmüno Floresan yöntemi ile biyopsi örneklerinde IgG, IgA, IgM, C3, C1q, fibrinojen, kappa ve lambda ile birikim varlığı, birikimin şiddeti ve görünümü değerlendirildi. Hastaların patoloji sonuçlarına otomasyon sisteminden ulaşıldı.

3.4.İmmunohistokimyasal Boyama:

- Böbrek iğne biyopsilerinde PTEN (Spring Bioscience Rabbit Anti-Human PTEN Rabbit Monoclonal, Clone SP170), mTOR (Spring Bioscience Rabbit Anti-Human mTOR Polyclonal Antibody) ve TGF- β 1 (Spring Bioscience Rabbit Anti-Human Transforming Growth Factor 1 β Polyclonal Antibody) antikorları immunhistokimyasal (İHK) boyama yöntemi ile araştırıldı. Boyama protokolü şu aşamaları içerdi.
- Rutin doku takibi ile elde edilen parafin bloklardan hazırlanan 3-5 Mikron kalınlıkta kesitler Poli-L-lizin kaplı lam üzerine alındı.
- Lam üzerine alınan kesitler 1 saat 60°C'de etüvde deparafinize edildi.
- Ardından antijen açığa çıkarma (antijen retrieval) ve rehidrasyon işlemleri için mTOR ve TGF- β ile boyanacak preparatlar Dako EnVision FLEX Target retrieval Solution (50x) Low pH ile; PTEN ile boyanacak preparatlar ise EnVision FLEX Target retrieval Solution (50x) high pH solusyonu ile Dako PT Link cihazı kullanılarak 97°C'ye kadar ısıtılıp 20 dakika inkübe edilip ardından 65°C'ye geri soğutuldu.
- Daha sonra preparatlar İHK otomatik boyama cihazına (Dako Autostainer Link 48) yerleştirildi.
- Primer PTEN antikoruna 1:100 oranında dilüe edilerek 35 dakika primer antikor inkübasyonu ile Dako Envision Flex + Rabbit Sekonder Antikor Kiti kullanılarak görüntüleme elde edildi. Pozitif kontrol için prostat adenokarsinom dokusu kullanıldı.
- Primer TGF- β kullanıma hazır antikoruna 15 dakika inkübe edildi ve Dako Envision Flex Sekonder Antikor Kiti kullanılarak görüntüleme elde edildi. Pozitif kontrol amaçlı plasenta dokusu kullanıldı.
- Primer mTOR antikoruna 1:50 oranında dilüe edilerek, 15 dakika inkübe edildi ve Dako Envision Flex Sekonder Antikor Kiti kullanılarak görüntüleme elde edildi. Pozitif kontrol amaçlı meme kanseri dokusu kullanıldı.
- Zıt boyama için tüm kesitlere Dako Envision Flex Hematoxylin 5 dakika inkübasyon ile uygulandı.
- Boyanan kesitlere dehidrasyon işlemi için ikişer dakika 3 farklı alkol değişimi ve beşer dakika 2 farklı ksilen değişimi uygulanarak bunun ardından entellan damlatılarak lamel ile kapatıldı.

- Usulüne uygun şekilde immünohistokimyasal boyanan lamlar, hastanemizde görevli deneyimli aynı nefropatolog tarafından ışık mikroskopunda değerlendirildi.

3.5. İmmunohistokimyasal Boyaların Değerlendirilmesi:

Tüm Hematoksilen-Eozin (HE) ve immünohistokimyasal boyalı kesitler kör olarak incelendi. mTOR ile boyanan böbrek iğne biyopsi materyallerini değerlendirmeden önce ilk olarak pozitif kontrol olarak kullanılan dokuda kahverengi sitoplazmik ve membranöz immunekspresyon pozitif boyanma olarak kabul edildi. Tüm olgularda antikor glomerül ve tübülointerstisyel alanda ayrı ayrı değerlendirildi. Boyanma yoğunlukları ve yüzdeleri farklı olduğu için semikantitatif olarak ayrı ayrı skorlama yapıldı. Boyanma yoğunlukları 0 (negatif), 1 (zayıf pozitif), 2 (orta yoğunlukta pozitif), 3 (kuvvetli pozitif); pozitif boyanma yüzdesi ise 0 (<5%), 1 (%5-25), 2 (%26-50), 3 (%51-75), 4 (>75) olarak derecelendirildi (141).

PTEN için kullanılan pozitif kontrol dokuda sitoplazmik ve/veya nükleer immunekspresyon pozitif olduğu görüldü. Ardından böbrek dokuları semikantitatif olarak boyanma durumlarına göre ışık mikroskopunda derecelendirildi. Hücreler zayıf boyanma gösterdiyse 1 pozitif, orta derecede boyanma gösterdiyse 2 pozitif, güçlü boyanma gösterdilerse 3 pozitif olarak değerlendirilirken boyanma göstermedilerse skor 0 olarak not edildi (142).

TGF- β 1 için kontrol dokuda immunreaksiyon görüldükten sonra böbrek iğne biyopsisi preparatları boyanmış olup boyanma negatif ise skor 0, 1-25% (1+), 26-50% (2+), 51-75% (3+) ve 76%-100% (4+) olarak değerlendirildi (143).

3.6. İstatiksel Analiz

Sürekli değişkenler ortalama ve standart sapma olarak ifade edildi. Bağımsız değişkenler arasındaki ilişkinin tespiti, Spearman korelasyon analizi ile yapıldı. Tedavi öncesi ve tedavi sonrası kreatinin değerlerinin değerlendirmesi için, Eşleştirilmiş örneklem t testi (Paired samples t test) kullanıldı. $P < 0.05$, anlamlı olarak kabul edildi. İstatistik analizi için, Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi Versiyon 21 (Statistical Package for the Social Sciences version 21th [SPSS V.21]) paket programı kullanıldı.

4. SONUÇLAR

Çalışmamız, İzmir Katip Çelebi Üniv. Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD Nefroloji Kliniği'nde 2009-2016 yılları arasında yapılmış böbrek biyopsisi ile pauci-immün kresentik glomerülonefrit tanısı konmuş toplam 58 hastanın (29 erkek ve 29 kadın) probel sistemi üzerinde kayıtlı hasta dosyaları incelenerek, elde edilmiş verileri üzerinden yapıldı.

Hastalarımızın yaş ortalaması $54,4 \pm 14,3$ (20-79) olarak bulundu. Ortalama takip süresi $37,7 \pm 26,7$ ay idi. Çalışmaya dahil edilen hastaların demografik ve klinik özellikleri Tablo 2'de verildi.

Tablo-2: Hastaların klinik ve demografik özellikleri

Parametre	
n	58
Ortalama yaş (yıl)	$54,4 \pm 14,3$
Cinsiyet (Kadın/Erkek)	29/29
Ortalama izlem süresi (ay)	$37,7 \pm 26,7$
Ortalama glomerul sayısı	$11,6 \pm 6,1$
Tedavi öncesi kreatinin (mg/dL)	$4,16 \pm 3,69$
Tedavi sonrası kreatinin (mg/dL)	$2,84 \pm 2,05$
ANCA varlığı (negatif/pozitif)	22/33
Tedavi öncesi Spot idrar protein/kreatinin oranı (mg/g)	4729 ± 5350
Tedavi sonrası spot idrar protein/kreatinin oranı (mg/g)	1687 ± 2248
İmmünespresif Tedavi (n)	58
-Kortikosteroid	46
-Siklofosamid	39
-Azatiyoprin	10
-Plazmaferez	18
-Hemodiyaliz	20
-Rituximab	7
-Eculizumab	2
İmmünespresif tedaviye yanıt (yok/var)	9/36
Sağkalım (eksitus/yaşıyor)	9/49

Üç hastanın sistem kayıtlarından ANCA bilgisine ulaşılamadı. Toplam 55 hastanın ANCA yönünden dağılımı; 22 hastada ANCA negatif (%40), diğer 33 hastada ise ANCA pozitif bulundu. ANCA pozitif olanlar içerisindeki 13 hastada (%39) p-ANCA 1/10 dilüsyon ve üzeri pozitiflik varken, diğer 20 hastamızda (%61) c-ANCA 1/10 dilüsyon ve üzeri pozitiflik vardı. ANCA pozitif olan hastaların kreatinin ortalaması $4,3 \pm 4,2$ (1,0-23) mg/dL, ANCA negatif olan hastaların kreatinin ortalaması ise, $3,4 \pm 2,06$ (1,4-9) mg/dL saptanmış olup, iki grup arasında anlamlı olmayan, negatif ilişkinin olduğu saptandı ($p=0,119$, $r= -0,342$). ANCA varlığı ile tedavi öncesi serum kreatinin değerleri arasında, anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,153$).

Hastaların tanı konduğunda tedavi öncesi serum kreatinin değerleri, ortalama $4,1\pm 3,6$ mg/dl ($1,4-23$ mg/dl) idi. Kadın hastaların serum kreatinin ortalaması $3,3\pm 2,2$ ($1-13$) mg/dL, erkek hastaların serum kreatinin ortalaması da $4,4\pm 4,45$ ($1,4-23$) mg/dL saptanmış olup, aralarında anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,913$). Takiplerinde 9 hastanın eksitus olmuş olması ve 5 hastanın da izlem dışı kalması nedeniyle, bu 14 hastanın immunsupresif tedavi sonrası serum kreatinin değerleri elde edilememiştir. Bu hastalar çıkarıldıktan sonra geri kalan 44 hastanın tedavi sonrası ortalama serum kreatinin değerleri, $2,84\pm 2,05$ mg/dL ($1,4-5$ mg/dL) olarak bulunmuş olup, tedavi öncesi değerlere göre aradaki fark anlamlıdır ($p=0,015$). Eksitus olan hastaların eksitus nedenleri; 1 hastada infektif endokardit nedeniyle kardiyoembolik serebral infarktüs, 1 hastada intrakranial kanama ve herniasyon, 1 hastada akut batın sonrası postoperatif solunum yetmezliği, 1 hastada masif hemoptizi sırasında aspirasyon, 4 hastada pnömosepsis ve septik şok, 1 hastada nütropenik ateş ve ürosepsisdi.

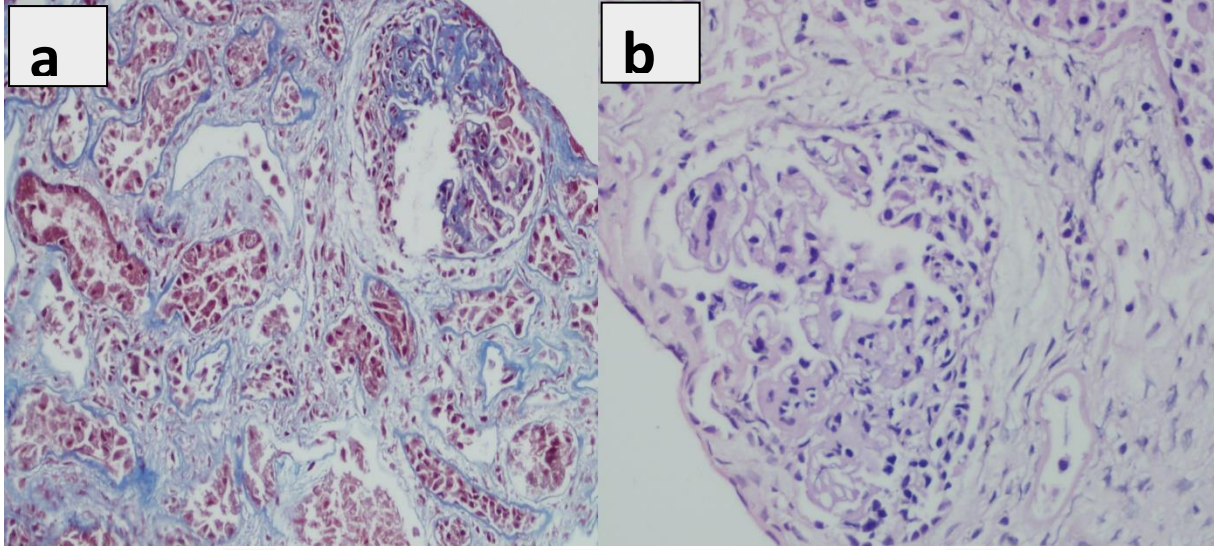
Toplam 58 böbrek biyopsi materyali, yeniden aynı nefropatolog tarafından incelendiğinde, ortalama glomerul sayısını $11,6\pm 6,1$ ($2-40$) olarak bulduk. Hastalarımız, European Vasculitis Study Group (EUVAS) tarafından (139) tanımlanan glomerüler lezyonların yeni patolojik sınıflandırmasına göre değerlendirildiğinde, 4 hasta fokal, 19 hasta kresentik, 12 hasta sklerotik ve 20 hasta mikst glomerülonefritti. Glomerüllerin ortalama kresent yüzdesini $\%36,7\pm 22,5$ ($10-80$), ortalama skleroz yüzdesini $\%26,1\pm 25,7$ ($10-100$) ve ortalama fibrozis derecesini $1,2\pm 0,46$ ($0-3$) olarak bulduk. Kadınların ortalama kresent yüzdesini $29,8\pm 19,5$ ($10-75$), erkeklerin ortalama kresent yüzdesini de $43,6\pm 23,5$ ($0-80$) bulduk ve her iki cinsiyet arasındaki ilişkinin anlamlı olduğunu saptadık ($p=0,023$). Kresent yüzdesi, skleroz yüzdesi ve fibrozis derecesi değerleri, Tablo-2 ve Tablo-3’de gösterildi.

Tablo-3: Hastaların biyopsi materyalindeki kresent ve skleroz yüzdesi ortalamaları

n	58
Kresent yüzdesi (%)	$36,7 \pm 22,5$
Skleroz yüzdesi (%)	$26,1 \pm 25,7$

Tablo-4: Hastaların biyopsi materyalindeki fibrozis derecesi verileri

Fibrozis Derecesi		
3	2	1
n, %	n, %	n, %
1, (1,7)	11, (19)	46, (79,3)



Figür-10: Böbrek biyopsisinde Masson Trikrom boyamada 20x büyütmede (a), Hematoksilen Eozin boyamada 40x büyütmede (b) kresentik glomerul

Böbrek iğne biyopsisini boyama hazırlıkları sırasında gelişen teknik sorunlar nedeni ile 8 hastanın mTOR ve PTEN, 6 hastanın da TGF- β 1 boyaması yapılamadı. Geriye kalan 50 hastanın böbrek biyopsisi, glomerüller ve TİA mTOR boyanma yüzdesi ve boyanma yoğunluğu, PTEN boyanma yoğunluğu ve yüzdesi olarak, 52 hastanın da TGF- β 1 boyaması, global olarak değerlendirildi.

Glomeruler mTOR boyanan hasta sayımız 51, TİA mTOR boyanan hasta sayımız 50 idi. Glomeruler mTOR boyanma yoğunluğu, 9 hastada (%18) negatif, 38 hastada zayıf pozitif (%74), 4 hastada (%8) orta pozitif boyanma yoğunluğunda bulundu. Glomerullerin mTOR boyanma yüzdesi olarak değerleri de, 15 hastada (%29) %5 ve altında, 25 hastada (%49) %5-25 aralığında, 7 hastada (%14) %26-50 aralığında, 3 hastada (%6) %51-75 aralığında ve sadece 1 hastada (%2) %75 ve üzeri glomerüller mTOR boyanma yüzdesinin olduğu bulundu.

TİA mTOR boyanma yoğunluğuna göre değerlendirildiğinde; 1 hastada (%2) negatif, 13 hastada (%26) zayıf pozitif, 20 hastada (%40) orta pozitif, 16 hastada (%32) kuvvetli pozitif boyanmanın olduğu görüldü. TİA mTOR boyanma yüzdesine göre değerlendirildiğinde 1 hastada (%2) TİA %5 ve altında, 9 hastada (%18) TİA %5-25 aralığında, 19 hastada (%38) TİA %26-50 aralığında, diğer 19 hastada (%38) TİA %51-75 aralığında ve sadece 2 hastada (%4) TİA %75 ve üzeri mTOR boyandığı görüldü.

PTEN boyanma yoğunluğuna göre; 1 hastada (%2) negatif, 28 hastada (%56) zayıf pozitif, 11 hastada (%22) orta pozitif, 10 hastada (%20) kuvvetli pozitif olduğu görüldü. PTEN boyanma yüzdesine göre de 1 hastada (%2) %0, 16 hastada (%32) <%15 fokal, 17 hastada (%34) %15-50 regional, 16 hastada (%32) >%50 diffüz olarak PTEN boyamasının olduğu bulundu.

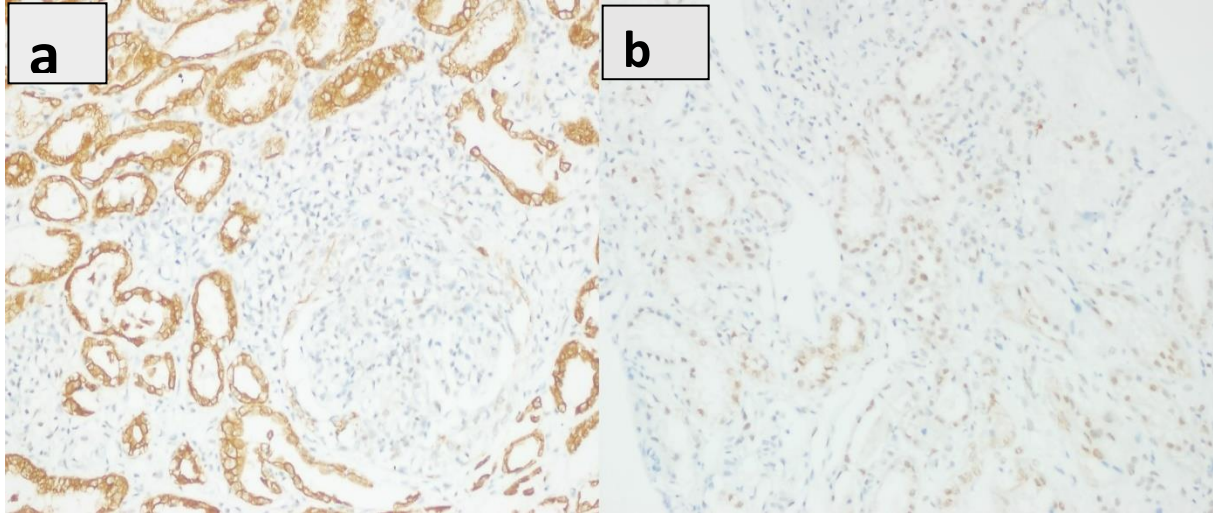
Çalışmaya alınan 52 hastada TİA TGF- β 1 boyanma sonuçları elde edildi. Bunlardan 9 hastada TGF- β 1 negatif bulunurken (%17), 30 hastada TGF- β 1 <%25 olarak boyandı (%58). 12 hastada %26-50 aralığında boyanırken (%23), sadece 1 hastada %51-75 aralığında TGF- β 1 boyandığını gördük (%2).

Çalışmamızın ana amacı olarak pauci-immün kresentik glomerülo nefrit hastalarının renal biyopsi materyallerinde araştırdığımız mTOR yolağının sekonder göstergeleri olan PTEN ve TGF-β1 ile yapılmış immunhistokimyasal boyanma verileri Tablo-4, Tablo-5 ve Tablo-6'da belirtildi.

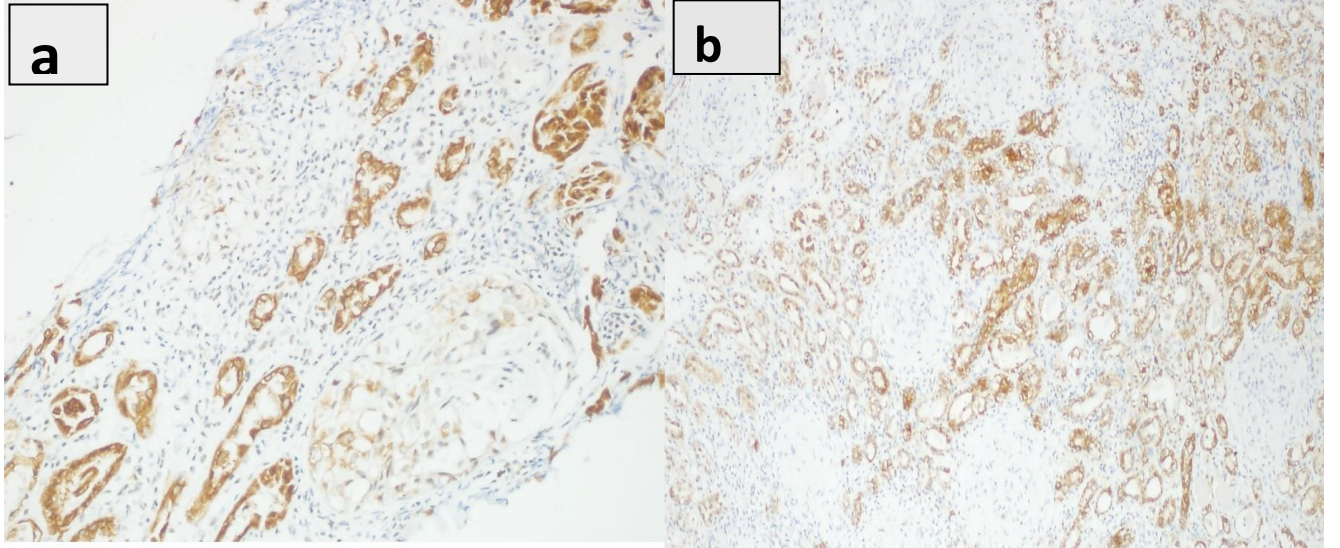
Tablo-5: Hastaların glomeruler ve tübülointerstisyel alan mTOR boyanma yoğunluğu skorları

	Negatif	Zayıf Pozitif	Orta Pozitif	Güçlü Pozitif
Glomeruler mTOR yoğunluğu, n , %	9, (17,6)	38, (74,5)	4, (7,8)	1, (2)
TİA mTOR yoğunluğu, n , %	1, (2)	13, (26)	20, (40)	16, (32)
PTEN yoğunluğu, n , %	1, (2)	28, (56)	11, (22)	10, (20)

*mTOR: mammalian target of rapamycin, PTEN: phosphatase tensin homolog, TİA: tübülointerstisyel alan



Figür-11: Böbrekte glomeruler alanda 10x büyütmede 1 pozitif (a) ve 20x büyütmede 1 pozitif (b) mTOR boyanması



Figür-12: Böbrekte tübülointerstisyel alanda 20x büyütmede 2 pozitif (a) ve 10x büyütmede (b) 3 pozitif mTOR boyanması

Tablo-6: Hastaların glomeruler ve tübülointerstisyel alan mTOR boyanma yüzdesi skorları

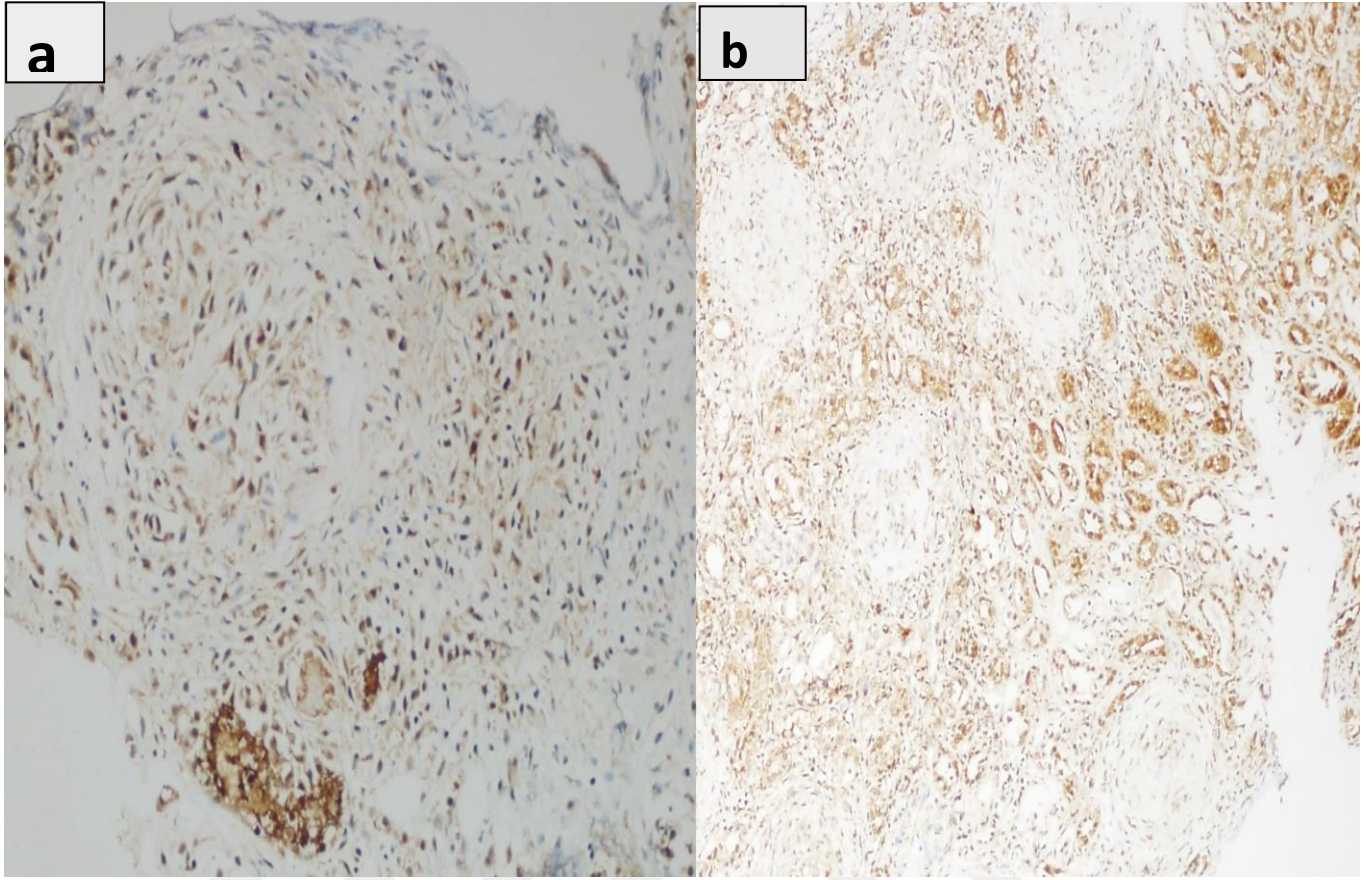
	< %5	%5 - %25	%26 - %50	%51 - %75	> %75
Glomeruler mTOR boyanma yüzdesi, n , %	15, (29,4)	25, (49)	7, (13,7)	3, (5,9)	1, (2)
TİA mTOR boyanma yüzdesi, n , %	1, (2)	9, (18)	19, (38)	19, (38)	2, (4)

*mTOR: mammalian target of rapamycin, TİA: tübülointerstisyel alan, Glomerulde 51 hasta, tübülointerstisyel alanda 50 hasta mTOR ile boyanmıştır.

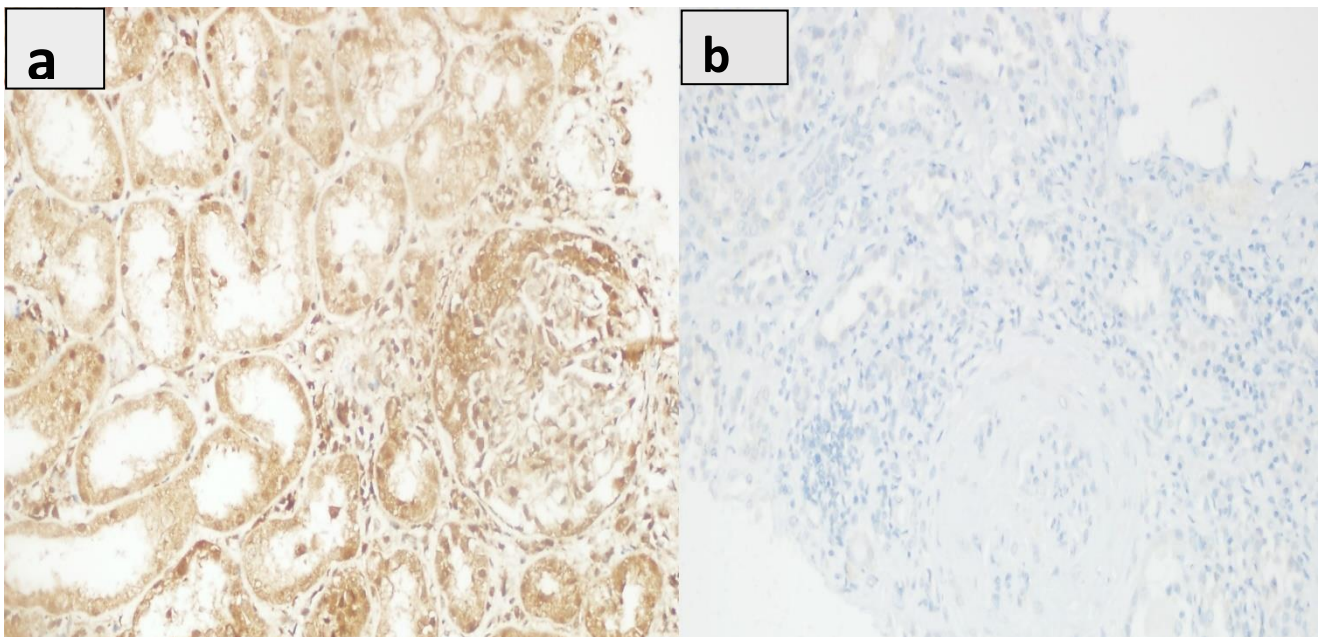
Tablo-7: Hastaların PTEN ve TGF-β1 boyanma yüzdesi skorları

PTEN boyanma yüzdesi, n , %		TGF-β1 boyanma yüzdesi, n , %	
Negatif	1, (2)	Negatif	9, (17,3)
< %5 fokal	16, (32)	< %25	30, (57,7)
%15 - %50 regional	17, (34)	%26 - %50	12, (23,1)
> %50 diffüz	16, (32)	%51 - %75	1, (1,9)

PTEN: phosphatase tensin homolog, TGF-β1: tumor growth factor beta 1



Figür-13: Böbrekte glomeruler alanda 20x büyütmede 2 pozitif (a) ve tübülointerstisyel alanda 10x büyütmede 3 pozitif (b) PTEN boyanması



Figür-14: Böbrekte glomeruler ve tübülointerstisyel alanda 20x büyütmede 3 pozitif (a) ve 10x büyütmede negatif (b) TGF- β 1 boyanması

Böbrek biyopsisinde immunohistokimyasal TGF- β 1 ve PTEN boyanma yüzdesi arasında anlamlı pozitif korelasyon ($p=0,032$) olduğu görüldü. TİA mTOR boyanma yüzdesi ile kresent yüzdesi arasında da anlamlı pozitif korelasyon ($p=0,021$) bulundu. TİA mTOR boyanma yüzdesi ile tedavi yanıtı arasında anlamlı pozitif korelasyon ($p=0,048$) görüldü. Glomeruler mTOR boyanma yoğunluğu ile tedaviden fayda sağlama, kresent yüzdesi, fibrozis, skleroz yüzdesi ve ANCA pozitifliği arasında anlamlı olmayan negatif korelasyon olduğunu gözledik (sırasıyla $p=0,806$ $r=-0,041$, $p=0,381$ $r=-0,125$, $p=0,215$ $r=-0,176$, $p=0,928$ $r=-0,013$, $p=0,468$ $r=-0,107$). Glomeruler mTOR boyanma yüzdesi ile tedaviden fayda görme, kresent oranı, ANCA pozitifliği arasındaki ilişkiler (sırasıyla $p=0,733$, $p=0,716$, ($p=0,536$) anlamlı değildi. TİA mTOR boyanma yoğunluğu ile tedaviden fayda görme ve kresent yüzdesi arasında da anlamlı ilişki saptanmadı (sırasıyla $p=0,312$, $p=0,708$).

TGF- β 1 ile kresent yüzdesi ve TGF- β 1 ile tedavi öncesi kreatinin değeri arasındaki ilişki de anlamlı değildi (sırasıyla $p=0,746$, $p=0,272$). TGF- β 1 ile ANCA pozitifliği ve tedaviden fayda sağlanması arasında anlamlı olmayan negatif korelasyonun olduğu gözlemlendi (sırasıyla $p=0,725$, $r=-0,052$ ve $p=0,560$, $r=-0,095$).

Glomeruler mTOR boyanma yoğunluğu ile tedaviden fayda görme, kresent yüzdesi, fibrozis, skleroz yüzdesi, ANCA pozitifliği arasında anlamlı olmayan negatif korelasyon mevcuttu. (Sırasıyla $p=0,806$, $r=-0,041$, $p=0,381$, $r=-0,125$, $p=0,215$, $r=-0,176$, $p=0,928$, $r=-0,013$, $p=0,468$, $r=-0,107$).

TİA mTOR boyanma yüzdesi ve ANCA pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı olmayan negatif korelasyon olduğu ($p=0,516$, $r=-0,097$) gözlemlendi.

ANCA pozitifliği ile tedavi yanıtı arasında istatistiksel olarak anlamlı olmayan negatif ilişki ($p=0,503$, $r=-0,103$) saptandı. PTEN yüzdesi ile kresent yüzdesi, tedavi öncesi kreatinin, tedaviye yanıt ve ANCA pozitifliği arasında da anlamlı ilişki bulunmadı (sırasıyla $p=0,179$, $p=0,384$, $p=0,697$, $p=0,516$). Tedavi yanıtı ile PTEN boyanma yoğunluğu ve PTEN boyanma yüzdesi arasında istatistiksel olarak anlamlı olmayan negatif korelasyon olduğunu bulduk (sırasıyla $p=0,221$, $r=-0,203$ ve $p=0,697$, $r=-0,065$). Bulgular aşağıda tablo-8'de gösterilmiştir.

Tablo-8: Değişkenlerin birbiriyle Spearman analizine göre korelasyon verileri

	TiA mTOR yüzdesi r ve p değeri	PTEN yüzdesi r ve p değeri	TGF-β1 r ve p değeri	Kresent yüzdesi r ve p değeri	Tedavi öncesi kreatinin r ve p değeri	Tedaviye yanıt r ve p değeri	ANCA pozitifliği r ve p değeri
TiA mTOR yüzdesi		r=0,229 p=0,114	r=0,120 p=0,411	r=0,325 p=0,021	r=0,060 p=0,686	r=0,318 p=0,048	r=- 0,097 p=0,516
PTEN yüzdesi	r=0,229 p=0,114		r=0,307 p=0,032	r=0,193 p=0,179	r=0,129 p=0,384	r=- 0,065 p=0,697	r=0,043 p=0,773
TGF-β1	r=0,120 p=0,411	r=0,307 p=0,032		r=0,028 p=0,746	r=- 0,158 p=0,272	r=- 0,095 p=0,560	r=- 0,052 p=0,725
Kresent yüzdesi	r=0,325 p=0,021	r=0,193 p=0,179	r=0,028 p=0,746		r=0,145 p=0,286	r=0,245 p=0,105	r=0,142 p=0,301
Tedavi öncesi kreatinin	r=0,060 p=0,686	r=0,129 p=0,384	r=-0,158 p=0,272	r=0,145 p=0,286		r=0,115 p=0,451	r=0,195 p=0,153
Tedaviye yanıt	r=0,318 p=0,048	r=- 0,065 p=0,697	r=- 0,095 p=0,560	r=0,245 p=0,105	r=0,115 p=0,451		r=- 0,103 p=0,503
ANCA pozitifliği	r=-0,097 p=0,516	r=0,043 p=0,773	r=- 0,052 p=0,725	r=0,142 p=0,301	r=0,195 p=0,153	r=- 0,103 p=0,503	

*mTOR: mammalian target of rapamycin, PTEN: phosphatase tensin homolog, TGF-β1: tumor growth factor beta 1, ANCA: anti-neutrophil cytoplasmic antibodies

Renal biyopsilerinde pauci-immün kresentik glomerülonefrit tanısı konulan ve immünsupresif tedavi için kontrendikasyonu olmayan, toplam 53 hastadan 39 hasta pulse kortikosteroid (KST) ve siklofosfamid şeklinde indüksiyon tedavisi almıştı. 7 hastaya pulse KST tedavisi sonrası enfeksiyon gelişmesi nedeniyle siklofosfamid verilememişti. 6 hasta aktivite indeksi düşük, kronisite indeksi yüksek olması nedeniyle yaşları da dikkate alınarak siklofosfamid tedavisine uygun görülmemişti. pulse KST ve siklofosfamid indüksiyon tedavi sonrası oral steroid + azatiyoprin şeklinde immünsupresif tedavisi devam edilmiş hasta sayısı 10'dur. Yedi hastaya Rituximab, 2 hastaya da Eculizumab verilmiştir. Tanı konduğu anda hemodiyaliz ihtiyacı olan hasta sayısı 14'tür. Toplam 18 hastaya plazmaferez başlanmıştır.

ANCA pozitif 25 hastanın immünsupresif tedavi sonrası, serum kreatinini 3,2±1,8 (1,4-5)mg/dL, ANCA negatif olan 20 hastanın da ortalama serum kreatinini 2,1±2,0 (1,4-5) mg/dL saptanmış olup, ANCA pozitif ve negatif gruplar arasında immünsupresif tedavi sonrası serum kreatinin düzeyleri arasında anlamlı ilişki bulunmadı (p=0,857).

Tedavi sonrası serum kreatinin değerlerinde düşme gözlenen veya kreatinin değerleri progresyon göstermeyen hastalar, tedaviye yanıt veren hasta grubu olarak değerlendirildiğinde; 9 hastanın (%20) tedaviye yanıt vermediği, geri kalan 36 hastada (%80) immünsupresif tedavi cevabının olduğu görüldü. Her iki grup arasındaki fark anlamlıydı

($p < 0.001$). ANCA pozitif ve negatif hastaların serum kreatinin düzeyi ile immünyüpresif tedavi yanıtları arasında anlamlı ilişki saptanmadı (sırasıyla $p=0,243$ ve $p=0,101$).

Tedavi boyunca 20 hastanın (%37) hemodiyaliz ihtiyacı olurken, bu hastalardan 3 tanesi (%15) tedavi süreci içinde sonradan hemodiyaliz ihtiyacı gösterdi..

Hastaların sağkalım açısından verileri incelendiğinde ANCA pozitif olgular ile sağkalım arasında anlamlı olmayan negatif korelasyon saptandı ($p=0,874$ $r= -0,028$). ANCA negatif olgular ile sağkalım arasında da anlamlı ilişki yoktu ($p=0,527$). ANCA pozitif hastaların tedavi öncesi serum kreatinin düzeyleri ile sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0,380$). Kadın ve erkek cinsiyete göre serum kreatinin değerleri ile sağ kalım arasında anlamlı ilişki saptanmadı (sırasıyla $p=0,614$, $p=0,387$). Kadınların kresent yüzdeleri ile sağkalım arası anlamlı ilişki saptanmazken ($p=0,746$), erkeklerin kresent yüzdeleri ile sağkalım arasında anlamlı ilişki saptandı ($p=0,027$). Bulgular tablo 9 ve 10'da gösterildi.

Tablo-9: Grupların ortalama kreatinin ve kresent yüzdesi sonuçları

BULGULAR	Sonuç
Kadın ortalama kreatinin (mg/dL)	3,3±2,2
Erkek ortalama kreatinin (mg/dL)	4,4±4,4
Kadın ortalama kresent yüzdesi	29,8±19,5
Erkek ortalama kresent yüzdesi	43,6±23,5
ANCA + hasta ortalama kreatinin (mg/dL)	4,3± 4,2
ANCA – hasta ortalama kreatinin (mg/dL)	3,4±2,0
ANCA + hasta tedavi sonrası ortalama kreatinin (mg/dL)	3,2±1,8
ANCA – hasta tedavi sonrası ortalama kreatinin (mg/dL)	2,1±2,0

*ANCA: *anti-nötrofilik sitoplazmik antikor*

Tablo-10: Değişkenlerin birbirleriyle Spearman analizine göre korelasyon verileri

	Kadın kresent yüzdesi	Erkek kresent yüzdesi	Kadın kreatinin	Erkek kreatinin	ANCA pozitif hastalar	ANCA negatif hastalar	ANCA pozitif kreatinin	ANCA negatif kreatinin	ANCA + tedavi sonrası kreatinin	ANCA – tedavi sonrası kreatinin	İmmunsup tedaviye yanıt	Sağkalım
Kadın kresent yüzdesi		r=0,422 p=0,023	r=0,090 p=0,650	r= -0,194 p=0,312	r= -0,087 p=0,653	r= -0,100 p=0,674	r= -0,310 p=0,102	r=0,394 p=0,070	r= -0,058 p=0,784	r=0,015 p=0,949	r= -0,172 p=0,381	r= -0,063 p=0,746
Erkek kresent yüzdesi	r=0,422 p=0,023		r= -0,009 p=0,964	r= -0,260 p=0,173	r= -0,178 p=0,356	r= -0,200 p=0,398	r=0,012 p=0,949	r=0,098 p=0,665	r=0,205 p=0,326	r=0,171 p=0,471	r= -0,208 p=0,288	r=0,411 p=0,027
Kadın kreatinin	r=0,090 p=0,650	r= -0,009 p=0,964		r=0,022 p=0,913	r= -0,173 p=0,380	r= -0,021 p=0,930	r=0,142 p=0,471	r=0,308 p=0,163	r= -0,039 p=0,854	r= -0,042 p=0,859	r=0,209 p=0,295	r= -0,100 p=0,614
Erkek kreatinin	r= -0,194 p=0,312	r= -0,260 p=0,173	r=0,022 p=0,913		r=0,004 p=0,983	r=0,351 p=0,129	r= -0,066 p=0,735	r= -0,039 p=0,863	r=0,067 p=0,751	r=0,075 p=0,753	r=0,124 p=0,529	r= -0,167 p=0,387
ANCA pozitif hastalar	r= -0,087 p=0,653	r= -0,178 p=0,356	r= -0,173 p=0,380	r=0,004 p=0,983		r=0,350 p=0,130	r=0,053 p=0,766	r= -0,348 p=0,113	r=0,119 p=0,570	r=0,010 p=0,967	r= -0,347 p=0,044	r= -0,028 p=0,874
ANCA negatif hastalar	r= -0,100 p=0,674	r= -0,200 p=0,398	r= -0,021 p=0,930	r=0,351 p=0,129	r=0,350 p=0,130		r=0,000 p=1,000	r= -0,243 p=0,302	r= -0,400 p=0,080	r= -0,083 p=0,729	r= . p= .	r= 0,150 p=0,527
ANCA pozitif kreatinin	r= -0,310 p=0,102	r=0,012 p=0,949	r=0,142 p=0,471	r= -0,066 p=0,735	r=0,053 p=0,766	r=0,000 p=1,000		r= -0,342 p=0,119	r=0,190 p=0,363	r= -0,058 p=0,809	r=0,209 p=0,243	r=0,155 p=0,380
ANCA negatif kreatinin	r=0,394 p=0,070	r=0,098 p=0,665	r=0,308 p=0,163	r= -0,039 p=0,863	r= -0,348 p=0,113	r= -0,243 p=0,302	r= -0,342 p=0,119		r= -0,059 p=0,796	r=0,146 p=0,539	r=0,368 p=0,101	r=0,073 p=0,745
ANCA + tedavi sonrası kreatinin	r= -0,058 p=0,784	r=0,205 p=0,326	r= -0,039 p=0,854	r=0,067 p=0,751	r=0,119 p=0,570	r= -0,400 p=0,180	r=0,190 p=0,363	r= -0,059 p=0,796		r=0,043 p=0,857	r= -0,010 p=0,964	r= -0,204 p=0,327

ANCA – tedavi sonrası kreatinin	r=0,015 p=0,949	r=0,171 p=0,471	r= -0,042 p=0,859	r=0,075 p=0,753	r=0,010 p=0,967	r= -0,083 p=0,729	r= -0,058 p=0,809	r=0,146 p=0,539	r=0,043 p=0,857		r= . p= .	r=0,010 p=0,967
İmmunsup tedaviye yanıt	r= -0,172 p=0,381	r= -0,208 p=0,288	r=0,209 p=0,295	r=0,124 p=0,529	r= -0,347 p=0,044	r= . p= .	r=0,209 p=0,243	r=0,368 p=0,101	r= -0,010 p=0,964	r= . p= .		r=0,028 p=0,856
Sağkalım	r= -0,063 p=0,746	r=0,411 p=0,027	r= -0,100 p=0,614	r= -0,028 p=0,874	r= -0,028 p=0,874	r=0,150 p=0,527	r=0,155 p=0,380	r=0,073 p=0,745	r= -0,204 p=0,327	r=0,010 p=0,967	r=0,028 p=0,856	

*ANCA: anti-nötrofilik sitoplazmik antikor, .=hesaplanamadı

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, pauci-immun kresentik glomerulonefrit tanısı konmuş hastaların böbrek biyopsileri, retrospektif olarak çıkarılarak, hastalık patogenezinde m-TOR yolağının önemli etkisinin olup olmadığını ve bu hastalarda mTOR yolağının, potansiyel tedavi hedefi olarak görülebilir mi sorusunu değerlendirmeyi hedefledik.

Çalışmamızdaki hastaların yaş ortalaması $54,4 \pm 14,3$ (20-79) yıl ve erkek/kadın oranı da eşitti. Hastaların tedavi öncesi serum kreatinin değerleri $4,1 \pm 3,6$ mg/dL ve ortalama takip süresi $37,7 \pm 26,7$ ay idi. Kuzey Karolina Üniversitesi nefroloji laboratuvarı sonuçlarında pauci-immün kresentik glomerulonefrit vakalarında yaş ortalaması 56, erkek/ kadın oranı 1/1,09, ortalama serum kreatinin değeri 6,5 mg/dL ve 24 saatlik idrarda proteinüri 1,94 gr olduğu bildirilmiş (1). Jennette' in Amerika'da yaptığı bir çalışmada ise hasta yaşı $57,0 \pm 17,5$ yıl, erkek-kadın oranı 1,13/1, serum kreatinin değeri de $5,8 \pm 4,6$ mg/dL olarak rapor edilmiş (144). Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar ile bu iki çalışmanın hasta demografik verileri arasında benzerlik görülmektedir.

Pauci-immün kresentik glomerulonefritlerin %75-80'inde, ANCA pozitifliği saptanmaktadır (1,2). Çalışmamızda da ANCA pozitifliğini %60 (33/55) olarak saptadık. ANCA pozitif olanlar içinde, p-ANCA pozitifliğini %39 (13/33), c-ANCA pozitifliğini de %61 (20/33) olarak bulduk. Hung ve ark.'nın, Tayvan'lı 42 hasta üzerinde yaptığı bir çalışmada, ANCA pozitifliğinin %62,5 olduğu bildirilmiş (145). Ayrıca Jennette ve ark. nın, 81 hastayı değerlendirdiği başka bir çalışmada da ANCA pozitifliği %87 (%49 p-ANCA, %38 c-ANCA) olarak rapor edilmiş (144). Bu çalışmalardaki ANCA pozitiflik oranları çalışmamızla benzer bulunurken, hastaların %80'inde p-ANCA, %20'sinde ise c-ANCA'nın pozitif saptandığı bildirilmiş ve ANCA alt tipleri açısından, çalışmamızda cANCA pozitifliği daha belirginken, bu çalışmalarda ise pANCA pozitif hastaların daha fazla olduğu görülmektedir.

Pauci immün kresentik glomerulonefrit saptanan vakaların bir kısmında ANCA pozitifliği saptanmaz. Bu vakalarla ilgili veriler sınırlıdır. Çalışmamızda ANCA negatif olan hastalar %39 (22/55) saptanmış olup, Hedger ve arkadaşlarının yaptığı 10 yıllık retrospektif bir çalışmada, toplam 128 vakanın 35'inde (%27) ANCA negatif olarak bildirilmiştir (146). Taiwan'da yapılan bir çalışmada ANCA negatiflik oranı, bizim bulgumuzla benzer şekilde %38 olarak rapor edilmiş (145). Chapell-Hill çalışma grubunun yaptığı 213 hastalık başka bir çalışmada ise %30 olarak saptanmıştır (145,147). Chen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise ANCA negatif hasta oranı %33 olarak saptanmış (148). ANCA negatif hastaların renal biyopsilerinde glomeruloskleroz, interstisyel fibrozis gibi kronik lezyonların daha fazla olduğu bildirilmektedir (17). Biz de çalışmamızda, bu veri ile uyumlu olarak ANCA negatif hastaların glomeruloskleroz ortalamasının daha fazla olduğunu bulduk (ANCA negatiflerde $29,4 \pm 29,6$, ANCA pozitif hastalarda $23,2 \pm 21,3$). Ancak, fibrozis ortalama değerleri açısından bu iki grup arasında anlamlı farklılık yoktu (ANCA negatif hastalarda $1,23 \pm 0,5$, ANCA pozitiflerde $1,22 \pm 0,4$).

ANCA negatif hastaların ANCA pozitif hastalara göre daha genç yaşta ortaya çıktığı, daha az pulmoner semptom, daha az konstitüsyonel semptomlar ve daha az böbrek dışı tutulumla beraber oldukları bildirilmiştir (146). Bu raporlar ANCA'nın, pauci-immün kresentik glomerulonefritli hastalardaki sistemik hastalığın bir göstergesi olduğunun altını çizmektedir. Ayrıca, ANCA negatif hastalarda nefrotik sendrom prevalansının daha fazla,

glomerüler lezyonların daha ciddi, kronisite bulgularının daha fazla olduğu rapor edilmiştir (148). Bizim çalışmamızda, ANCA negatif hastaların 3 tanesi fokal glomerulonefrit, 4 tanesi kresentik glomerulonefrit, 9 tanesi mikst glomerulonefrit, 6 tanesi de sklerotik glomerulonefrit grubundaydı. ANCA pozitif hastalarımızda ise aktivite indeksi yüksek olan kresentik ve mikst grupta 13'er olmak üzere daha fazla sayıda hasta bulunmaktaydı. ANCA pozitif grupta geriye kalan hastaların 1'i fokal, 6'sı sklerotik gruptaydı. Bu bakımdan, literatür ile uyumlu bulgular saptandı. Chiu ve ark. çalışmasında ANCA pozitif hastaların yaşı 59, ANCA negatif hastaların da 45 yaş olarak saptanmış. Bizim çalışmamızda ANCA negatif hastalarımızın yaş ortalaması 52, ANCA pozitif olanların ise 55 yaş olmak üzere ANCA pozitif hastaların yaş ortalaması daha fazlaydı ve bu yönden diğer çalışmalar ile uyumluydu, ancak yaşlar arası farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,996$). Çalışmamızda ANCA pozitif hastaların kresent ortalaması $\%43,06\pm22,5$, ANCA negatif hastaların kresent ortalamasını da $\%27,5\pm18$ olarak bulduk. Hung ve ark. tarafından yapılmış çalışmada, ANCA negatifliğinin daha az kresent oluşumu ile ilişkili olduğu gösterilmiş (145). Bizim çalışmamızda da ANCA negatifliğinin daha az kresent oluşumu ile ilişkili olduğu bulunmuş olup bu açıdan sonuçlar benzerdir. ANCA negatif hastalarda nötrofiller major efektör hücrelerdir ve glomerüler lezyonlarda ve tübülüslerde nötrofil hakimiyeti, ANCA pozitif hastalardan daha belirgindir (17,149). Oksijen radikalleri, litik enzimler, inflamatuvar sitokinler, glomerüler endotel hasarına neden olabilmektedir (150). Nötrofil aktivasyonunda, ANCA'dan başka otoantikörlerin ve hücre aracılı immünitenin de rol oynadığı düşünülmektedir (151).

Çalışmamızdaki hastaların serum kreatinin değerlerini ANCA pozitif hastalarda $4,3\pm 4,2$ (1,4-23) mg/dL, ANCA negatif hastalarda ise $3,4\pm2,0$ (1,4-9) mg/dL olarak bulurken, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı olmayan, negatif ilişki saptadık. ($p=0,119$ $r= - 0,342$). ANCA varlığı ile tedavi öncesi serum kreatinin değerleri arasındaki ilişki de anlamlı değildi ($p=0,153$). Tayvan'da Hung ve ark. yaptığı çalışmada, ANCA pozitif hastaların serum kreatininini $5,7\pm3,5$ mg/dL, ANCA negatif olanların da $5,5\pm2,3$ mg/dL bulunmuş ve çalışmamızda elde ettiğimiz sonuca benzer şekilde, iki grup arasında anlamlı fark saptanmamış (145).

Ülkemizde Ankara Üniversitesi'nden Sezer ve Düzgün tarafından yapılan çalışmaya göre yaş ortalaması, cinsiyet dağılımı, kan üre azotu (BUN), serum kreatinin, immunglobulin, kompleman düzeyleri, eritrosit sedimentasyon hızı ve glomerulonefrit tipleri yönünden ANCA pozitif hastalar ile ANCA negatif hastalar arasında istatistiksel anlamlı farkın gözlenmediği bildirilmiş (152).

Çalışmamızda ortalama glomerül sayısı 11.6 ± 6.1 'di (2-40). Glomerüllerin ortalama kresent yüzdesini $\%36.7\pm22,5$ (10-80), ortalama skleroz yüzdesini $\%26,1\pm25,7$ (10-100), ortalama fibrozis derecesini $1,2\pm0,46$ (0-3) olarak bulduk. Cinsiyete göre ortalama kresent yüzdesinin dağılımına baktığımızda kadınlarda $\%29,8\pm19,5$ (10-75), erkeklerde ise $\%43,6\pm23,5$ (10-80) olarak bulduk ve iki cinsiyet arasındaki farkı anlamlı olarak saptadık ($p=0,023$). Jennette ve ark. yaptığı çalışmada, 76 hastanın 32'sinde glomerüllerin $\%50$ ve üzeri kresentik olduğu görülmüş, ortalama kresent oranı $\%43,8$ bulunmuş (144). Tayvan'da Hung ve ark. yaptığı çalışmada, ortalama kresent yüzdesi $48,7\pm25,2$, interstisyel fibrozis $2,0\pm0,7$, tübüler atrofi $31,7\pm18,3$ olarak bulunmuş. Bu çalışmalarda cinsiyet arası fark değerlendirilmemiştir (145).

Çalışmamızdaki hastaların, ortalama kresent yüzdesi ile ANCA pozitifliği arasında anlamlı ilişki yoktu ($p=0,301$). Tedavi öncesi serum kreatinin değeri ile kresent yüzdesi ve tedavi yanıtı değişkenlerini karşılaştırdığımızda aralarında anlamlı ilişki bulunmadı (sırasıyla $p=0,286$ ve $p=0,105$). Çalışmamızda, hastaların kresent yüzdesi ile fibrozis ve sağ kalım arasındaki ilişki de anlamlı değildi (sırasıyla $p=0,248$, $p=0,382$). Hung ve ark. yaptığı çalışmada ANCA pozitif hastaların kresent yüzdesi $57,3\pm 25,1$, ANCA negatif hastaların kresent yüzdesi $34,2\pm 19,8$ olarak bulunmuş ve aralarındaki farkın anlamlı olduğu saptanmış ($p = 0.003$) (145). Yine aynı çalışmada glomerüler kresenti mevcut olan hastaların, kresent olmayanlara göre daha kötü prognozlu olduğunu bulmuşlar, ancak bu iki grup arasında yaş, cinsiyet, proteinüri, tübüler atrofi, interstisyel fibrozis ve akut glomerüler lezyonlar açısından anlamlı farkın olmadığını bildirmişler (145).

Kalp ve damar düz kas hücrelerinde olduğu gibi böbrek dokusunda da mTOR etkinliğinin olduğu gösterilmiştir. mTOR sinyal ileti yolu akut böbrek zedelenmesi, diyabetik nefropati ve polikistik böbrek hastalıkları gibi yaygın görülen renal sistem hastalıklarında önemli rol oynamaktadır. mTORK1'in, hücre büyümesi ve proliferasyonu düzenleyici etkisiyle, renal tübül hücrelerinin proliferasyonuna katkıda bulunmakla birlikte, tübüler hücre rejenerasyonu için gerekli olduğu belirtilmiştir (153).

Çalışmamızda pauci-immün kresentik glomerülo nefrit tanısı konmuş hastaların renal biyopsi materyallerinde glomerüler ve TIA mTOR yolağının rolünün olup olmadığını belirlemek amacıyla, mTOR ve mTOR yolağının sekonder göstergeleri olan PTEN ve TGF- β 1 ile immunohistokimyasal boyama gerçekleştirdik. Teknik sorunlar nedeniyle mTOR boyanamayan hastalar çıkarıldığında, glomeruler mTOR boyanan hasta sayımız 51, TIA mTOR boyanan hasta sayımız 50 idi. Glomeruler mTOR boyanma yoğunluğuna göre çalışmamızdaki hastaların %18'inde negatif (9/51), %74'ünde zayıf pozitif (38/51) ve %8'inde (4/51) orta pozitif boyanma olduğunu gösterdik. Diğer yandan glomerüllerin boyanma yüzdesine göre de, hastaların %29'unda (15/51) %5 ve altında, %49'unda (25/51) %5-25 aralığında, %14'ünde (7/51) %26-50 aralığında, %6'sında (3/51) %51-75 aralığında ve %2'sinde (1/51) %75 ve üzeri aralıkta glomerüler mTOR boyanmasının olduğunu gördük.

TIA mTOR boyanma yüzdesine göre değerlendirildiğinde; %2'si (1/50) %5 ve altında, %18'i (9/50) %5-25 aralığında, %38'i (19/50) %26-50 aralığında, %38'i (19/50) %51-75 aralığında ve %4'ü (2/50) de %75 ve üzeri boyanmıştı. Bu konuda literatürde, insanlarda mTOR immunohistokimyasal boyama yapılmış olan Mao J ve ark. ile Zhang ve ark. yaptığı 2 çalışma bulunmaktadır (143,154). Ancak bu çalışmalarda glomeruler ve TIA boyanması açısından ayrı ayrı değerlendirme yapılmadığı için karşılaştırma yapamadık.

TIA mTOR boyanma yoğunluğuna göre değerlendirildiğinde %2'si (1/50) negatif, %26'sı (13/50) zayıf pozitif, %40'ı (20/50) orta pozitif, %32'si (16/50) kuvvetli pozitif boyanmıştı. TIA mTOR boyanma yüzdesi açısından %2 olgumuz (1/50) %5 ve altında, %18 (9/50) %5-25 aralığında, %38 (19/50) %26-50 aralığında, %38 (19/50) %51-75 aralığında ve %4 (2/50) %75 ve üzeri olarak TIA'da mTOR boyanması gösterdiğini bulduk. TIA mTOR boyanma yüzdesi ile kresent yüzdesi arasında anlamlı pozitif korelasyon ($p=0,021$) vardı. Kresent miktarının artmasıyla, mTOR ekspresyonunun arttığının gösterilmesi, kresent oluşumunu önlemede mTOR yolağının hedef alınabileceğini göstermesi açısından önemli olabileceğini düşünüyoruz. Ayrıca TIA mTOR boyanma yüzdesi ile, tedavi yanıtı arasında anlamlı pozitif korelasyon ($p=0,048$) olduğunu gösterdik, bu açıdan mTOR ekspresyonunun

immünesüpresif tedaviye yanıt verme oranını arttırması, mTOR yolağını hedefleyen tedavilerin denenmesi için araştırmalara cesaret verici özellihte olduğunu ve daha kapsamlı çalışmalar ile bu sonuçların desteklenmesi gerektiğini düşünüyoruz.

TİA mTOR boyanma yüzdesi ve ANCA pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı olmayan negatif korelasyon ($p=0,516$, $r= -0,097$) tespit ettik. Literatürde bu ilişkiyi inceleyen bir çalışmaya rastlamadığımız için karşılaştırma yapamadık. TİA mTOR boyanma yüzdesi açasından elde ettiğimiz bu verilerin yanında, TIA mTOR boyanma yoğunluğu ile tedaviden fayda görmesi ve kresent yüzdesi arasında anlamlı ilişki saptamadık (sırasıyla $p=0,312$, $p=0,708$). mTOR'un boyanma yoğunluğundan ziyade, mTOR ile boyanan alan yüzdesinin istatistiksel açasından daha anlamlı sonuçlarla ilişkili olabileceğini düşünüyoruz. Özellikle TIA mTOR ekspresyonu ile ANCA pozitifliği ve tedavi sonucu arasındaki ilişkinin ortaya konulabilmesi için hasta sayısının arttırıldığı ek çalışmaların yapılması gerektiğini düşünüyoruz.

Çalışmamızda, glomeruler mTOR boyanma yüzdesi ile tedaviden fayda görme, kresent oranı ve ANCA pozitifliği arasındaki ilişki anlamlı değildi (sırasıyla $p=0,733$, $p=0,716$, $p=0,536$). Glomeruler mTOR boyanma yoğunluğu ile tedaviden fayda sağlama, kresent yüzdesi, fibrozis, skleroz yüzdesi ve ANCA pozitifliği arasında anlamlı olmayan negatif korelasyon olduğunu bulduk (sırasıyla $p=0,806$ $r= -0,041$, $p=0,381$ $r= -0,125$, $p=0,215$ $r= -0,176$, $p=0,928$ $r= -0,013$, $p=0,468$ $r= -0,107$). Literatürde mTOR boyanma yoğunluğu ile kresent, skleroz yüzdesi, ANCA pozitifliği, immünesüpresif tedaviden fayda sağlama durumunu karşılaştıran başka bir çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamızda, PTEN boyanma yoğunluğu açasından %2 (1/50) negatif, %56 (28/50) zayıf pozitif, %22 (11/50) orta pozitif ve %20 (10/50) kuvvetli pozitif olarak bulduk. PTEN boyanma yüzdesi olarak da %2'sinde (1/50) boyanma olmazken, %32'si (16/50) <%15 fokal, %34'ü (17/50) %15-50 regional, %32'si (16/50) >%50 diffüz şekilde boyandığını gösterdik. 52 hastadan elde ettiğimiz TGF- β 1 boyanma sonuçlarına göre; bunlardan 9 hastada TGF- β 1 negatif bulunurken (%17), 30 hastada TGF- β 1 <%25 olarak boyandı (%58). 12 hastada %26-50 aralığında boyanırken (%23), sadece 1 hastada %51-75 aralığında TGF- β 1 boyanması oldu (%2). PTEN boyanma yüzdesi değerleri ile gruplar arası yapılan analizde, TGF- β 1 ve PTEN boyanma yüzdesi arasında anlamlı pozitif korelasyon ($P=0,032$) olduğunu gördük. Bu sonucu, TGF- β 1 ve PTEN'in mTOR yolağının sekonder göstergeleri olmasına bağlıyoruz. Literatürde çalışmamızla benzer sonuçların elde edildiği başka çalışmalar da elde ettiğimiz bu sonucu desteklemektedir (102). PTEN boyanma yüzdesi ile TİA mTOR boyanma yüzdesi grubu arasındaki ilişki anlamlı değildi ($p=0,114$). PTEN yüzdesi ile kresent yüzdesi, tedavi öncesi kreatinin, tedaviye yanıt ve ANCA pozitifliği arasındaki ilişki de önemsizdi (sırasıyla $p=0,179$, $p=0,384$, $p=0,697$, $p=0,516$). Diğer yandan tedavi yanıtı ile PTEN boyanma yoğunluğu ve PTEN boyanma yüzdesi arasında istatistiksel olarak anlamlı olmayan negatif korelasyon vardı (sırasıyla $p=0,221$ $r= -0,203$, $p=0,697$ $r= -0,065$). Aradaki farkın anlamlı olmamasına karşın, PTEN boyanma yoğunluğu ve yüzdesi arttıka, tedaviden fayda görme oranının azaldığı görüldü. Burada mTOR ekspresyonunun sekonder göstergesi olan PTEN ile elde edilen bu sonucun, tedavi yaklaşımı açasından mTOR inhibisyonu ile tedavide olumlu sonuç elde edilebileceği yönünde, geniş kapsamlı çalışmalarla desteklenmesi gerektiğini düşünüyoruz.

TGF- β reseptörünün uyarılması hem PI3K hem de SMAD üzerinden hücre içi yolları aktive eder (105,106) (Figür 8). PI3K molekülünün TGF- β reseptörü ile fosforile olması Akt, mTOR ve S6K1'i aktive eder (105,106). Bu durum S6 kinaz aktivasyonu ve translasyon artışı ile devam eder (105). Sonuçta protein sentezi artışı ve hücre migrasyonunda artış meydana gelir.

TGF- β 'nın PTEN molekülünü hem artırma hem de baskılama yönünde etkilediği daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir. Bu etkisi Ras/*Extracellular-signal-regulated kinase* (ERK) yolağının durumuna göre değişiklik göstermektedir. Ras/ERK yolağı aktive olduğunda, SMAD4 bağımsız sinyal yolağı üzerinden TGF- β 'nın PTEN üzerine baskılayıcı etkisi görülmektedir. Ancak Ras/ERK yolağı inaktive edildiğinde TGF- β klasik SMAD bağımlı yoldan PTEN molekülünün ekspresyonunu arttırmaktadır (102). Bizim çalışmamızda da TGF- β 1 ve PTEN boyanma yüzdesi arasında anlamlı pozitif korelasyon ($P=0,032$) görülmesi dolayısıyla; pauci-immun kresentik glomerulonefritte Ras/ERK yolağının inaktif olup, klasik SMAD bağımlı yolağın aktif olabileceğini düşündürmektedir. Ancak çalışmamızda başka moleküller veya diğer yollar çalışılmadığı için, bu yönde bir bulgu elde edemedik. Çalışmamızda TGF- β 1 ile TIA mTOR boyanma yüzdesi arasındaki ilişki anlamlı değildi ($p=0,411$). Bu durum, teknik nedenlerle mTOR boyanması yapılamayan hastalarımız olması ve hasta sayımızın kısıtlı olması ile açıklanabilir. Ayrıca TGF- β 1 ile kresent yüzdesi ve tedavi öncesi kreatinin değerleri arasındaki ilişki de anlamlı değildi (sırasıyla $p=0,746$, $p=0,272$). TGF- β 1 ile ANCA pozitifliği, tedavi fayda oranı arasında istatistiksel anlamı olmayan negatif korelasyon vardı (sırasıyla $p=0,725$ $r=-0,052$, $p=0,560$ $r=-0,095$). Literatürde pauci-immun kresentik glomerulonefritte TGF- β 1'i inceleyen yapılmış başka bir çalışma bulunmamaktadır.

Pauci-immun kresentik glomerulonefrit tedavisi, immünesupresif tedavi, intravenöz immünglobulin (IVIg), plazmaferez ve immunadsorbsiyon, destek tedavileri ve diyaliz olmak üzere dört kategoride incelenebilir. İmmünesupresif tedavide kullanılan ajanlar olarak kortikosteroidler ve siklofosfamid, indüksiyon ve idame tedavide yer alırken, mikofenolat mofetil (MMF) ve azatioprin idame tedavide sayılabilir (12). Aylık siklofosfamid tedavisi intravenöz (İV) pulse şeklinde, remisyon sağlanıncaya kadar yaklaşık 3 ile 6 ay süreyle 0,5-1 gr/m² dozunda uygulanır. Lökosit sayısı yakından takip edilerek, lökosit sayısı 3000/mm³ ve üzerinde, mutlak nötrofil sayısı da 1500 mm³ ün üzerinde olmalıdır. Kortikosteroid (KST) tedavisi başlangıçta tüm hastalara metilprednizolon (7-15 mg/kg, maksimum 500-1000 mg/gün dozunda) olacak şekilde 3 gün İV pulse şeklinde uygulanır. İlk 3 günlük pulse tedavisinden sonra 1 mg/kg/gün prednizolon dozunda (maksimum 60-80mg/gün) oral KST başlanır. Genellikle 2-4 hafta yüksek doz KST verildikten sonra doz azaltma şemaları ile azaltılır. Eğer önemli bir iyileşme gözlenirse steroid dozu ikinci ayın sonunda 20mg/gün olacak şekilde yavaşça azaltılır. KST tedavisinin ortalama süresi 6 ile 9 ay arasındadır (1). Klinik remisyonu takiben, relaps riskini azaltmak için immünesupresyonun devam ettirilmesi gerekir. Bu idame tedavisinin süresi değişebilir. Siklofosfamidin uzun dönemde kullanımı, önemli toksisite oluşturabileceğinden idame tedavide siklofosfamid dışı ilaçlar önerilmektedir. İdame tedavi için azathioprine veya MMF'in 3-6 ay kadar verilmesi tavsiye edilmektedir. Remisyon sağlanması 6 aydan daha fazla zaman alan hastalarda, siklofosfamid birkaç ay daha uzatılabilir. KST'lerin idame tedavide ek yarar sağlamadığı ve tedaviye cevap alındığında da (genelde 1 ay sonra) dozunun azaltılması gerektiği düşünülmektedir. KST tedavisinin ortalama süresi 6 ile 8 aydır (1,12). Başlangıçta ya da sonradan, diyaliz ihtiyacı olan ve immünesupresyondan 2-3 ay sonra böbrek

fonksiyonlarının düzelmediği hastalarda, morbidite ve mortaliteyi en aza indirmek için aşırı immünosupresyondan kaçınılması önerilmektedir (1).

Tedaviye dirençli olgularda, IVIG uygulamaları, antikor oluşumunda azalma, kompleman aktivasyonunun baskılanması, kompleman bağımlı hasarın ve diğer immün modülatör olayların baskılanması, zararlı antikorları nötralize eden anti-idiotipik antikorların oluşumu yoluyla yarar sağlamaktadır (155,156). Dolaşımda bulunan ve inflamasyonu uyaran antikorların, immün komplekslerin, fibrinojenin ve komplemanın plazmaferez veya immünoadsorbsiyon ile mekanik klirensi de hastalık sürecine olumlu yönde katkıda bulunabilir. Plazmaferez, seçilmiş Wegener Granüloatozu ya da mikroskopik polianjitis hastalarında, anti-GBM antikorlu ve ciddi pulmoner hemorajili ANCA pozitif hastalarda, yüksek doz siklofosfamid ve KST kombinasyonuna rağmen, pulmoner hemorajisi olan hastalarda, başvuru sırasında serum kreatinin düzeyi 5.8 mg/dL üzerinde olan veya diyalize ihtiyaç duyan hastalarda plazma değişimi önerilmektedir (59). Tedaviye rağmen, çoğu hastada böbrek fonksiyonları kötüleşebilir. Diyaliz ve böbrek transplantasyonuna ihtiyaç duyulabilir. Hızlı ilerleyen glomerülo nefritler böbrek transplantasyonundan sonra da tekrarlayabilir (156).

Pauci-immun glomerülo nefritli hastalarda, immünespresif tedavi açısından literatür taramasında çalışmaların prognoza ve son dönem böbrek yetmezliği gidişine etki eden faktörleri incelediğine ve iki tedavi grubunun etkinlik karşılaştırmasına rastladık (157). Çalışmamız, glomerüller ve TIA mTOR ekspresyonu ile immünespresif tedavi etkinliği ve tedavi sonrası kreatinin değerlerini ve tedavi yanıtını karşılaştıran ilk çalışmadır. Çalışmamızda renal biyopsilerinde pauci-immün kresentik glomerülo nefrit tanısı konulan ve immünespresif tedavi için kontrendikasyonu olmayan toplam 53 hastadan 39 hasta pulse KST ve aylık siklofosfamid şeklinde indüksiyon tedavisi almıştı. 7 hastaya pulse KST tedavisi sonrası enfeksiyon gelişmesi nedeniyle siklofosfamid verilememişti. 6 hasta aktivite indeksi düşük, kronisite indeksi yüksek olması nedeniyle yaşları da dikkate alınarak siklofosfamid tedavisine uygun görülmemişti. Pulse KST ve siklofosfamid indüksiyon tedavi sonrası oral steroid+ azatiyoprin şeklinde idame immünespresif tedavi devam edilmiş, 7 hastaya Rituximab, 2 hastaya da Eculizumab verilmiştir. Tanı konduğu anda hemodiyaliz ihtiyacı olan hasta sayısı 14' tür. Toplam 18 hastaya plazmaferez başlanmıştır. Tedavi boyunca hemodiyalize giren hasta sayısı 20 olup oranı %37 (20/53) idi. Bu hastalardan 3 tanesi tedavi süreci içinde sonradan hemodiyalize bağlandı. Tedavi sonrası serum kreatinin değerlerinde düşme gözlenen veya kreatinin değerleri progresyon göstermeyen hastalar, tedaviye yanıt veren hasta grubu olarak değerlendirildiğinde; 9 hastanın (%20) tedaviye yanıt vermediği, geri kalan 36 hastada tedavi cevabının olduğunu bulduk. Her 2 grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.001$). Takiplerinde 9 hastanın eksitus olmuş olması ve 5 hastanın da izlem dışı kalması nedeniyle toplam 14 hastanın immünespresif tedavi sonrası kreatinin değerleri elde edilememiştir. Bu hastalar çıkarıldıktan sonraki hastaların tedavi sonrası serum kreatinin değerlerini $2,8\pm 2,0$ (1,4-5) mg/dL olarak bulduk ve tedavi öncesi değerlerle karşılaştırıldığında aradaki fark anlamlıydı ($p<0,001$).

Çalışmamızda yer alan 9 hasta eksitus oldu. Eksitus nedenleri 1 hastamızda enfektif endokardit nedeniyle kardiyoembolik serebral infarktüs, 1 hastada intrakranial kanama ve herniasyon, 1 hastada böbrek biyopsisi sonrası batın içi kanama ve postoperatif solunum yetmezliği, 1 hastadaz masif pulmoner hemoraji ile solunum yetmezliği, 4 hasta pnömosepsis ve septik şok, 1 hastada nütropenik ateş ve ürosepsis olarak bulundu.

Çalışmamızdaki ANCA pozitif hastaların immünsupresif tedavi sonrası serum kreatinini $3,2\pm 1,8$ (1,4-5) mg/dL olurken, ANCA negatif olanların ise serum kreatinini $2,1\pm 2,0$ (1,4-5) mg/dL olarak saptadık. Tedavi sonrası serum kreatinin değerlerinde düşme gözlenen veya kreatinin değerleri progresyon göstermeyen hastalar, tedaviye yanıt veren hasta grubu olarak değerlendirildi. Tedaviye yanıt veren 36 hastanın 21'i ANCA pozitif (%58), 15'i ANCA negatif (%42). Tedaviye yanıt vermeyen 9 hastanın 6'sı ANCA pozitif (%67), 3'ü ANCA negatif (%33). 9 hastamız eksitus olduğu ve 5 hastamız da izlem dışı kaldığı için tedavi yanıtı değerlendirilemedi.

Literatürde ANCA pozitif ve negatif pauci-immun kresentik glomerülonefrit hastalarının tedavi yanıtını değerlendiren bir çalışmaya rastlamadık. Gans R. ve ark tarafından 1993 yılında yayınlanmış bir çalışmada, hastalarda yüksek kronisite ve düşük aktivite indeksi olmasının, immünsüpresif tedaviye rağmen, daha yüksek renal fatalite oranını öngördüğü belirtilmiş (158). Hastaya tedavi kararı verilmesi konusunda hastanın yaşı, tedavi öncesi böbrek fonksiyon kaybı ve renal biyopsi bulguları dikkate alınırken, ANCA negatif pauci-immun glomerülonefrit hastalarının 70 yaş üzeri, ağır renal fonksiyon kaybı (3 aydan uzun sürede serum kreatinin düzeyinin ikiye katlanması) ve/veya böbrek biyopsisinde yüksek kronisite indeksi (kronik glomerül lezyon yüzdesi $>30\%$) olması durumunda immünsüpresif tedavinin kesilebileceği bildirilmektedir (145).

Hastaları sağ kalım yönünden incelediğimizde, ANCA pozitifliği ile sağ kalım arasında anlamlı olmayan negatif korelasyon saptadık ($p=0,874$, $r=-0,028$). ANCA negatif olgular ile sağ kalım arasında anlamlı ilişki yoktu ($p=0,527$, $r=0,150$). ANCA pozitif ve negatif hastaların tedavi öncesi serum kreatinin düzeyleri ile sağ kalım arasında da anlamlı ilişki bulunmadı (sırasıyla $p=0,380$, $p=0,745$).

Cinsiyete göre ortalama kresent yüzdesinin dağılımına baktığımızda kadınlarda $29,8\pm 19,5$ (10-75), erkeklerde ise $43,6\pm 23,5$ (10-80) olarak bulduk ve iki cinsiyet arasındaki farkı anlamlı olarak saptadık ($p=0,023$). Kadınların kresent yüzdeleri ile sağ kalım arası anlamlı ilişki saptanmazken ($p=0,746$), erkeklerin kresent yüzdeleri ile sağ kalım arasında anlamlı ilişki olduğunu saptadık ($p=0,027$). Bunu erkek hasta grubumuzdaki kresent oranlarının daha fazla olmasına bağladık. Kresent oranları açısından homojen gruplar oluşturulmak suretiyle tedavi etkinliğinin değerlendirilmesi gerektiğini düşünüyoruz. Kadın ve erkek cinsiyetin serum kreatinin değerleri ile sağ kalım arasında anlamlı ilişki yoktu (sırasıyla $p=0,614$, $p=0,387$). Kresentik glomerülonefritte tübüler atrofi, interstisyel fibrozis, kresent yüzdesi, sklerotik glomerül yüzdesi, damar vasküliti varlığı, kresentlerin fibröz olması, ileri yaş, yüksek kreatinin değerleri kötü prognostik faktörler olarak tanımlanmıştır. Normal glomerül oranı ve kresentlerin selüler olması ise iyi prognoz kriteri olarak gösterilmektedir (18, 159).

Çalışmamızda T1A mTOR boyanma yüzdesi ile immünsüpresif tedaviye yanıt değişkenleri karşılaştırıldığında, anlamlı pozitif korelasyon bulduk ($p=0,048$). Bu sonuç, pauci-immun kresentik glomerülonefrit tanılı hastalarda, mTOR yolağının patogeneizde aktif olabileceğini ve ileride immünsüpresif tedavi seçenekleri arasında, mTOR inhibitörleri kullanımının da yer alabileceğini düşündürmektedir.

Mao J. ve ark. yaptığı bir çalışmada kresentik glomerülonefritli 14 hastada, immünhistokimyasal olarak P-S6 ve p-4EBP1 boyama sonrasında sellüler, mikst sellüler kresentlerde ve tübüllerde mTORC1 aktivasyonunun anlamlı derecede yüksek olduğu ve

böylece kesentik glomerülonefrit hastalarında mTOR yolağının aktive olduğunu belirtmişler (154). Daha sonra bu farelere mTORC1 aktivasyonunu inhibe etmek için gün aşırı 1 mg/kg Rapamisin intraperitoneal olarak 5 hafta boyunca verilmiş. Rapamisin ile sağlanan mTORC1 inhibisyonunun, farelerde yeni hücrel kresent oluşumunu engellediği ve aynı zamanda tedavi başlangıcında glomerüllerde bulunan önceki kresentleri de yok ettiğini göstermişlerdir. Rapamisin tedavisinden sonra hücrel kresentlerin azaltılmasına yönelik mekanizmalar net olmamakla birlikte bu verilerin, kresentik glomerülonefritli hastaları içine alan rapamisin tedavisi için klinik bir perspektif önermekte olduğunu bildirmişlerdir. Sonuçta mTORC1 inhibisyonunun, kresentik glomerülonefritli hastaların tedavisinde terapötik değeri olabileceğini düşündürdüğünü bildirmişlerdir (154).

Kurayama R. ve ark. fareler üzerinde yaptığı deneysel bir çalışmada, mTORC1 sinyal yolağı ve L-tipi amino asit taşıyıcısının (LAT) memeli hedefinin potansiyel rolünü araştırmışlar ve deneysel olarak kresentik glomerülonefrit indüklenmiş farelerde, glomerüler parietal epitel hücrelerinde ve podositlerde, kresent oluşumundan önce mTORC1'in aktive olduğunu ve hücrelerin plazma zarındaki LAT2'nin fonksiyonel aktivitesinin, mTORC1 sinyal yolağını uyardığını göstermişler. Kresentik glomerülonefrit için terapötik ajanların olası bir adayı olarak everolimus'un doz ve zamana bağlı etkilerini araştırmak için daha fazla çalışma gerektiğini bildirmişlerdir (160).

Zhang ve ark. kresentik glomerülonefritli hastaların böbrek biyopsilerinde mTOR yolağının rolünü belirlemek için yaptığı bir çalışmada, hastalık gruplarının hepsinde kontrol grubuna göre renal tübüllerde, glomerulun parietal ve visseral epitelinde, mTOR ve p-p70S6K sinyal upregülasyonunun olduğunu göstermişler. Çeşitli böbrek hastalıklarının renal biyopsilerinde, glomerüler visseral ve parietal epitel ve renal tübüler epitelde, glomerulonefritlerin birçok tipinde artmış proliferatif aktiviteyi belirten önemli oranda artmış, mTOR aktivitesinin gözlendiğini, kresentlerde artmış fosforile mTOR ve p-p70S6K ekspresyonunun, mTOR inhibitörlerinin kresentik glomerülonefritte alternatif tedavi olarak kullanılabilme ihtimalini gösterdiğini belirtmişlerdir (143).

mTOR multi protein komplekslerinin, fibrotik interlökinler üzerine pozitif etkisi mevcut olup, Liand ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada mTOR'un rapamisin ile inhibisyonu sonucu, IL4, IL6, IL17 ve TGF- β ' nin azaldığı gösterilmiştir (161). PTEN molekülü ise Akt/PKB' yi inhibe ederek mTOR yolağını etkiler (162). Rapamisin renal fibrozisin ilerlemesini yavaşlatır ve diyabet dışındaki nedenlere bağlı kronik böbrek hastalığının (KBH) deneysel modellerinde böbrek yetmezliğinin başlamasını geciktirir (163). KBH'nın progresyonunu teşvik eden olaylar; glomerular hipertrofi, proinflamatuvar ve profibrotik sitokinlerin artan ekspresyonu, enflamatuvar hücreleri tarafından interstisyumun infiltrasyonu ve renal fibrozisi içerir. Sıçanlarda ilerleyici membranöz nefropati modeli olan Heymann nefritinde, rapamisin ile mTOR inhibisyonu glomerüler hipertrofiyi düzeltir, proinflamatuvar ve profibrotik sitokinlerin böbrekteki ekspresyonunu azaltmış, tübülointerstisyel inflamasyon ve fibrozis gelişimini yavaşlatmıştır. KBH ilerlemesi üzerine rapamisinin, beş ana yararlı etkisi glomerüler hipertrofinin azaltılması, proinflamatuvar ve profibrotik sitokinlerin üretiminin azaltılması, interstisyel inflamasyonun iyileştirilmesi, azalan fibroblast proliferasyonu ve epitel-mezenkimal transformasyon inhibisyonudur (163).

mTOR inhibitörlerinden sirolimus'un FKBP-12'ye afinitesi, everolimusa göre daha fazladır. T hücre uyarımında sinyal- 3 adı verilen yolu bloke ederler. mTOR inhibisyonu ile

de sitokin aracılı sinyal iletisini ve hücre bölünmesini, lenfositlerin sitokin ve büyüme faktörlerine olan yanıtlarını da bloke ederler. Yeni ribozomal protein sentezini inhibe ederek, hücreler bölünme siklusunun G1-S fazında dururlar. IL-2 ve IL-4 aracılı T ve B lenfosit proliferasyonu da engellenir. Bu inhibisyondan hem immün hem de nonimmün hücreler etkilenir. Fibroblast, endotel hücreleri, hepatositler ve düz kas gibi hücrelerin growth faktörlere (FGF, PDGF, VEGF, TGF-beta) olan yanıtlarını inhibe ederler (164).

Çalışmamızın kısıtlılıkları; retrospektif olarak renal biyopsilerin incelenmiş ve veri toplama için rutin klinik izlem bilgilerinin kullanılmış olması, immünohistokimyasal boyanma sırasında yaşanan teknik sorunlar ve hasta sayımızın kısıtlı olmasıdır.

Sonuç olarak, pauci-immün kresentik glomerülonefritli hastalarda mTOR yolağının aktif olduğunu ve hastalık patogeneğinde önemli olabileceğini ve mTOR inhibitörleri gibi alternatif tedavi seçeneklerinin tedavide kullanılabilmesi için daha geniş hasta katılımı, prospektif çalışmalara ihtiyaç olduğu kanısındayız.



KAYNAKLAR:

1. Jennette JC, Ravidly progressive crescentic glomerulonephritis. *Kidney Int* 2003;63: 1164-77
2. Chadban SJ, Atkins RC. Glomerulonephritis. *Lancet* 2005;365:1797
3. Jennette JC, Xiao H, Falk RJ. Pathogenesis of vascular inflammation by anti-neutrophil cytoplasmic antibodies, *J Am Soc Nephrol* 2006; 17:1235-42
4. Mukhtyar C, Guillevin L, Cid MC, et al. EULAR recommendations for the management of primary small and medium vessel vasculitis. *Ann Rheum Dis*. 2009;68:310-7.
5. Hauer HA, Bajema IM, Van Houwelingen HC, et al. Determinants of outcome in ANCA-associated glomerulonephritis: a prospective clinico-histopathological analysis of 96 patients. *Kidney Int*. 2002;62(5):1732-42.
6. Rastaldi MP, Ferrario F, Tunesi S, Yang L, D'Amico G. Intraglomerular and interstitial leukocyte infiltration, adhesion molecules and Interleukin-1 alpha expression in 15 cases of antineutrophil cytoplasmic autoantibody-associated renal vasculitis. *Am J Kidney Dis*. 1996;27(1):48-57.
7. Wilde B, Thewissen M, Damoiseaux J et al. Regulatory B cells in ANCA-associated vasculitis. *Ann Rheum Dis* 2013; 72: 1416-1419
8. Populo H, Lopes JM, Soares P. The mTOR signalling pathway in human cancer. *Int. J. Sci*. 2012;13:1886-1918.
9. Wu T, Mohan C. The AKT axis as a therapeutic target in autoimmune diseases. *Endocrine, Metabolic and Immune Disorders*. 2009;9(2)145-150.
10. Kriz W, Elger M. Essential Renal Anatomy and Physiology. In: Floege J, Johnson RJ, and Feehally J(eds). *Comprehensive Clinical Nephrology*. 4th edition. St. Louis, Missouri: Elsevier. 2010. 3-14.
11. Akoğlu E. , Glomerülonefritlerde hücrelerinin, sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin rolü, *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi/Official Journal of the Turkish Nephrology, Association* 1996;3:92-96
12. Couser WG. Rapidly progressive glomerulonephritis: Classification, pathogenetic mechanisms, and therapy. *Am J Kidney Dis* 1988; 11: 449-464.
13. Baldwin DS, Neugarten J, Feiner HD, et al. The existence of a protracted course in crescentic glomerulonephritis. *Kidney Int* 1987; 31: 790-794.
14. Jennette JC. Rapidly progressive crescentic glomerulonephritis. *Kidney Int* 2003; 63: 1164-1177.
15. Bonsib SM. Glomerular basement membrane necrosis and crescent organization. *Kidney Int* 1988; 33: 966-974.
16. Atkins RC, Nikolic-Paterson DJ, Song Q, et al. Modulators of crescentic glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7: 2271-2278.
17. Eisenberger U, Fakhouri F, Vanhille P, et al. ANCA-negative pauci-immune renal vasculitis: histology and outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 1392-1399.

18. Anganco R, Thiru S, Esnault VL, et al. Does truly “idiopathic” crescentic glomerulonephritis exist? *Nephrol Dial Transplant* 1994; 9: 630-636.
19. Kain R, Exner M, Brandes R, et al. Molecular mimicry in pauci-immune focal necrotizing glomerulonephritis. *Nat Med* 2008; 14: 1088-1096.
20. Zäuner I, Bach D, Braun N, et al. Predictive value of initial histology and effect of plasmapheresis on long-term prognosis of rapidly progressive glomerulonephritis. *Am J Kidney Dis* 2002; 39(1): 28-35.
21. Nikolic-Paterson DJ, Atkins RC. The role of macrophages in glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16 Suppl 5: 3-7.
22. Adler S, Brady HR. Cell adhesion molecules and the glomerulopathies. *Am J Med* 1999; 107: 371-386.
23. Khan SB, Cook HT, Bhargal G, et al. Antibody blockade of TNF-alpha reduces inflammation and scarring in experimental crescentic glomerulonephritis. *Kidney Int* 2005; 67: 1812-1820.
24. Tipping PG, Kitching PR, Huang XR, et al. Immune modulation with interleukin-4 and interleukin-10 prevents crescent formation and glomerular injury in experimental glomerulonephritis. *Eur J Immunol* 1997; 27(2): 530-537.
25. Border, WA, Noble, NA. Transforming growth factor in tissue fibrosis. *N Engl J Med* 1994; 331: 1286-1292.
26. Couser WG. Rapidly progressive glomerulonephritis: classification, pathogenetic mechanisms, and therapy. *Am J Kidney Dis. Jun 1988;11*
27. Falk RJ, Hogan S, Carey TS, et al. Clinical course of anti-neutrophil cytoplasmic autoantibody-associated glomerulonephritis and systemic vasculitis. The Glomerular Disease Collaborative Network. *Ann Intern Med. Nov. 1 1990; 113 (9): 656-63*
28. Guilpain P, Servettaz A, Goulvestre C, et al. Pathogenic effects of antimyeloperoxidase antibodies in patients with microscopic polyangiitis. *Arthritis Rheum.* 2007; 56: 2455–63.
29. Muller A, Trabandt A, Gloeckner-Hofmann K, et al. Localized Wegener’s granulomatosis: Predominance of CD26 and IFN-gamma expression. *J Pathol* 2000; 192: 113–20.
30. Abdulahad WH, Stegeman CA, Limburg PC, et al. Skewed distribution of Th17 lymphocytes in patients with Wegener's granulomatosis in remission. *Arthritis Rheum* 2008; 58: 2196–205.
31. Xiao H, Heeringa P, Liu Z, et al. The role of neutrophils in the induction of glomerulonephritis by antimyeloperoxidase antibodies. *Am J Pathol* 2005; 167: 39–45.
32. Nolan SL, Kalia N, Nash GB, et al. Mechanisms of ANCA-mediated leukocyte-endothelial cell interactions in vivo. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19: 973–84.
33. Wilde B, Thewissen M, Damoiseaux J et al. Regulatory B cells in ANCA-associated vasculitis. *AnnRheumDis* 2013; 72: 1416–1419
34. Free ME, Bunch DO, McGregor JA et al. Patients with antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis have defective Treg cell function exacerbated by the

presence of Kidneys and ANCA vasculitis diagnosis 349 by guest on July 22, 2015
<http://ckj.oxfordjournals.org/Downloadedfromsuppression-resistanteffectorcellpopulation>. *ArthritisRheum* 2013; 65: 1922–1933

35. Kallenberg CG. Pathogenesis of ANCA-associated vasculitis. *AnnRheumDis* 2011; 70: 59– 63
36. Kallenberg CG. Pathogenesis of ANCA-associated vasculitis, an update. *Clin Rev Allergy Immunol* 2011; 41: 224–231
37. vanTimmeren MM, Heeringa P. Pathogenesis of ANCA-associated vasculitis: recent in sights from animal models. *Curr Opin Rheumatol* 2012; 24: 8–14
38. Abdulahad WH, Lamphrecht P, Kallenberg CG. T-helper cells as new players in ANCA-associated vasculitides. *Arthritis Res Ther* 2011; 13: 236.
39. Turner JE, Paust HJ, Steinmetz OM, Panzer U. The Th17 immune response in renal inflammation. *Kidney Int* 2010; 77: 1070-1075.
40. Ooi JD, Kitching AR, Holdsworth SR. T helper 17 cells: their role in glomerulonephritis. *Nephrology* 2010; 15: 513-521.
41. Saito H, Tsurikisawa N, Tsuburai T, Oshikata C, Akiyama K. Cytokine production profile of CD4+ T cells from patients with active Churg-Strauss syndrome tends toward Th17. *Int Arch Allergy Immunol* 2009; 149 (Suppl 1): 61-65.
42. Dummer CD, Carpio VN, Gonçalves LF, Manfro RC, Veronese FV. FOXP3+ regulatory T cells: from suppression of rejection to induction of renal allograft tolerance. *Transpl Immunol* 2012; 26: 1-10.
43. Zhou L, Lopes JE, Chong MM, et al. TGF-beta-induced Foxp3 inhibits T (H) 17 cell differentiation by antagonizing RORgamma function. *Nature* 2008; 453: 236-240.
44. Paust HJ, Ostmann A, Erhardt A, et al. Regulatory T cells control the Th1 immune response in murine crescentic glomerulonephritis. *Kidney Int* 2011; 80: 154-164.
45. Jennette JC, Thomas DB. Crescentic glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant*. 2001;16:80–2.
46. Seo, P, Stone, JH. The antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitides. *Am J Med* 2004; 117: 39-50.
47. Falk, RJ, Hogan, S, Carey, TS, Jennette, JC. Clinical course of antineutrophil cytoplasmic autoantibody-associated glomerulonephritis and systemic vasculitis. The Glomerular Disease Collaborative Network. *Ann Intern Med* 1990; 113:656-63.
48. Jayne D. The diagnosis of vasculitis. *Best Practice & Research Clinical Immunology* 2009; 23: 445-53.
49. Daoud, MS, Gibson, LE, DeRemee, RA, et al. Cutaneous Wegener's granulomatosis: clinical, histopathologic, and immunopathologic features of thirty patients. *J Am Acad Dermatol* 1994; 31: 605-12.
50. Fechner, FP, Faquin, WC, Pilch, BZ. Wegener's granulomatosis of the orbit: a clinicopathological study of 15 patients. *Laryngoscope* 2002; 112:1945-50.

51. Garovic, VD, Clarke, BL, Chilson, TS, Specx, U. Diabetes insipidus and anterior pituitary insufficiency as presenting features of Wegener's granulomatosis. *Am J Kidney Dis* 2001; 37:E5.(abstract)
52. Lesavre P. ANCA; Diversity and Clinical Applications. *Advances in Nephrology*, 1993; 22: 237-267.
53. Wolfgang L. ANCA Associated Vasculitis Immunological and Clinical Aspects, New York, Gross Plenum Press, 1993.
54. Gross WL, Schmilt WH. Immunobiological Aspects, *Klinische Wochen Schriyt*. 1991; 6: 556-558.
55. Brian E, Jenette C. The pathogenic role of ANCA. *Am J Kid Dis*. 1991; 18: 188-195.
56. Özkaya N, Tumer N. Renal hastalıklarda antinötrofilik sitoplazmik antikorlar. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi/Office Journal of the Turkish Nephrology, Association* 1998;1:1-4
57. Jayne D. Update on the European Vasculitis Study Group trials *Curr Opin Rheumatol* 2001;13):48-55.
58. Chen M, Yu F, Wang SX, et al. Antineutrophil cytoplasmic autoantibody negative pauci-immune crescentic glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 599–605.
59. Levy JB, Turner AN, Rees AJ, Pusey CD. Long-term outcome of antiglomerular basement membrane antibody disease treated with plasma exchange and immunosuppression. *Ann Intern Med* 2001; 134:1033-42.
60. Bajema IM, Hagen EC, Hermans J, et al. Kidney biopsy as predictor for renal outcome in ANCA-associated necrotizing glomerulonephritis. *Kidney Int* 1999;56: 1751–8.
61. Hauer HA, Bajema IM, vanHouwelingenHC, et al: Renal histology in ANCA-associated vasculitis: Differences between diagnostic and serologic subgroups. *Kidney Int* 2002 :61; 80–9
62. Yang Q, Guan K-L. Expanding mTOR signaling. *Cell Res*. 2007;17(8):666-681. doi:10.1038/cr.2007.64.
63. Huang S HP. Targeting mTOR signaling for cancer therapy. *Curr Opin Pharmacol*. 2003;3(4):371-377. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Targeting+mTOR+signaling+for+cancer+therapy+huang+2003>.
64. Peterson TR, Laplante M, Thoreen CC, Sancak Y, Kang SA, Kuehl WM, Gray NS SD. DEPTOR is an mTOR inhibitor frequently overexpressed in multiple myeloma cells and required for their survival. *Cell*. 2009;137(5):873-886. doi:10.1016/j.cell.2009.03.046.
65. Hara K, Maruki Y, Long X, Yoshino K, Oshiro N, Hidayat S, Tokunaga C, Avruch J YK. Raptor, a binding partner of target of rapamycin (TOR), mediates TOR action. *Cell*. 2002;110(2):177-189.
66. Kim DH, Sarbassov DD, Ali SM, King JE, Latek RR, Erdjument-Bromage H, Tempst P SD. mTOR interacts with raptor to form a nutrient-sensitive complex that signals to the cell growth machinery. *Cell*. 2002;110(2):163-175.

67. Guertin DA, Stevens DM, Thoreen CC, et al. Ablation in mice of the mTORC components raptor, rictor, or mLST8 reveals that mTORC2 is required for signaling to Akt-FOXO and PKCalpha, but not S6K1. *Dev Cell*. 2006;11(6):859-871. doi:10.1016/j.devcel.2006.10.007.
68. Sancak Y, Thoreen CC, Peterson TR, et al. PRAS40 is an insulin-regulated inhibitor of the mTORC1 protein kinase. *Mol Cell*. 2007;25(6):903-915. doi:10.1016/j.molcel.2007.03.003.
69. Vander Haar E, Lee S-I, Bandhakavi S, Griffin TJ, Kim D-H. Insulin signalling to mTOR mediated by the Akt/PKB substrate PRAS40. *Nat Cell Biol*. 2007;9(3):316-323. doi:10.1038/ncb1547.
70. Frias MA, Thoreen CC, Jaffe JD, et al. mSin1 is necessary for Akt/PKB phosphorylation, and its isoforms define three distinct mTORC2s. *Curr Biol*. 2006;16(18):1865-1870. doi:10.1016/j.cub.2006.08.001.
71. Jacinto E, Facchinetti V, Liu D, et al. SIN1/MIP1 Maintains rictor-mTOR Complex Integrity and Regulates Akt Phosphorylation and Substrate Specificity. *Cell*. 2006;127(1):125-137. doi:10.1016/j.cell.2006.08.033.
72. Yang G, Murashige DS, Humphrey SJ, et al. A Positive Feedback Loop between Akt and mTORC2 via SIN1 Phosphorylation. *Cell Rep*. 2015;12(6):937-943. doi:10.1016/j.celrep.2015.07.016.
73. Limon JJ, Fruman DA. Akt and mTOR in B Cell Activation and Differentiation. *Front Immunol*. 2012;3:228. doi:10.3389/fimmu.2012.00228.
74. Richter JD, Sonenberg N. Regulation of cap-dependent translation by eIF4E inhibitory proteins. *Nature*. 2005;433(7025):477-480. doi:10.1038/nature03205.
75. Johnson SC, Rabinovitch PS, Kaerberlein M. mTOR is a key modulator of ageing and age-related disease. *Nature*. 2013;493(7432):338-345. doi:10.1038/nature11861.
76. Codogno P, Meijer AJ. Autophagy and signaling: their role in cell survival and cell death. *Cell Death Differ*. 2005;12 Suppl 2:1509-1518. doi:10.1038/sj.cdd.4401751.
77. Kim Y-M, Park J-M, Grunwald D, Kim D-H. An expanded role for mTORC1 in autophagy. *Mol Cell Oncol*. 2016;3(1):e1010958. doi:10.1080/23723556.2015.1010958.
78. Kim JE, Chen J. regulation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activity by mammalian target of rapamycin and amino acids in adipogenesis. *Diabetes*. 2004;53(11):2748-2756. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15504954>. Accessed July 24, 2016.
79. Porstmann T, Santos CR, Griffiths B, et al. SREBP activity is regulated by mTORC1 and contributes to Akt-dependent cell growth. *Cell Metab*. 2008;8(3):224-236. doi:10.1016/j.cmet.2008.07.007.
80. Li S, Oh Y-T, Yue P, Khuri FR, Sun S-Y. Inhibition of mTOR complex 2 induces GSK3/FBXW7-dependent degradation of sterol regulatory element-binding protein 1 (SREBP1) and suppresses lipogenesis in cancer cells. *Oncogene*. 2016;35(5):642-650. doi:10.1038/onc.2015.123.

81. Schieke SM, Phillips D, McCoy JP, et al. The mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway regulates mitochondrial oxygen consumption and oxidative capacity. *J Biol Chem.* 2006;281(37):27643-27652. doi:10.1074/jbc.M603536200.
82. Chen C, Liu Y, Liu R, et al. TSC-mTOR maintains quiescence and function of hematopoietic stem cells by repressing mitochondrial biogenesis and reactive oxygen species. *J Exp Med.* 2008;205(10):2397-2408. doi:10.1084/jem.20081297.
83. Bentzinger CF, Romanino K, Cloëtta D, et al. Skeletal muscle-specific ablation of raptor, but not of rictor, causes metabolic changes and results in muscle dystrophy. *Cell Metab.* 2008;8(5):411-424. doi:10.1016/j.cmet.2008.10.002.
84. Gedaly R. mTOR Signaling in Regulatory T Cell Differentiation and Expansion. *SOJ Immunol.* 2015;3(1). doi:10.15226/soji/3/1/00122.
85. Thomson AW, Turnquist HR, Raimondi G. Immunoregulatory functions of mTOR inhibition. *Nat Rev Immunol.* 2009;9(5):324-337. doi:10.1038/nri2546.
86. Yang K, Chi H. Tuning mTOR activity for immune balance. *J Clin Invest.* 2013;123(12):5001-5004. doi:10.1172/JCI73202.
87. Camps M, Rückle T, Ji H, et al. Blockade of PI3Kgamma suppresses joint inflammation and damage in mouse models of rheumatoid arthritis. *Nat Med.* 2005;11(9):936-943. doi:10.1038/nm1284.
88. Wang X, Yue P, Chan C-B, et al. Inhibition of mammalian target of rapamycin induces phosphatidylinositol 3-kinase-dependent and Mnk-mediated eukaryotic translation initiation factor 4E phosphorylation. *Mol Cell Biol.* 2007;27(21):7405-7413. doi:10.1128/MCB.00760-07.
89. Harding JJ, Abou-Alfa GK. Systemic therapy for hepatocellular carcinoma. *Chinese Clin Oncol.* 2013;2(4):37. doi:10.3978/j.issn.2304-3865.2013.07.06.
90. Hardie DG, Akman HO, Sampayo JN, et al. AMPK and SNF1: Snuffing Out Stress. *Cell Metab.* 2007;6(5):339-340. doi:10.1016/j.cmet.2007.10.001.
91. Inoki K, Li Y, Xu T, Guan K-L. Rheb GTPase is a direct target of TSC2 GAP activity and regulates mTOR signaling. *Genes Dev.* 2003;17(15):1829-1834. doi:10.1101/gad.1110003.
92. Wouters BG, Koritzinsky M. Hypoxia signalling through mTOR and the unfolded protein response in cancer. *Nat Rev Cancer.* 2008;8(11):851-864. doi:10.1038/nrc2501.
93. Arsham AM, Howell JJ, Simon MC. A novel hypoxia-inducible factor-independent hypoxic response regulating mammalian target of rapamycin and its targets. *J Biol Chem.* 2003;278(32):29655-29660. doi:10.1074/jbc.M212770200.
94. Liu L, Cash TP, Jones RG, Keith B, Thompson CB, Simon MC. Hypoxia-induced energy stress regulates mRNA translation and cell growth. *Mol Cell.* 2006;21(4):521-531. doi:10.1016/j.molcel.2006.01.010.
95. Bernardi R, Guernah I, Jin D, et al. PML inhibits HIF-1alpha translation and neoangiogenesis through repression of mTOR. *Nature.* 2006;442(7104):779-785. doi:10.1038/nature05029.

96. DeYoung MP, Horak P, Sofer A, SgROI D, Ellisen LW. Hypoxia regulates TSC1/2-mTOR signaling and tumor suppression through REDD1-mediated 14-3-3 shuttling. *Genes Dev.* 2008;22(2):239-251. doi:10.1101/gad.1617608.
97. Li W, Petrimpol M, Molle KD, Hall MN, Battegay EJ, Humar R. Hypoxia-induced endothelial proliferation requires both mTORC1 and mTORC2. *Circ Res.* 2007;100(1):79-87. doi:10.1161/01.RES.0000253094.03023.3f.
98. Guertin DA, Sabatini DM, Ackah E, et al. Defining the Role of mTOR in Cancer. *Cancer Cell.* 2007;12(1):9-22. doi:10.1016/j.ccr.2007.05.008.
99. Nicklin P, Bergman P, Zhang B, et al. Bidirectional transport of amino acids regulates mTOR and autophagy. *Cell.* 2009;136(3):521-534. doi:10.1016/j.cell.2008.11.044.
100. Sancak Y, Peterson TR, Shaul YD, et al. The Rag GTPases bind raptor and mediate amino acid signaling to mTORC1. *Science.* 2008;320(5882):1496-1501. doi:10.1126/science.1157535.
101. Roccaro AM, Sacco A, Husu EN, et al. Dual targeting of the PI3K/Akt/mTOR pathway as an antitumor strategy in Waldenstrom macroglobulinemia. *Blood.* 2010;115(3):559-569. doi:10.1182/blood-2009-07-235747.
102. Assinder SJ, Dong Q, Kovacevic Z, Richardson DR. The TGF-beta, PI3K/Akt and PTEN pathways: established and proposed biochemical integration in prostate cancer. *Biochem J.* 2009;417(2):411-421. doi:10.1042/BJ20081610.
103. Heit B, Robbins SM, Downey CM, et al. PTEN functions to "prioritize" chemotactic cues and prevent "distraction" in migrating neutrophils. *Nat Immunol.* 2008;9(7):743-752. doi:10.1038/ni.1623.
104. Blüml S, Sahin E, Saferding V, et al. Phosphatase and tensin homolog (PTEN) in antigen-presenting cells controls Th17-mediated autoimmune arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2015;17:230. doi:10.1186/s13075-015-0742-y.
105. Xu J, Lamouille S, Derynck R. TGF-beta-induced epithelial to mesenchymal transition. *Cell Res.* 2009;19(2):156-172. doi:10.1038/cr.2009.5.
106. Lamouille S, Connolly E, Smyth JW, Akhurst RJ, Derynck R. TGF-β-induced activation of mTOR complex 2 drives epithelial-mesenchymal transition and cell invasion. *J Cell Sci.* 2012;125(Pt 5):1259-1273. doi:10.1242/jcs.095299.
107. Zhang L, Zhou F, ten DP. Signaling interplay between transforming growth factor-β receptor and PI3K/AKT pathways in cancer. *Trends Biochem Sci.* 2013;38(12):612-620. doi:10.1016/j.tibs.2013.10.001.
108. Feng Z, Zhang H, Levine AJ, Jin S. The coordinate regulation of the p53 and mTOR pathways in cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(23):8204-8209. doi:10.1073/pnas.0502857102.
109. Lee D-F, Kuo H-P, Chen C-T, et al. IKKbeta suppression of TSC1 function links the mTOR pathway with insulin resistance. *Int J Mol Med.* 2008;22(5):633-638. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18949383>. Accessed July 24, 2016.
110. Yang Q, Guan KL. Expanding mTOR signaling. *Cell Research,* 2007; 17:666-81.
111. Chen J, Zheng XF, Brown EJ, Schreiber SL. Identification of an 11-kDa FKBP12-rapamycinbinding domain within the 289-kDa FKBP12-rapamycin-associated protein

- and characterization of a critical serine residue. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995; 92:4947-51.
112. Kunz J, Hall MN. Cyclosporin A, FK506 and rapamycin: more than just immunosuppression. *Trends Biochem Sci*, 1993; 18:334-8.
 113. Choi J, Chen J, Schreiber SL, Clardy J. Structure of the FKBP12-rapamycin complex interacting with the binding domain of human FRAP. *Science*, 1996; 273:239-42
 114. Helliwell SB, Wagner P, Kunz J, Deuter-Reinhard M, Henriquez R, Hall MN. TOR1 and TOR2 are structurally and functionally similar but not identical phosphatidylinositol kinase homologues in yeast. *Mol Biol Cell*, 1994; 5:105-18.
 115. Jacinto E, Loewith R, Schmidt A, Lin S, Rugg MA, Hall A, Hall MN. Mammalian TOR complex 2 controls the actin cytoskeleton and is rapamycin insensitive. *Nature Cell Biology*, 2004; 6:1122-8.
 116. Banaszynski LA, Liu CW, Wandless TJ. Characterization of the FKBP.rapamycin.FRB ternary complex. *J Am Chem Soc*, 2005; 127:4715-21.
 117. Kim DH, Sarbassov DD, Ali SM, King JE, Latek RR, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Sabatini DM. mTOR interacts with raptor to form a nutrient-sensitive complex that signals to the cell growth machinery. *Cell*, 2002; 110:163-75.
 118. Zhou H, Luo Y, Huang S. Updates of mTOR inhibitors. *Anticancer Agents Med Chem*, 2010; 10(7):571-81.
 119. Akbaba P. Rapamisin'in Ratlarda Deneysel Olarak Oluşturulan İnteraabdominal Adezyonların Gelişimi Üzerine Etkisi. Uzmanlık Tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2. Genel Cerrahi Kliniği, İstanbul, 2006.
 120. Saemann MD, Haidinger M, Hecking M, Horl WH, Weichhart T. The multifunctional role of mTOR in innate immunity: implications for transplant immunity. *American Journal of Transplantation: Official Journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*, 2009; 9:2655-61.
 121. Gomez-Cambronero J, Horn J, Paul CC, Baumann MA. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor is a chemoattractant cytokine for human neutrophils: involvement of the ribosomal p70 S6 kinase signaling pathway. *Journal of Immunology*, 2003; 171:6846-55.
 122. Kim MS, Kuehn HS, Metcalfe DD, Gilfillan AM. Activation and function of the mTORC1 pathway in mast cells. *Journal of Immunology*, 2008; 180:4586-95.
 123. Lorne E, Zhao X, Zmijewski JW, Liu G, Park YJ, Tsuruta Y, Abraham E. Participation of Mammalian Target of Rapamycin Complex 1 in Toll-Like Receptor 2- and 4-Induced Neutrophil Activation and Acute Lung Injury. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2009; 41:237-45.
 124. Dong J, Jimi E, Zhong H, Hayden MS, Ghosh S. Repression of gene expression by unphosphorylated NF-kappaB p65 through epigenetic mechanisms. *Genes Dev*, 2008; 22:1159-73.
 125. Nowak DE, Tian B, Jamaluddin M, Boldogh I, Vergara LA, Choudhary S, Brasier AR. RelA Ser276 phosphorylation is required for activation of a subset of NF-kappaB-

- dependent genes by recruiting cyclin-dependent kinase 9/cyclin T1 complexes. *Mol Cell Biol*, 2008; 28:3623-38.
126. Wei L, Zhang P. Up-regulated mTOR Pathway Indicates Active Disease in Both Human Native and Transplant Kidneys, *Annals of Clinical & Laboratory Science*, vol. 43, no. 4, 2013;378-387
 127. Huang S, Houghton PJ. Resistance to rapamycin: a novel anticancer drug. *Cancer Metastasis Rev*, 2001; 20:69-78.
 128. Harada H., Andersen JS.; Mann M.; Terada N.; Korsmeyer, SJ. p70S6 kinase signals cell survival as well as growth, inactivating the pro-apoptotic molecule BAD; *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001. p. 9666-70.
 129. Wang L, Proud CG. Ras/Erk signalling is required for regulation of translation factors linked to mTOR and protein synthesis by hypertrophic agents in cardiomyocytes. *Circ Res*, 2002; 91:821-9.
 130. Manning BD, Cantley LC. AKT/PKB signaling: navigating downstream. *Cell*, 2007; 129(7):126174.
 131. Floege J, Feehally J, Johnson RJ, *Comprehensive Clinical Nephrology*, Forth Edition, Elsevier Chapter 97, Immunosuppressive Medications in Kidney Transplantation ,2010, P-1134-41
 132. Howard J. Eisen, M.D., E. Murat Tuzcu, M.D., Richard Dorent, M.D., Jon Kobashigawa, M.D., Donna Mancini, M.D., Hannah A. Valantine-von Kaeppler, M.D., Randall C. Starling, M.D., M.P.H., Keld Sorensen, M.D., Manfred Hummel, M.D., Joan M. Lind, B.S., Kamal H. Abeywickrama, Ph.D., and Peter Bernhardt, Ph.D. for the RAD B253 Study Group. Everolimus for the Prevention of Allograft Rejection and Vasculopathy in Cardiac-Transplant Recipients. *N Engl J Med* 2003; 349:847-858
 133. Spilman P, Podlitskaya N, Hart MJ, Debnath J, Gorostiza O, Bredesen D, Richardson A, Strong R, Galvan V. Inhibition of mTOR by rapamycin abolishes cognitive deficits and reduces amyloid-beta levels in a mouse model of Alzheimer's disease. *Plos One*, 2010; 5:e9979.
 134. Ravikumar B, Vacher C, Berger Z, Davies JE, Luo S, Oroz LG, Scaravilli F, Easton DF, Duden R, O'Kane CJ. Inhibition of mTOR induces autophagy and reduces toxicity of polyglutamine expansions in fly and mouse models of Huntington disease. *Nature Genetics*, 2004; 36:585-95.
 135. James C, Yao M.D, Manisha H, et al. Everolimus for Advanced Pancreatic Neuroendocrine Tumors *N Engl J Med* 2011; 364:514-523
 136. José B, Mario C, Martine P, et al. Everolimus in Postmenopausal Hormone Receptor–Positive Advanced Breast Cancer *N Engl J Med* 2012; 366:520-529)
 137. Tongyu L, Jun Z, Kamal B et al. PILLAR-2: A randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III study of adjuvant everolimus in poor-risk diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). 2012 ASCO Annual Meeting Category: Lymphoma and Plasma Cell Disorders. Session Type and Session Title: General Poster Session, Lymphoma and Plasma Cell Disorders. Abstract No: TPS8118
 138. PL Zhang, F Dumber, MT Rooney, W Li. William Beaumont Hospital, Royal Oak, MI. Upregulated mTOR Pathway in Primary Crescentic Glomerulonephritis, 2012,

139. Bajema I M, Pathological classification of anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA)- associated glomerulonephritis. *Clin Exp Immunol*. 2011 May; 164(Suppl 1): 14–16. doi: 10.1111/j.1365-2249.2011.04359.x
140. Grande JP. Mechanisms of progression of renal damage in lupus nephritis: pathogenesis of renal scarring. *Lupus*. 1998;7(9):604-10.
141. Aydın K, Demir G Ö. İleri Evre Mide Kanserli Hastalarda mTOR Durumunun Sağkalım ve Tümör Karakteristikleri ile İlişkisi. *Acta Oncologica Turcica*. 2014 Sayı 2; 16-22. DOI: 10.5505/aot.2014.25733
142. Sakr RA, Barbashina V, Morrogh M, et al. Protocol for PTEN expression by immunohistochemistry in formalin-fixed paraffin-embedded human breast carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2010;18(4):371-374. doi:10.1097/PAI.0b013e3181d50bd5.
143. Al-Qazzaz H, Sarkis S. Immunohistochemical expression of TGF- β in relation to invasion potential evaluated by MMP-2 in oral squamous cell carcinoma. *J Bagh Coll Dentistry* 2012; 24(4):62-66).
144. Jennette, J. Charles, Alice S. Wilkman, and Ronald J. Falk. Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibody-associated glomerulonephritis and vasculitis. *The American journal of pathology* 135.5 (1989): 921.
145. Hung, P. H., Chiu, Y. L., Lin, W. C., Chiang, W. C., Chen, Y. M., Lin, S. L., Tsai T. J. Poor renal outcome of antineutrophil cytoplasmic antibody negative pauci-immune glomerulonephritis in Taiwanese. *Journal of the Formosan Medical Association*, 2006, 105(10), 804-812.
146. Hedger N, Stevens J, Drey N, et al. Incidence and outcome of pauciimmune rapidly progressive glomerulonephritis in Wessex, UK: a 10year retrospective study. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 1593-9.
147. Harris AA, Falk RJ, Jennette JC. Crescentic glomerulonephritis with a paucity of glomerular immunoglobulin localization. *Am J Kidney Dis* 1998; 32: 179-84
148. Chen M, Yu F, Wang SX, et al. Antineutrophil cytoplasmic autoantibody negative pauci-immune crescentic glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 599–605.
149. Wang F, Chen M, Zhao M. Neutrophil degranulation in antineutrophil cytoplasmic antibodies negative pauci-immune crescentic glomerulonephritis. *JNephrol* 2009; 22: 491-496
150. Cid MC, Segarra M, García-Martínez A, et al. Endothelial cells, antineutrophil cytoplasmic antibodies, and cytokines in the pathogenesis of systemic vasculitis. *Curr Rheumatol Rep* 2004; 6: 184-194.
151. Cockwell P, Brooks C J, Adu D, et al. Interleukin-8: a pathogenetic role in antineutrophil cytoplasmic autoantibodyassociated glomerulonephritis. *Kidney Int* 1999; 55: 852-863.
152. Sezer S, Düzgün N. Glomerülonefritlerde anti nötroflik sitoplazmik antikor (ANCA) sıklığı ve önemi.1996, *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* 49.02

153. Lieberthal W, Levine JS. Mammalian target of rapamycin and the kidney. II. Pathophysiology and therapeutic implications. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2012; 303:180-91.
154. Mao J, Zeng Z, Xu Z, Li J, Jiang L, Fang Y, Dai C. Mammalian target of rapamycin complex 1 activation in podocytes promotes cellular crescent formation. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 2014, 307(9), F1023-F1032.
155. Villa-Forte, A, Clark, TM, Gomes, M, et al. Substitution of methotrexate for cyclophosphamide in Wegener granulomatosis: a 12-year single-practice experience. *Medicine (Baltimore)* 2007; 86:269.
156. Mokrzycki, MH, Kaplan, AA. Therapeutic plasma exchange: Complications and management. *Am J Kidney Dis* 1994; 23:817.
157. van Wijngaarden, R. A. D. L., Hauer H A, Wolterbeek R, Jayne D. R, Gaskin G, Rasmussen N, Bruijn, J. A. (2006). Clinical and histologic determinants of renal outcome in ANCA-associated vasculitis: a prospective analysis of 100 patients with severe renal involvement. *Journal of the American Society of Nephrology*, 17(8), 2264-2274.
158. Gans RO, Kuizinga MC, Goldschmeding R, et al. Clinical features and outcome in patients with glomerulonephritis and antineutrophil cytoplasmic autoantibodies. *Nephron* 1993;64:182–8.
159. Bruns FJ, Adler S, Fraley DS, Segel DP. Long-term follow-up of aggressively treated idiopathic rapidly progressive glomerulonephritis. *Am J Med* 1989; 86: 400.
160. Kurayama R, Ito N, Nishibori Y, Fukuhara D, Akimoto Y, Higashihara, Kanai Y. Role of amino acid transporter LAT2 in the activation of mTORC1 pathway and the pathogenesis of crescentic glomerulonephritis. *Laboratory Investigation*, 2011, 91(7), 992-1006.
161. Liang M, Lv J, Chu H, et al. Vertical inhibition of PI3K/Akt/mTOR signaling demonstrates in vitro and in vivo anti-fibrotic activity. *Journal of Dermatological Science* 2014;76: 104-111.
162. Sarbassov DD, Ali SM, Sabatini DM. Growing roles for the mTOR pathway. *Curr Opin Cell Biol.* 2005 Dec;17(6):596-603
163. Lieberthal, Wilfred, Jerrold S. Levine. The role of the mammalian target of rapamycin (mTOR) in renal disease. *Journal of the American Society of Nephrology* 20.12 (2009): 2493-2502.
164. Floege J, Feehally J, Johnson RJ, *Comprehensive Clinical Nephrology*, Forth Edition, Elsevier Chapter 97, Immunosuppressive Medications in Kidney Transplantation ,2010: P-1134-41.