

T.C.  
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**LUPUS NEFRİTİ VE MEMBRANOPROLİFERATİF  
GLOMERÜLONEFRİTLERDE APOPTOZ VE  
PCNA (PROLIFERATING CELL NUCLEAR ANTİGEN)**

**İ.B. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

**T 91826**

**TEZ YÖNETİCİSİ  
Prof. Dr. Saim PAYDAŞ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Sinan KIRIM**

**ADANA-2000**

**Uzmanlık tezimin hazırlanması sırasında büyük emeği geçen Prof. Dr. Saime Paydaş'a ve Nefroloji Bilim Dalı çalışanlarına, çalışmalarımız esnasında yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Gölfiliz Gönluşen'e ve nezdinde tüm Patoloji Ana Bilim Dalı çalışanlarına, ben de apoptoz çalışma düşünceinin oluşmasında katkılarından dolayı Prof. Dr. Semra Paydaş'a teşekkür ederim. Bu alışma Çukurova Üniversitesi Rektörlüğü tarafından maddi olarak desteklenmiştir.**

**Dr. Sinan KIRIM**

## İÇİNDEKİLER

### Sayfa No.

TABLO LİSTESİ.....	II
ŞEKİL LİSTESİ.....	III
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	V
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Sistemik lupus eritematozus.....	2
2.2. Lupus nefriti.....	5
2.3. Membranoproliferatif glomerülonefrit.....	12
2.4. Apoptoz.....	15
2.5. Apoptozun böbrek hastalıklarındaki rolü.....	21
2.6. PCNA (Proliferating cell nuclear antigen).....	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	23
4. BULGULAR.....	28
5. TARTIŞMA.....	49
6. SONUÇ.....	53
7.KAYNAKLAR.....	54

## TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No.</u>
Tablo I: Lupus nefriti sınıflaması	10
Tablo II: Lupus nefritinin histolojik tiplerinin klinik bulguları ve prognozu	12
Tablo III: Erişkinlerde MPGN'in tedavi şeması	13
Tablo IV: Apoptoz ile nekroz arasındaki bazı temel farklar	16
Tablo V: Apoptozun bazı hücre içi ve dışı sinyalleri	17
Tablo VI: G1 ve G2'de bir yıllık izlemde yüksek ve düşük PCNA ve kreatinin klirensi olan hasta sayıları	32
Tablo VII: G1 ve G2'de bir yıllık izlemde yüksek ve düşük PCNA ve proteinürisi olan hasta sayıları	33
Tablo VIII: G1 ve G2'de bir yıllık izlemde yüksek ve düşük apoptoz ve kreatinin klirensi olan hasta sayıları	34
Tablo IX: G1 ve G2'de bir yıllık izlemde yüksek ve düşük apoptoz ve proteinürisi olan hasta sayıları	35
Tablo X: Lupus nefritli hastalarda kan basıncı, böbrekte apoptoz, aktivite-kronisite indeksleri ve PCNA değerleri.	37
Tablo XI: MPGN'li hastalarda kan basıncı ile böbrekte apoptoz ve PCNA değerleri.	38
Tablo XII: Lupus nefritli hastaların başlangıçtaki yaş, total kolesterol (total kol.), trigliserit, antiDNA antikolları, proteinüri, BUN, total protein (T.prot.), albümin, kreatinin klirensi (Krea.kli.) ve hematokrit (Htc.) değerleri.	39
Tablo XIII: MPGN'li hastaların yaş, hematokrit (Htc.), total kolesterol (T.kol.), trigliserit (Trg.), proteinüri (E.), BUN, kreatinin (K.), total protein (T.pro.), albümin (Alb.), kreatinin klirensi (K.kl.) değerleri.	40

## ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No.</u>
Şekil 1. Glomerül yumağında apoptag ile (+) boyanan apoptotik hücreler (x 400) (MPGN)	41
Şekil 2. Lupus nefriti klas IV bir olguda glomerül yumağında apoptag ile (+) boyanan apoptotik hücre (x 400)	41
Şekil 3. İnterstisyumda apoptag ile (+) boyanan tübül epitelleri (x 400)	42
Şekil 4. Tübül epitelinde apoptag ile (+) boyanan apoptotik hücreler (x 400) (SLE)	42
Şekil 5. Tübül lümeninde apoptag ile (+) boyanan apoptotik hücre (x 400) (SLE)	43
Şekil 6. Glomerülde ve tübülilerde apoptag boyaması (travma ) (x 400)	43
Şekil 7. Glomerül yumağı ve interstisyumda PCNA (+) hücreler (x 400) (MPGN)	44
Şekil 8. İnterstisyumda tübül epitellerinde PCNA (+)'liği (x 400) (SLE)	44
Şekil 9. MPGN'li hastaların başvuruda ve bir yıllık izlemde kreatinin klirensinin dizinlenmiş değerlerine göre hasta sayıları	45
Şekil 10. Lupus nefritli hastaların başvuruda ve bir yıllık izlemde kreatinin klirensinin dizinlenmiş değerlerine göre hasta sayıları	45
Şekil 11. MPGN'li hastaların başvuruda ve bir yıllık izlemde proteinüri düzeyinin dizinlenmiş değerlerine göre hasta sayıları	46
Şekil 12. Lupus nefritli hastaların başvuruda ve bir yıllık izlemde proteinüri düzeylerinin dizinlenmiş değerlerine göre hasta sayıları	46
Şekil 13. MPGN'li hastaların başvuruda ve bir yıllık izlemde kan basıncı değerlerine göre hasta sayıları	47
Şekil 14. Lupus nefritli hastaların başvuruda ve bir yıllık izlemde kan basıncı değerlerine göre hasta sayıları	47
Şekil 15. Lupus nefritli hastaların başvuruda ve bir yıllık izlemde bazı laboratuvar bulguları	48
Şekil 16. MPGN'li hastaların başvuruda ve bir yıllık izlemde bazı laboratuvar bulguları	48

## ÖZET

Apoptoz son yıllarda iyi tanımlanmış olan nekrozdan farklı bir hücre ölümü tipidir. Embriyodan ölüme kadar organizmada sürekli devam eder. Böbrek hastalıklarındaki rolü henüz açıklık kazanmamıştır. PCNA ise normal hücre bölünmesi esnasında her dokuda görülen bir polipeptidtir. Proliferasyonun bir göstergesi olarak kullanılmaktadır.

Çalışmamızda lupus nefriti ve MPGN'li hastaların böbrek biyopsisinde PCNA ve apoptoz düzeylerini belirlemeye çalıştık. Bu hastaların bir yıllık klinik izlemlerini inceleyerek klinik gidiş ile apoptoz ve PCNA düzeyleri ile ilişkisi olup olmadığını ortaya koymayı amaçladık. Glomerülo nefritin olmadığı, travma nedeniyle yapılan nefrektomi materyallerinde de apoptoz düzeyini gözlemlemeye çalıştık. Bu amaçla Çukurova Üniversitesi Nefroloji Bilim Dalında böbrek biyopsisiyle, lupus nefriti ve MPGN tanısı almış hastaların biyopsi örnekleri tekrar gözden geçirilerek yeterli doku bulunan 21 lupus nefritli ve 18 MPGN'li hasta çalışmaya alındı. Tüm olguların dosyaları taranarak bir yıllık klinik izlemleri çıkarıldı. Lupus nefritli olguların aktivite ve kronisite indeksleri değerlendirildi. Biyopsilere PCNA boyası ve apoptoz için apoptag boyası (TUNEL metodu ile) uygulandı. Glomerüllerde, tübülüslerde ve interstisyumdaki düzeylerini belirledik. Apoptoz ve PCNA düzeyleri her iki hastalık grubu karşılaştırıldığında önemli bir fark göstermedi. Lupus nefritlilerde daha çok olmak üzere, her iki grupta da PCNA düzeyleri yüksek olan hastalarda klinik izlemde proteinüride azalma belirgin olarak artmıştı. Bir yıllık izlem esnasında son dönem böbrek hastalığına gidiş MPGN grubunda görüldü. Lupus nefriti grubunda tübülüs ve interstisyumdaki PCNA düzeyleri aktivite indeksi ile paralellik gösteriyordu. Travmalı olgularda apoptotik hücre görmedik.

Bu çalışma sonucunda proliferatif nefritlerde PCNA düzeylerinin arttığı ve MPGN'li ve lupus nefritli hastalarda PCNA değerlerinin prognozu belirlemede önemli olabileceği söylenebilir.

**Anahtar sözcükler:** Lupus nefriti, MPGN, apoptoz, PCNA

## **ABSTRACT**

### **APOPTOSIS AND PCNA ( PROLIFERATING CELL NUCLEAR ANTIGEN) IN LUPUS NEPHRITIS AND MPGN (MEMBRANOPROLIFERATIVE GLOMERULONEPHRITIS)**

Apoptosis is a type of cell death that is different than necrosis and well defined in recent years. Apoptosis continues in the organism from embriyo to death. Role of apoptosis in renal diseases is not clearly understood. PCNA is a polypeptide a found in every tissue during cell division. It is a marker of proliferation.

In our study, we aimed to determine PCNA and apoptosis levels in renal biopsies of patients with lupus nephritis and MPGN. We followed the patients for one year time and we observed the relationship between the clinical course and apoptosis and PCNA levels. We also aimed to observe apoptosis levels in nefrectomy materials in which there is no glomerulonephritis but done due to trauma. Biopsy specimens of patients with the diagnosis of lupus nephritis and MPGN in Çukurova Üiversity Nephrology Department were examined and 21 patients with lupus nephritis and 18 patients with MPGN patients included in the study. We collected the clinical observation of all patients from for the last year clinical files. We evaluated activity and chronicity indexes of cases with lupus nephritis. Biopsies were treated with PCNA dye and Apoptag dye for apoptosis (with TUNEL method). We determined the levels in glomerules, tubules and interstitium. When we considered the two groups of diseases, apoptosis and PCNA levels weren't significantly different. In both groups, but more in lupus nephritis, proteinuria decreased during the clinical course in patients with high PCNA levels. Progression to end stage renal disease is seen in MPGN group. In lupus nephritis group PCNA levels were paralel with activity indexes in tubules and interstitium. We didn't observe any apoptotic cell in trauma cases.

As a conclusion, PCNA levels increase in proliferative nephritis and PCNA levels are important for determination of prognosis of MPGN and lupus nephritis patients.

**Key words:** Lupus nephritis, MPGN, apoptosis, PCNA

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Apoptoz eski Yunanca'da sonbaharda sararıp düşen yaprakların ifade edilmesi için kullanılmıştır. Son yıllarda önemi ve içeriği anlaşılmaya başlanmıştır. Pek çok fizyolojik ve patolojik olayda temel rol oynamaktadır. 1972 yılında Kerr ve arkadaşları apoptozu tanımlamış ve fizyopatolojik olaylardaki önemini ortaya koymuşlardır. Apoptoz dokuların hücre sayısı açısından dengesinin sağlanmasında temel fizyolojik süreçtir. Embriyonun gelişmesinden, kanser patogeneze kadar tüm canlı hücrelerin etkilendiği bir durumdur. Apoptozun en önemli özelliği enerji gerektirmesi ve inflamasyona neden olmamasıdır. Hasar gören hücrenin tamir edilip yaşamının devamı ya da ölümü apoptoz yoluyla sağlanmaktadır. Ölüm kararının hücreye hayat veren DNA'da olması ve hücre ölümü için yeni gen yapımının gerekliliği (intihar) dikkat çekici bir durumdur.

Sistemik lupus eritematozus'da böbrek tutulumu önemli bir mortalite ve morbidite nedenidir. Bazı hastalarda, hastalık nefrit ile başlayabilmektedir. Klinik olarak aşikar nefrit olmadığında bile hastalığın seyrinde böbrekte patolojik bulgular saptanabilir. Lupus nefritinde temel hasar nedenlerinden biri de hücresel proliferasyondur. Proliferasyonun ön planda olduğu histolojik tipler de klinik tablonun daha ağır seyrettiği bilinmektedir. Glomerüllerde normalde hücre miktarındaki değişimler oldukça sınırlıdır. Çeşitli çalışmalarda böbrek hastalıklarında apoptoz değerlendirilmiştir. Çok çeşitli sonuçlar elde edilmiş olup bu sonuçların bir kısmı da birbirleriyle çelişmektedir. Bazı araştırmacılar apoptozun; proliferasyonun iyileşme sürecinde görüldüğünü öne sürmüşlerdir. Bazıları ise kronik böbrek yetersizliğinin temel nedeni olan fibroz doku oluşmasında apoptozu suçlamışlardır. Apoptoz glomerüllerde, interstisyum ve tübülüslerde oluşmaktadır. Apoptozun; patogeneze, prognozda ve tedavideki yeri henüz tam olarak anlaşılammıştır.

Çalışmamızda diffüz proliferatif lupus nefritinde ve proliferasyonun ön planda olduğu bir glomerülonefrit olan membranoproliferatif glomerülonefritde hücre kaybının bir göstergesi olan apoptoz ve proliferasyonun göstergesi olan PCNA (Proliferating cell nuclear antigen) miktarlarını değerlendirdik. MPGN ve lupus nefritli hastalarda böbrek biyopsisinde histopatolojik bulguların yanısıra apoptoz ve PCNA artışıyla, klinik bulgular ve tedaviye yanıt arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Sistemik Lupus Eritematozus

Sistemik lupus eritematozus, etyolojisi tam olarak bilinmeyen, immünolojik bozukluklar sonucu oluşan, kronik, iltihabi ve sistemik bir hastalıktır (42). Romatizmal hastalıkların “diffüz bağ dokusu hastalıkları (kollajenözler)” grubunda yer alır.

İlk kez 1230 yılında Rogerius tarafından yüzde tekrarlayan, eritemli ve ülserasyonlu bir cilt hastalığının tanımı için kullanılmıştır (61). On üçüncü yüzyıl ile 19. yüzyıl arasında yüzde eritemle giden her hastalık “lupus” ile başlayan bir isim almaya başlamıştır. Literatürde ilk olgu 1838 yılında Cazenave tarafından belirtilmiştir (61). 1872 yılında Kaposi yüzde bu şekilde eritem yapan hastalığın akut ve kronik şekillerini tarif etmiş ve 1895’de Osler bu hastalığın sistemik özellikleri ile alevlenme ve remisyonlarını tanımlamıştır (42). 1948’de Hargraves LE hücresini tarif etmiştir ve böylece antinükleer antikor kavramı oluşarak immünfloresan mikroskopi yöntemi ile 1957’de Frio tarafından gösterilmesi mümkün olmuştur (20).

Tüm ülkelerde ve ırklarda görülebilmekle beraber farklı yörelerde prevalansı değişmektedir. Güney Asya ve Çin’de siktir. Afrika’da zenciler arasında seyrek görülmesine rağmen ABD’de yaşayan zencilerde, beyazlardan 3-4 kat daha fazla görülür (42). Şehirde yaşayanlarda kırsal kesime göre daha fazla görülür (62). Kadınlarda 6-9 kat daha sık görülür ancak çocukluk çağında bu oran daha düşüktür (61). Hastalık en çok 16-25 yaşlar arasında başlar ve tanı konduğu esnada yaş ortalaması 30’dur. Özetle; yaş, cinsiyet, ırk, coğrafik özellikler ve sosyo-ekonomik koşullar prevalans ve insidansına etki eder.

Genetik, çevresel ve hormonal faktörlerin rolü sonucu, humoral ve hücreli immün cevapta bozukluklar oluşmakta ve antikorlar ile immün kompleksler dolaşımdan yeterli düzeyde temizlenememektedir (42). Monozigot ikizlerde hastalık birlikteliği % 30 iken, dizigot olanlarda %5’tir (27). Ailesel sıklık da vardır. SLE’lu olguların % 12’sinde aile bireyleri arasında da hastalık görülür (42). HLA sınıf II ve III bölgelerinde bulunan bazı genler göreceli riski artırmakta ve bu genlerin beraberce bulunması riski daha da fazlalaştırmaktadır (42). Ayrıca kompleman gen defektleri, Fc reseptör IIA ve T hücresi reseptör genleri gibi HLA dışı genlerde rol oynamaktadır (20). HLA molekülleri, antijenik peptidler ve T hücre reseptörü ile antijenik tanınmanın temel unsurudur (26).

Çevresel faktörlerden en çok infeksiyonlar suçlanmış olmasına rağmen, kesin olarak gösterilebilen bir ajan yoktur. Enterik bakterilerin hücre duvarındaki fosfolipidler, poliklonal B hücreleri aktive etmektedir (42). Moleküler taklit yolu ile de lupus genlerini aktive edebilirler (61). Fazla güneş alan bölgelerde hastalık daha sık görülür. Ultraviyole (U.V.) ışınlar özellikle de 290-320 nm dalga boyunda olanlar sorumlu tutulmuştur. Işığa fazlaca maruz kalma hastalık seyriinde alevlenmeler yapmaktadır (27). U.V. ışını keratinositlerden çeşitli mediyatörlerin salınımını artırmakta, dermo-epidermal bileşkeyi etkilemekte ve DNA yapısını bozmaktadır (20). L-canavanine, makak maymunlarında lupus oluşturmaktayken, insanlarda bu etki görülmemiştir (61). Prokainamid, hidralazin, difenilhidatoin ve izoniazid gibi bazı ilaçlar antinökleer antikor oluşmasına ve lupus benzeri hastalık gelişmesine neden olabilirler. Bu ilaçlar ve metabolitleri reaktif aromatik amin ve hidrazin grubu içerirler (20). Psikolojik stres veya fiziksel travma % 15 vakada tetiği çeken faktördür (61).

Hastalığın, kadınlarda özellikle de doğurganlık çağındaki kadınlarda, sık görülmesi, ayrıca doğum sonu dönemde ya da gebelikte alevlenmeler olması, hormonal faktörlere dikkati çekmiştir. Östrojenler; B hücrelerin antikor yapımını ve T hücrelerinin antijenik uyarıya yanıtını artırırken, immün komplekslerin temizlenmesini yavaşlatırlar. Östrojenler apoptozisi engelleyerek otoimmün hücre klonlarının ömrünü uzatabilir (61). Östrojen ve östronun 16- $\alpha$ -hidroksiöstrona hidroksilasyonu artar ve sonuç olarak östrojenik uyarı uzar (42).

SLE; immün düzenlenmede bozukluk, anormal T hücre fonksiyonu, B hücre hiperaktivasyonu ve aşırı antikor yapımı ile karakterizedir (20). Hastalığın özellikle aktif dönemlerinde, T4 (yardımcı) hücreler artar ve T8 (baskılayıcı) hücreler azalır, aşırı ve hatalı antikor yapımı olur (26). Bu antikorların bir kısmı self antijenlere karşıdır. İmmün komplekslerin temizlenmesinde de yavaşlama vardır (20). Otoantikorlar, self antijenlerle birleşerek, damar duvarlarında, glomerül yumağında ve seröz zarlarda birikerek komplemanı da aktif hale getirerek inflamasyonu başlatır. Antikorların sürekli üretilmesi nedeniyle olay kronikleşerek geri dönüşümsüz hale gelir ve organ fonksiyon bozukluğuna neden olur (42). Deride ve koroid pleksusda kompleman olmadan da hasar başlamaktadır (42). Antikorlar, hücre yüzeyine yapışarak direkt olarak da hasar verir. Eritrosit, lökosit ve trombositlere karşı antikor üretilebilir ve bu hücreler ya kompleman aracılığıyla ya da RES tarafından yıkılır (20). Ayrıca lökositler, antikorla kaplı dokular da yıkım yapabilmektedir (20). Parçalanmış çekirdek

bölümleri ile çekirdek proteinlerinden oluşan hematoksilen cisimlerinin, lökositlerce fagosite edilmesiyle LE hücresi oluşur (20).

Etyopatogenetik açıdan hastalık 4 aşama gösterir:

1) Yatkınlık dönemi: Otoreaktif B hücreler mevcuttur ve self antijenleri tanıyıp sunabilirler ancak T hücreleri henüz olaya katılmamıştır. Bu devreye örnek olarak, eşinde SLE gelişmiş olan tek yumurta ikizleri verilebilir.

2) Başlangıç dönemi: T hücreler antijen sunumuna başlar ancak, klonal proliferasyon ve differansiyasyon yoktur. IgM tipi otoantikör yapımı vardır. Bu dönemin en iyi kanıtı, sağlıklı gönüllülerden alınan Ig preparatlarında doğal antikörlerin gösterilmesidir.

3) Gelişme dönemi: Otoantijene özel B ve T hücre klonları proliferasyon almıştır. Otoantikörler, IgG tipinde ve yüksek afinitelidir. İmmün testleri bozuk ancak, klinik problemi olmayan hastalar bu gruptadır. Tedavi ile klinik düzelme sağlanan hastalar tekrar bu döneme girmektedir.

4) Yıkım dönemi: Klinik olarak belirgin SLE gelişmesidir (61).

Klinik belirtiler: Genel semptomlar içinde en çok; halsizlik, yorgunluk, ateş ve zayıflama görülür.

Deri tutulumu: Akut raş, kelebek raş, güneş duyarlılığı, subakut deri lupusu, diskoid lupus, alopesi ve sert damakta ağrısız ülserle seyreden mukoza lezyonları şeklinde görülür.

Lökomotor sistem tutulumu: Artrit en sık gözlenen lezyondur. Ayrıca, tenosinovit, myozit, fibromyalji, deforman artrit ve avasküler kemik nekrozu da görülmektedir.

Solunum sistemi tutulumu: Plörite sık rastlanmaktadır. Akut lupus pnömonisi, kronik lupus pnömonisi, pulmoner vaskülit, büzüşen akciğer sendromu ve pulmoner hipertansiyon görülebilir.

Dolaşım sistemi tutulumu: Perikardit en sık görülen lezyondur. Myokardit, endokardit (Libman-Sacks), lupuslu anne çocuklarında kalp blokları, koroner vaskülit, tekrarlayan flebite de rastlanır.

Sinir sistemi tutulumu: Serebral tutulumun bulguları, başağrısı, epilepsi nöbetleri, koreyi de içine alan komaya kadar uzanabilen, geniş bir spektrumdadır. Bellek bozuklukları, psikoz, konsantrasyon yeteneğinde azalma da olabilir.

Gastro-intestinal sistem tutulumu: Hepato-splenomegali, pankreatit, mezenter vaskülit, aseptik peritonit görülebilmektedir.

Göz tutulumu: Konjonktivit, episklerit, periorbital ödem, santral retinal arter tıkanması ve aktif retinal arterit şeklinde görülür.

Hematolojik tutulum: Anemi çok sık görülür. Lökopeni, trombositopeni de nadir değildir (13, 20, 27, 42, 53, 61, 62).

## 2.2. LUPUS NEFRİTİ

Böbrek tutulumu, SLE'un ciddi bir komplikasyonudur. Tüm çalışmalarda, prognozun kötü olduğunun bir habercisi olduğu belirlenmiştir. İlk defa 1922 yılında, SLE'lu 4 hastada tarif edilmiştir. 1935 yılında Baehr ve arkadaşları, otopsi yapılan 23 SLE'lu hastanın on üçünde böbrekte tel halka görünümünü saptamışlardır. 1949 yılında nitrojen mustard ve steroidin, 1960 yılında da hemodiyalizin tedaviye eklenmesiyle lupus nefritinin prognozunda düzelme sağlanmıştır (92).

Böbrek tutulumunun başlangıcı genellikle semptomsuzdur. Kompleman seviyesinin azaldığı ve yüksek titrede anti-ds DNA antikör bulunan hastalar, glomerülonefrit açısından yakından takip edilmelidir. Yeni gelişen hipertansiyon önemli bir işarettir. Noktüri başlangıç belirtisi olabileceğinden özellikle sorgulanmalıdır (61). Aşağıda belirtilen kriterler % 95 oranında lupus nefriti tanısı koydurur:

1) Böbrek biyopsisinde klas IIB mezangiyal, fokal proliferatif, diffüz proliferatif veya membranöz glomerülonefrit saptanması.

2) Kreatinin klirensinde 1 yılda % 30 azalma.

3) Proteinürininin 1 gr'ın üzerinde olması (92).

Bu kriterler bulunmadığında işe takip eden 1 yıllık izlemde, HT, DM ve infeksiyonlar ekarte edilmek şartıyla;

1) Serum albümin değerinin 3 gr/dL'nin altına inmesi,

2) Sürekli 2-4 (+) proteinürininin görülmesi,

3) İdrar sedimentinde oval yağ cisimciklerinin, granüler, hyalin ve kırmızı küre silindirlerinin görülmesi,

4) Her büyük büyütme sahasında 5'den fazla kırmızı küre ile karakterize hematürininin sürekli olması ile tanı konur (92).

Lupus nefritinin ayırıcı tanısında özellikle renal ven trombozu gözden kaçırılmamalıdır. Böbrek tutulumunun prevalansı değişik çalışmalarda %29 ile %65 arasında değişen oranlarda bulunmuştur. Gerçek prevalans muhtemelen % 40 civarındadır. Hastalığın seyri esnasında ortalama olarak hastaların yarısında, herhangi bir zamanda nefrotik veya nefritik sendrom ortaya çıkar. Erkeklerde istatistiksel olarak anlamlı olmayan hafif bir fazlalık vardır. Asyalılarda ve zencilerde daha sık gelişir. Tutulum genellikle hastalığın ilk yıllarında görülmekle beraber kural değildir. Ortalama başlangıç yaşı nefriti olanlarda 27, olmayanlarda ise 31'dir. Bazı toplumlarda DRII ve B8 genleri özellikle de DQ-beta da varsa riski artırmaktadır. DR4'ün ise riski azaltıcı bir etkisi vardır (5, 61, 92).

Klinik ve laboratuvar: Tüm lupusluların % 3-6'sında hastalık nefritle başlar. Cains ve arkadaşları, ANA (-) 11 hastada hastalığın nefritle başladığını ve takiplerde 6 yıl içinde hepsinin pozitifleştiğini bildirmişlerdir. Klippel, lupus nefritini klinik olarak 5 grupta toplamıştır;

- 1) Sessiz
- 2) Kronik aktif nefrit
- 3) Hızlı gidişli nefrit
- 4) Nefrotik sendrom

5) İlerleyici böbrek yetmezliği (Glomerüloskleroz, HT, ilaçlar nedeniyle). Bu grup hastalarda rutin idrar tetkiki normaldir ve muhtemelen klinik seyir esnasında kronik aktif nefritleri olmaktadır (39, 92).

Kronik aktif nefrit ve hızlı gidişli nefritlerde biyopsilerde genellikle fokal veya diffüz glomerülo nefrite rastlanır ve en kötü prognoz bu hastalardadır (92). Hastaların % 18,4'ünde akut böbrek yetmezliği gözlenmiştir. Bu hastalarda infeksiyon ve santral sinir sistemi tutulumu hastalığı presipite etmiştir ve tedaviyle % 76'sı düzelmiştir. İzole nefritlerde kan basıncı yüksekliği dışında anormal muayene bulgusu olmaz. Başta proksimal ve distal renal tübüler asidozlar olmak üzere tübüler fonksiyonel bozukluklar gelişir. Bu durum Sjögren sendromunda daha belirgindir. Nefriti olan hastalarda en sık rastlanan semptom, artrit ve artraljidir. Gallium sintigrafisi tanıda yardımcıdır ancak doppler incelemenin yeri yoktur (37, 39, 92).

Böbrek fonksiyonlarının ölçümü: BUN ölçümü diyet, hidrasyon durumu, kanama ve karaciğer hastalıklarına bağlı olarak değişiklikler gösterebileceği için kullanımda faydası

sınırlıdır. Kreatinin ise kas kitlesi, hidrasyon durumu, vücut ağırlığı ile değişebilir ve proksimal tübülüslerden salgılandığı için, özellikle de glomerülonefritlerde salgılanan miktar arttığından dolayı tam hasarı göstermeyebilir. Değerlendirmenin logaritmik cetvelle yapılması nedeniyle ölçümdeki küçük değişiklikler, daha büyük hatalara neden olur. Bu nedenle doğru ve güvenilir değerlendirme için altın standart glomerül filtrasyonunun ölçümüdür. Kreatinin klirensi tam değeri göstermese de diğer yöntemlerin pahalı ve kullanışsız olması, bu yöntemin ise kolay uygulanabilir olması nedeniyle klinik pratikte en çok kullanılan yöntemdir (4, 5, 20, 35, 37, 61, 62, 92).

Proteinüri ve idrar sedimentinin değerlendirilmesi: Çeşitli raporlarda, hematürinin % 33-48, hücre silindirlerinin %34-40, 1 gr'ın üzerinde proteinürinin %26-87 oranında tespit edildiği belirtilmiştir. Rutin idrar tetkiki normalden, böbrek biyopsisinde nefrit bulunan tüm hastalarda mikroskopik bulgulara rastlanır. Steril orta akım idrar örneğinin sediment incelemesinde, her büyük büyütme sahasında 5 tane lökosit veya eritrosit bulunması ve eser miktarda albümin tespiti aktif nefriti düşündürmelidir. Hastalık ilerledikçe hem hücreler hem de albümin miktarı giderek artar. Bu aşamada sıklıkla üriner infeksiyon zannedilerek antibiyotik tedavisi verilmektedir halbuki piyüri primer bir infeksiyonun değil böbrek tutulumunun bir sonucudur. İlerleme oldukça hyalen ve ince granüler silindirler, son dönemlere doğru ise kaba granüler silindirler, eritrosit ve lökosit silindirleri görülür. Bu dönemlerde nefrotik sendrom gelişirse proteinüri 30 gr/gün düzeylerine kadar çıkabilir. Daha ileriki dönemlerde ise geniş yetmezlik silindirleri ve teleskopik idrar bulguları belirginleşir. Bazı araştırmacılar relapsların tespitinde hematüriyi takiben hücre silindirlerinin görülmesinin C3 azalmasından bile değerli olduğunu söylemişlerdir. İdrar proteinleri albümin ve globülinlerden oluşur. Albümin miktarı, GFR ve tedaviye cevapla ilişkilidir. Gama globülin özel bir patern göstermez. Bazı araştırmacılar immün globülin hafif zincirinin nefrit aktivitesi ile paralel olduğunu söylemişlerdir. Ferritin, anti-RNA polimeraz1 antikoru, neopterin, asit mukopolisakkaritler, histürin, fibrin yıkım ürünleri, çözünebilen interlökin reseptörleri ve düşük molekül ağırlıklı C3 parçaları gibi pek çok maddenin aktif lupus nefritinin idrarında tespit edildiği bildirilmiştir. Yalancı pozitif gebelik testi görülebilir (39, 54, 61, 62, 85, 92).

Hastalık aktivitesinin takibinde serum kreatinini, 24 saatlik idrar proteini, kreatinin klirensi, C3 seviyesi, idrar sedimenti ve anti-ds DNA'dan oluşan 6 temel parametre kullanılır.

Serum kreatinin miktarı ve klirensi böbrek fonksiyonlarını gösterir ancak aktiviteye ait bir bilgi vermez. Serum kreatinin seviyesinin sürekli olarak 1,4 mg/dl'nin üzerinde olması glomerüllerin en az %40'ının hasar gördüğünü gösterir. Kreatinin seviyesinin normale dönmesi olumlu bir prognoz göstergesidir. Hidrasyon durumu, NSAİD kullanımı ve şiddetli infeksiyonlar ile geçici yükselmeler olabilir.

Proteinüri miktarından bağımsız olarak, iyi bir aktivite göstergesi değildir. Nefrotik düzeyde proteinürisi olduğu halde 20 yıl sonra bile kreatinin seviyesi normal olan membranöz histopatolojiye sahip hastalar vardır. Serum kreatinin seviyesi 5 mg/dl üzerinde olduğunda azalması böbrek yetmezliğinin göstergesi olabilir.

Kompleman, inflamasyonda seviyesi azalan bir proteindir. Düşük olması hastalık aktivitesini gösterir. Akut alevlenmelerde de miktarı azalır. Biyopsilerdeki aktivite indeksiyle de paralellik gösterir. Uzun dönemde normale dönmesi iyi prognoz işaretidir. Bazen kompleman seviyesi kazanılmış ya da kongenital nedenlerle azalmış olabilir. Gladman 180 lupuslu hastanın 14'ünde uzun süre azalmış kompleman seviyelerine rağmen aktivitenin klinik göstergelerinin olmadığını belirtmiştir.

Aktif nefriti olan çoğu hastada anti-ds DNA artar (%50-75). Membranöz nefropatilerde sıklıkla normal olarak bulunur. Aktiviteyi göstermede C3 seviyesi kadar anlamlı değildir ve böbrek dışı lupus aktivitelerinde de artar.

Kriyoglobülinler, poli(ADP)riboz oto antikoları, dolaşan immün kompleksler, interlökin 2 reseptör seviyesi, ANA paterni, anti endotelial hücre antikor seviyesi, plazma trombomodulin ile anti heparan sülfat aktivitesi ve kompleman parçalarının aktivasyonunun ölçümü de böbrek hastalığı aktivitesinin göstergesi olabilir ancak bu testler genelde kullanışsız ve az güvenilirlerdir (5, 20, 39, 54, 85, 92),.

WHO'nun lupus nefriti için düzenlediği histopatolojik sınıflama:

Sınıf I (Normal): Tüm vakaların % 5'inden daha azını oluşturur. Işık, immunflöresan ve elektron mikroskopi bulguları tamamen normaldir. Bazal membranda düzensiz kalınlaşmalar gibi özel olmayan bulgular olabilir ancak bu değişiklikler fonksiyonel bir anormallik yaratmaz.

Sınıf II (Minimal veya mezangiyoproliferatif GN): Sadece mezangiyal değişiklikler vardır. Tüm vakaların yaklaşık % 25'ni oluşturur. A ve B olarak 2 alt grubu vardır. II A'da mezangiyumda immünglobülin ve C3 tek başına II B'de ise proliferatif değişiklikler görülür. Olguların %25'i semptomsuzdur. Çoğunlukla hafif proteinüri ve mikroskopik hematüri

görülür. Azotemi ve nefrotik sendrom nadirdir. Beklenen yaşam süresi 5 yıl için % 95 civarındadır ve üremik ölüm görülmez.

Sınıf III (Fokal proliferatif GN): Lupus nefritli olguların % 20'sini oluşturur. Glomerüllerin ve total glomerül yüzeyinin yarısından azında proliferasyon vardır ancak tamamında IgG, IgA, IgM, C3 ve fibrinle ilişkili antijenler bulunur. Depolanmalar öncelikli olarak mezangiyumdadır ancak subendotelyal de olabilir. Proteinüri tüm hastalarda vardır. Nefrotik sendrom olguların %20'sinde ortaya çıkar. Sıklıkla sınıf IV'e geçiş görülür. HT, azotemi ve üremik ölüm görülebilir.

Sınıf IV (Diffüz proliferatif GN): Lupus nefritli olguların % 40'ını oluşturur. En ağır tipidir. Glomerüllerin yarısından fazlası etkilenir. Fibrinoid nekroz, yarım ay oluşumu ve tel halka çok sık görülür. Proteinüri mutlakdır ve seyri esnasında % 90 oranında nefrotik sendrom gelişir. Çoğu hastada azotemi ortaya çıkar ve üremik ölümün en sık görüldüğü lezyondur.

Sınıf V (Membranöz GN): Vakaların % 15'idir. Yaygın subepitelyal Ig ve C3 depolanması vardır ve idiopatik olandan ayrımı yapılamaz. Proteinüri ve nefrotik sendrom çok sıktır ancak azotemi gelişimi daha yavaştır. SLE'un sistemik bulguları daha az belirgindir. Renal ven trombozu sık görülür. Bazen sınıf IV'e geçiş olabilir ve azotemi daha çabuk ortaya çıkar.

Sınıf VI (Sklerozan GN): Son dönem böbrek hastalığıdır. İnflamasyon bitmiştir ve skleroz tabloya hakimdir (4, 5, 20, 37, 39, 62, 85).

Chung ve Sobin tarafından 1982 yılında modifiye edilen sınıflama ise Tablo I de verilmiştir.

Tedavinin belirlenmesinde ve prognozun ortaya konmasında aktivite ve kronisite indekslerinden de yararlanılmaktadır.

Aktivite indeksi: Geri dönüşümü mümkün olan lezyonları içerir. Epitelyal kresentler, fibrinoid nekroz, hücresel proliferasyon, hyalen trombüsler, lökosit infiltrasyonu, interstisyumda mononükleer hücre infiltrasyonu ise 0 ile 3 arasında değer verilerek, epitelyal kresent ve fibrinoid nekroz için verilen değer iki ile çarpılarak toplam 0 ile 24 arasında bir puan belirlenir.

Kronisite indeksi: Glomerüler skleroz, tübüler atrofi, fibröz kresentler ve interstisyel fibröz 0 ile 3 arasında değerlendirilerek toplam 0 ile 12 puan arasında belirlenir.



Tablo I: Lupus nefriti sınıflaması

I	Normal
	A) Lezyon yok B) Işık mikroskopi de lezyon yok ancak elektron mikroskopik ve immünoflöresans çalışmalarında birikim var
II	Sadece mezangiopati
	A) Hafif düzeyde hücre artımı B) Orta derecede hücre artımı
III	Fokal ve segmental glomerülonefrit
	A) Aktif nekrotizan lezyonlar B) Aktif ve skleroza giden lezyonlar C) Sklerozan lezyonlar
IV	Diffüz glomerülonefrit
	A) Segmental lezyon yok B) Aktif nekrotizan lezyonlar var C) Aktif ve sklerozan lezyonlarla var D) Sklerozan lezyonlar
V	Diffüz membranöz glomerülonefrit
	A) Sadece membranöz glomerülonefrit B) Sınıf-II lezyonlarla birlikte olan C) Sınıf-III lezyonlarla birlikte olan D) Sınıf-IV lezyonlarla birlikte olan
VI	İlerlemiş sklerozan glomerülonefrit

Aktivite indeksinin yüksek olması daha yoğun bir immün baskılayıcı tedavinin gerektiğini, kronisite indeksinin yüksek olması da böbrek sağ kalımının kısılacığını gösterir (25).

Tedavi planında; her histolojik grupta biyopside saptanan aktivite ve kronisite indeksleri tedaviyi etkileyen en önemli faktörlerdir. Aktivite indeksi yüksek olan hasta

gruplarında daha enerjik tedavi gerekir. Kronisite indeksi yüksek olanlarda ise ılımlı tedaviler daha uygundur. Proteinüri miktarı 1 gr'dan az, aktif idrar sedimenti bulguları olmayan, böbrek fonksiyonları ve kan basıncı normal ve böbrek biyopsisinde hafif mezangiyal lezyonları olan hastalarda özel bir tedavi önerilmemektedir. Ancak lupus seyrinde transformasyonlar olması mümkün olduğu için bu hastalar yakından izlenmelidir. Fokal proliferatif lezyonu olan hastalarda klinik ve histolojik olarak belirgin aktivite yoksa sadece semptomatik tedavi yapılmalıdır. Membranöz lupus nefritinde nefrotik sendrom yoksa nefrit için tedavi verilmez. Nefrotik sendromu olanlarda ise steroid verilebilir. Bu hasta grubunda nefrotik sendromda düzelme yoksa ya da böbrek fonksiyonlarında ani kötüleşmeler olan hastalarda sitotoksik ve antikoagülan tedaviler verilmektedir. Sitotoksik tedavi olarak en çok siklofosfamid ve azatioprin kullanılmaktadır. Metotreksat böbrek dışı lezyonlarda özellikle de inatçı artritlerde kullanılmaktaysa da lupus nefritinde önerilmemektedir. Diffüz ve proliferatif lezyonlar lupus nefritinin en şiddetli tipi olup düşük doz steroid ve/ veya sitotoksik tedavi verilir.

Diffüz proliferatif nefritte 10 mg/kg prednisolonun 3-5 gün süreyle damar içi uygulanmasından sonra düşük dozda oral tedavi şeması kullanılmaktadır. Steroid ve sitotoksik tedavilerin pulse, idame, alterne gün uygulaması ve doz azaltması gibi çeşitli uygulama şekilleri vardır. Tedavilerin yan etkileri oldukça fazladır. Steroid tedavisi tek başına kullanıldığında, böbrekte atrofik ve sklerozan lezyonların gelişme riskinin arttığı gözlenmiştir. Steroidle birlikte siklosporin de bazı ağır tablolarda kullanılmaktadır. Siklosporin nefrotoksiktir ve ilaç kesildikten sonra hastalığın kötüleşmesi ya da tekrar ortaya çıkması da mümkündür.

Plazma değişimi ile ilgili çelişkili veriler elde edilmiştir. Total lenfoid radyasyon uygulamasının henüz uzun dönem sonuçları belli değildir. Aspirin ve antikoagülan tedavinin yararı kesin değildir.

Son dönem böbrek hastalığı gelişenlerde dializ tedavisi uygulanır. Bu dönemde çoğu hastada serolojik ve klinik aktivite azalır. Bu hastalarda dializden bir kaç ay sonra steroid ve sitotoksik ilaçlar kesilebilir. Kreatinini yüksek ve genç erkek hastalarda böbrek yetmezliği riski en yüksektir. Bu özellikle de kronisite indeksi yüksek olanlarda daha da belirginleşir. Bazı hastalarda ise SLE'un karakteristik kliniği devam edebilir. Bir kısım hastada da aktivite artar. Fistül trombozu ve peritonit riski biraz artmıştır. Transplantasyon sonuçları diğer hastalarinkine benzerdir. Transplantasyon için en az 1 yıl beklenmelidir. Bu süre böbrek

fonksiyonlarında düzelme beklemek ve sitotoksik ilaçların etkilerinden kurtulmak için gereklidir. Greft kaybı ve rejeksiyon antikardiolipinlerle değişmez ancak trombotik komplikasyonlar için antikoagülasyon gerekebilir. Lupus nefritinin transplant böbrekte tekrarlama riski vardır (% 3-4) (4, 5, 25, 36, 37, 39, 41, 62, 85, 92).

Tablo II de lupus nefritinde görülen histolojik tiplerin ortaya çıkışı ve prognozu ile ilgili bazı veriler derlenmiştir.

Tablo II: Lupus nefritinin histolojik tiplerinin klinik bulguları ve prognozu

SINIF	I	II	III	IV	V
	Normal	Mezangial	Fokal Proliferatif	Diffüz Proliferatif	Membranöz
Aktif idrar sedimenti	0	<% 25	% 50	% 75	% 50
Proteinüri	0	% 25-50	% 67	>% 95	>% 95
Nefrotik sendrom	0	0	% 25-33	% 50	% 90
Böbrek yetmezliği	0	<% 15	% 10-25	>% 50	% 10
5 yıl sonunda böbrek yetmezliği	0	<% 10	% 10-15	% 10-40	% 10-30

### 2.3. MEMBRANOPROLİFERATİF GLOMERÜLONEFRİT

Primer glomerüler bir hastalık olabildiği gibi infeksiyöz, kalıtsal veya sistemik bir çok hastalığa bağlı gelişebilir. Mezangiyokapiller glomerülonefrit olarak da adlandırılmıştır. Çocuk ve erişkinler de görülür, kadın/erkek oranı eşittir. Beyaz ırkda daha fazla görülür. Primer MPGN'lerin % 60-70'i tip I, % 20-30'u tip II, çok az bir kısmı da tip III ve bunların alt gruplarından oluşur (19, 20, 78, 96).

Tip I MPGN: Mezangiyal genişleme ve bunun sonucu görülen nodüllerin oluşumu, mezangiyumda lökosit infiltrasyonu, lobüler yapıda belirginleşme belli başlı bulgularıdır. Mezangiyal hücreler ve matriksin subendotelial bölgeye girmesi, immün depolanmalar ve inflamatuvar hücrelerin de katılımıyla kapiller duvarda kalınlaşma olur ve görünümü tren rayına benzer. İleri dönemlerde tübülüslerde atrofi, interstisyumda mononükleer hücre infiltrasyonu ve fibrozis görülür. IgG, IgM, IgA, C3, C4, Clq kaba granüler ve düzensiz olarak mezangiyum içinde ve kapiller duvarlar boyunca depolanır.

Tip II MPGN: Bazal membran kurdela görünümü alır. Bowman kapsülü ve tübül bazal membranlarında da aynı değişiklikler görülür ancak toplayıcı kanallarda görülmez. Mezangiyumda hücre ve matriks artışı hafif veya şiddetli olabilir. Kapiller duvarlarda hörgüç şeklinde geniş subepitelial birikimler görülür. Kresent oluşumu tip I'e göre daha sıktır. Elektron mikroskopi bulguları tanıda daha önemlidir. Ig G ve A görülmez ancak Ig M, clq, C4 ve properdin değişik oranlarda birikir.

Tip III ve alt grupları: Çok miktarda subepitelial birikimler vardır. Lamina densa reaksiyonu şeklindeki bu lezyonlar ile tip I'den ayrılır. Başka bazı alt gruplar da tarif edilmiştir (19, 42, 61, 78, 96).

İmmün kompleks hastalığı olduğunu düşündüren pek çok bulgu mevcuttur. Komplemanı da içeren glomerüler birikimler, her iki tipde de dolaşan immün komplekslerin varlığı, infeksiyonlar gibi kronik antijenemiyle birlikteliğin sık olması ve kompleman aktivasyonu bu düşünceyi desteklemektedir. Kalıtsal olarak kompleman komponentleri eksikliği olan bazı ailelerde görülmesi de destekleyen bir bulgudur. Bazı hastaların serumunda bir Ig antikoru tespit edilmiştir ve böylece bu antikor C3 konvertazı bağlayarak C3b inaktivatörünün etkisini engelleyerek C3'ün sürekli yıkımını sağlar. Trombositlerin salgıladığı bazı faktörlerin mezangiyal hücrelerde toplandığı ve lökositler için kemotaktik oldukları ve MPGN'nin kronik mikroanjiopatik bir hastalık olduğu da öne sürülmüştür. Bir diğer görüş ise bazal membranda yapısal değişiklik ve paraprotein birikimi olduğudur.

Olgular nefrotik sendrom (% 50), semptomsuz idrar bulguları (% 20) ve akut nefritik sendrom (%30) olarak ortaya çıkarlar. Bir kısmında geçirilmiş üst solunum yolu infeksiyonu öncülük edebilir. Hipertansiyon ve glomerül filtrasyon hızında azalma görülebilir ve bunun erken ortaya çıkması kötü prognoz işaretidir. Başlangıç genelde aynı olmasına rağmen tip II daha kötü bir seyir gösterir. Olguların 1/3'ünde son dönem böbrek yetmezliği, 1/3'ünde stabil

seyreden nefrotik sendrom ve 1/3'ünde de hematüri ve nefrotik düzeyde olmayan kalıcı proteinüri gelişir.

Proteinüri hemen her olguda vardır ve hematüri ona eşlik eder. C3 % 70 olguda düşüktür. Diğer kompleman komponentleri tip II'de daha az olmak üzere azalmış ya da normal bulunabilir. C3 nefritik faktör tip I'de % 60, tip II'de % 30 oranında saptanabilir. Eritrosit ve trombosit yaşam süresi kısalmıştır. Sedimentasyon hızı normal ya da artmış olabilir.

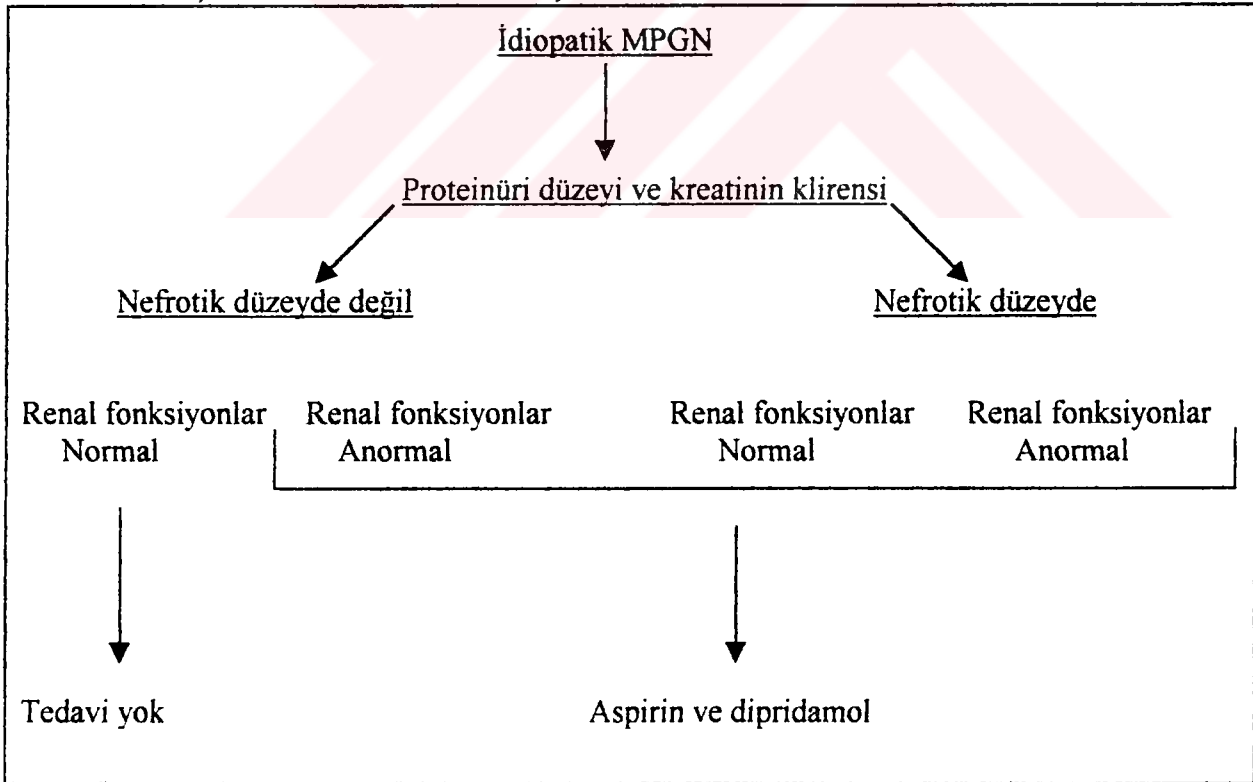
MPGN yönetiminde veriye dayalı tedavi ve izlem önerileri şunlardır:

1) Böbrek fonksiyon kaybı ve nefrotik düzeyde proteinürisi olmayan primer MPGN'lerde, tüm yaş gruplarında tedaviye gerek yoktur. Bu hastalar 3 ayda bir kontrole çağrılarak böbrek fonksiyonları, proteinüri miktarları ve kan basınçları takibe alınmalıdır.

2) Erişkin hastalarda nefrotik düzeyde proteinüri varsa ya da nefrotik düzeyde olmayan proteinüriye böbrek fonksiyon kaybı eşlik ediyorsa 325 mg aspirin ve günde 3 defa 75 veya 100 mg dipridamol ile tedaviye başlanır. Bir yılın sonunda düzelme yoksa tedavi kesilir.

3) Çocuklarda nefrotik düzeyde proteinüri varsa ya da proteinüriye böbrek fonksiyon kaybı eşlik ediyorsa steroid kullanılır ( 19, 42, 46, 61, 78, 96).

Tablo III: Erişkinlerde MPGN'in tedavi şeması



## 2.4. APOPTOZ

İnsan ve diğer çok hücreli canlılarda hücre ölümü daima zararlı veya anormal bir durum değildir. Nekroz yoğun hücre hasarının olduğu yerlerde görülmekle birlikte, organizmadaki çoğu hücre ölümü inflamasyon olmadan, enerji bağımlı olarak meydana gelir ve bu ölüm tipi, apoptoz olarak adlandırılır. Dokulardaki toplam hücre miktarı yeni hücrelerin çoğalması ile eski hücrelerin apoptozu arasındaki dengeye bağlıdır. Apoptoz ve çoğalma hızı dokularda farklı miktarlardadır. Apoptozun düzenlenmesindeki bozukluklar; kanser, otoimmünite, kalp hastalıkları, sinir sistemi bozuklukları ve böbrek hastalıklarını da içeren pek çok organ hasarı ile ilişkilidir.

Hücreler ölüm nedenine ve içeriğine bağlı olarak 2 yoldan biriyle ölürlür. Bunlardan biri nekrozdur. Nekroz da hasar sitoplazmadan başlar, hücreler şişer, parçalanır ve içeriklerini hücreler arası alana bırakarak inflamasyonun alevlenmesini sağlarlar. Nekroz, ciddi inflamatuvar cevapta ve akut hasarda önemli olmasına rağmen fizyolojik ölümden esas mekanizma değildir. Hem nekroz hem de apoptoz aynı dokuda, aynı anda görülebilirler. Bu durumu ortaya çıkaran olaya bağlıdır (60). 1970'li yıllara kadar hücre ölümünün bilinen tek tipi nekroz idi ve hücre ölümünün fizyolojik olmayan daima zararlı bir olay olduğu düşünülürdü. 1972 yılında Kerr ve arkadaşları apoptozu ve yeni temel fizyolojik olayları açıklayan bir makale yayınladılar. Böylece hücre ölüm tipinin diğer şekli olan apoptoz tanımlandı. Apoptoz zaten hücrede var olan genetik programın aktif hale gelmesiyle, hücrenin kendisi tarafından enerji kullanarak yapılan bir hücre ölümü, diğer bir deyişle hücrenin intiharıdır (83). Apoptozda kendine özgü biçimsel ve fonksiyonel değişiklikler görülür. Hücrelerde kromatin yoğunlaşmasıyla birlikte çekirdekte erime başlar ve hücre küçük membran parçacıklarıyla çevrilir. Oluşan bu yeni membran yapısı nedeniyle hücreler yanındaki hücreler tarafından kolayca fagosite edilirler. Membran yapısının daima korunması nedeniyle inflamasyonu başlatan hücre içi elemanlarının sızıntısı önlenir. Biçimsel değişikliklerin oluşmasından sonra 1 saatten az bir sürede apoptoz sonlanır (60, 88). Bu nedenle doku kesitlerinde görülen apoptotik hücreler az bile olsa hücre kaybını göstermesi açısından çok anlamlıdır (60). Apoptoz genelde hücreleri tek tek ve eşzamanlı olmayarak etkiler. Hücrede zaten var olan bazı genlerin aktif olmasına ya da baskılanmasına ihtiyaç duyar. Doku transglutaminazları, endonükleazlar ve proteazlar aktive olurlar (83). Santral sinir

sisteminde çok azalmakla birlikte apoptoz erişkin dönemde memelilerde diğer dokularda aktif olarak devam eder. Apoptozla nekroz arasındaki farklar Tablo IV’de özetlenmiştir.

Tablo IV: Apoptoz ile nekroz arasındaki bazı temel farklar.

	Apoptoz	Nekroz
DNA kırılmaları	185 baz çiftler halinde	Rastgele
Hücre zarı	Sağlamdır	Erir
Yeni gen ekspresyonu	Gerekli	Gerekmez
Fagositoz	Komşu hücreler ile	Makrofajlarla
İnflamasyon	Yoktur	Vardır
Kromatin yoğunlaşması	Granüler	Uniform
Hücre hacmi	Azalı	Artar
Aktif enerji üretimi	Gerekli	Gerekmez

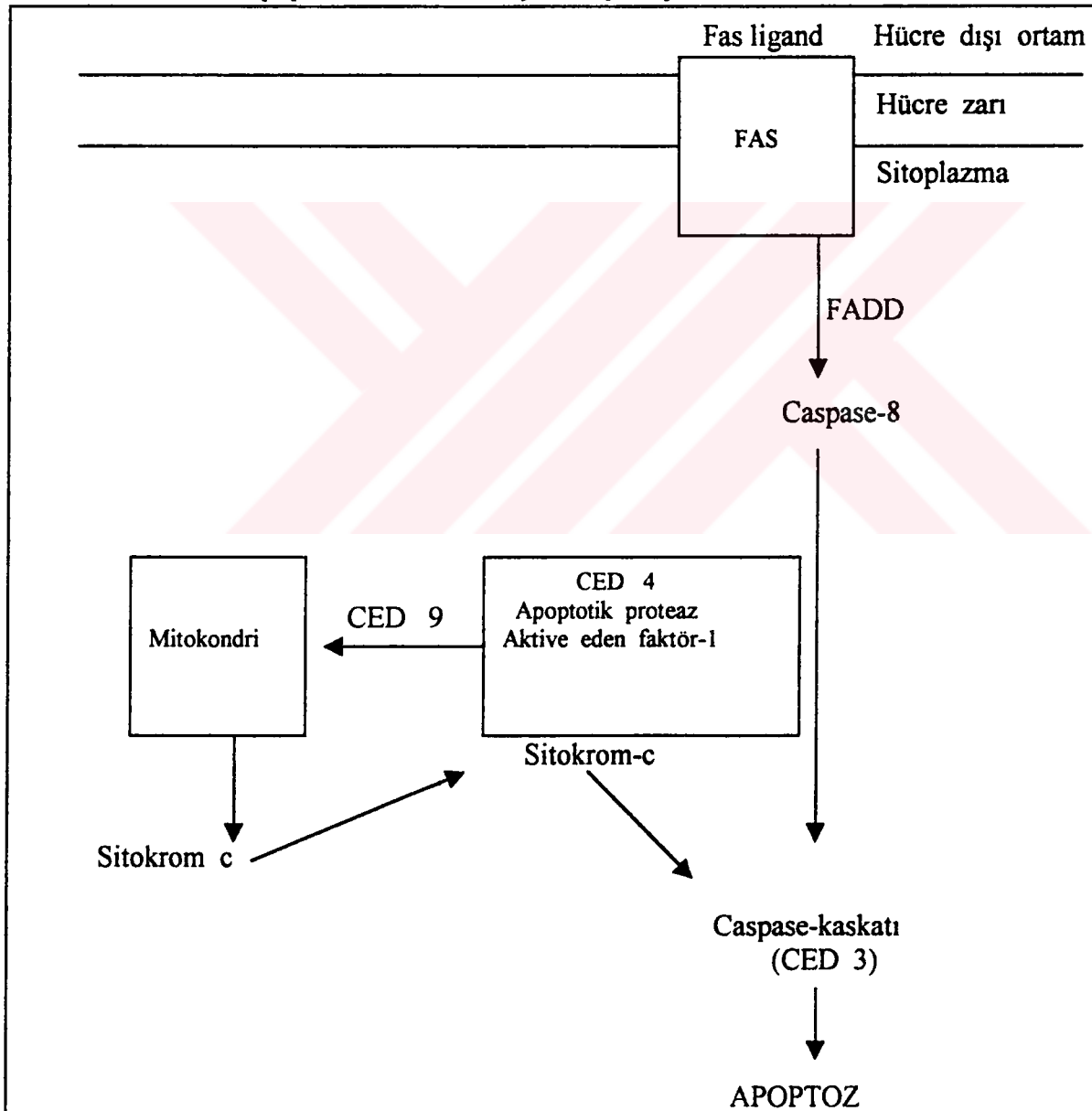
Apoptozun genetik ve moleküler mekanizması *Caenorhabditis Elegans* nematodunda yapılan çalışmalarla tanımlanmıştır (33, 63). Bu çalışmalarla apoptozda 4 ardışık basamak gösterilmiştir.

- 1) Hücre içi ve dışı tetikleyicilerle ölüme karar verilmesi
- 2) Hücre içi proteaz aktivitesi
- 3) Diğer hücrelerce apoptotik cisimlerin fagositozu
- 4) Fagositik cisimlerin lizozomlar yolu ile parçalanması.

Bu basamakları yöneten genler solucandan insana dek tüm hayvan gelişimi esnasında korunmuştur. *C.elegans*daki *ced3* ve *ced4* genlerinin ürünleri apoptoz için gereklidir. *Ced9*

geni ürünü ise ced3 ve 4'ün aktivasyonunu engelleyerek apoptozu önler. Ced3 bir sistin aspartil proteaz (caspas) inhinitörüdür. Aktive olunca hücrel proteinlerin bir kısmında aktivasyon bir kısmında da inhibisyon yapar. Tüm hücrelerde inaktif şekil olan procaspaslar vardır ve aktif hale gelerek hücre elemanları arasındaki membranları eritir ancak hücre membranı sağlam kalır. Ced4 ölüm emri alınca proced3'e bağlanarak aktif ced3 salınımına yol açar. Ced9 ise ced4'e bağlanarak proced3'e bağlanmasını engelleyerek apoptozu önler. İnsanlarda bu model korunmuş olmakla beraber özellikle erken dönemlerde daha çok sinyal molekülü devreye girer (8, 33, 69, 83, 95).

Tablo V: Apoptozun bazı hücre içi ve dışı sinyalleri





Tüm normal hücreler radyasyonla oluşan DNA hasarına siklus durdurulması cevabını verir. Eğer hasar onarılabilirse siklus devam eder ancak bu mümkün değilse apoptoza gider. Diğer ölüm kararları belli hücre tiplerinde belirli zamanlarda bulunur. Eğer ölüm için tek bir sinyal olsaydı bu sinyal oluştuğunda tüm hücreler ölürdü. Oysa apoptozun tamamlanması için komşu hücrelerin sağlam olmalarına (fagositoz için) ihtiyaç duyulur. Ölüm kararı yaşamın devamı için gereken faktörlerin kaybı ile ya da ölümcül faktörlerin ortaya çıkması ile başlar (47, 63). Hücre dışı sahaya eklenen ölümcül ligand hücre yüzeyindeki ölüm reseptörüne bağlanır ve reseptörün hücre içi bölümünde değişiklikler oluşarak sitoplazmik adaptör proteinlerin bağlanmasına uygun hale gelir. Adaptör proteinlerin bağlanması ile caspasları aktive eden diğer proteinlere bağlanır. Caspaslar aktive olduklarında apoptozun biçimsel görünümünü oluşmaya başlar ve artık ölüm süreci durdurulamaz. Örneğin fas gibi hücre yüzeyi ölüm reseptörleri aktive edilince onların sitoplazmada bulunan uzantıları FADD (fas associated death domain) adaptör proteinlere bağlanır. Fas-FADD kompleks bağlandıktan sonra ise caspas 8'i aktif hale getirerek apoptoz infazının ölümcül proteolitik sürecini başlatır. İnsanda ced4'ün karşılığı Apaf-1(apoptotik proteazı aktive eden faktör) dir. Sitokrom-c Apaf-1'e bağlanınca caspas yolunu aktif hale getirir. Apaf-1'de ATP için bir reseptör mevcuttur bu da hücrenin apoptoza mı yoksa enerji istemeyen nekroza mı gideceğini belirleyen önemli bir etkendir. Ayrıca Apaf-1 bcl-2 ailesinin homoloğu olan ced9'a bağlanarak apoptozu baskılama yoluna da gidebilir (33, 60, 84).

Böbrek hücreleri için bazı yaşamsal faktörler belirlenmiştir. Mezangiyal ve tübüler epitelyal hücreleri serumdaki yoksun bırakmak ölüme yol açar. İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) ve temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF) mezangiyal hücreleri apoptozdan korur (11). Epidermal büyüme faktörü (EGF) de proksimal tübülü hücrelerinin apoptoz ile ölümünü engeller (68). Hücre dışı matriks epitelyal ve mezangiyal hücreler için özellikle de çözünmüş faktörler ortamda yoksa yaşamsal destek sağlar. Bu etkisi integrin reseptörleri yoluyla (60). Glomerüler bazal membran da mezangiyal hücreler için yaşamsal bir destekdir. Ancak skleroza giden glomerüllerde bulunan tip-1 kollajenin bu destekde yeri yoktur.

Böbrek hücreleri için bazı ölümcül sinyaller de belirlenmiştir. Glomerüler epitelyal ve mezangiyal hücre kültürlerinde TNF- $\alpha$ 'nın apoptoz yolu ile sitotoksik olduğu gösterilmiştir.

İL-1- $\alpha$ 'da mezangiyal hücreler için bir ölüm sinylidir. Ancak bu iki faktör de apitelyal hücrelerde apoptoz yapmazlar. Fas aktivasyonu, oksijen radikalleri ve anti thy-1 mezangiyal hücrelerde apoptoz yaparlar (60). TNF- $\alpha$ , protein kinaz C inhibisyonu, fas aktivasyonu, nefrotoksinler ve ceramid tübül hücrelerinde apoptoz yaparlar. Ceramid, TNF- $\alpha$  ve fas aktivasyonunun yaptığı apoptozun aracısıdır (9, 49, 51, 56, 100).

Fas (cd-95) vücuttaki pek çok hücrede bulunan bir yüzey reseptörüdür. Fas ligandı Fas'a bağlanarak hücre içinde caspasları aktive ederek apoptozu başlatır. Fas ligandı temel olarak sitotoksik T lenfositlerce salgılanır (4, 87). Ayrıca makrofajlarda ve böbrek hücre kültürlerinde de salgılanabildiği gösterilmiştir. Eriyebilen Fas reseptörleri de tanımlanmıştır ve bunlar Fas ligandı bağlayarak apoptozdan koruyucu bir etki yapabilmektedir (14). İnsan ve farede, mezangiyal ve tübülü hücreleri Fas reseptörü bulundurabilirler. Bakteriyel endotoksinler ve bazı sitokinler (TNF- $\alpha$ , İL-1- $\beta$ ,  $\gamma$ -İNF) Fas mRNA'sını ve Fas reseptörünü artırarak böbrek hasarı yaparlar (16, 87). Fas mRNA'sında artış 1 saat sonra başlar ancak Fas reseptörünün yüzeyde görülmeye başlanması 48-72 saat sonra en yüksek düzeye ulaşır. Fas nedenli ölümden aktinomisin-D, FAP-1(Fas associated protein) ve protein trozin fosfataz koruyucu olabilirler (36, 53, 59, 60, 67).

Bazı sitoplazmik proteinler proteaz aktivasyonu yoluyla apoptozu açabilirler. Bunlar; DPR (Drosophila protein reaper), RIP (Mammalian reseptör interacting protein), TRADD (TNF receptor associated death domain) ve FADD/MORT-1 (Fas associated death domain)'dir. Apoptoz sahasındaki benzer davranışları dışında bu proteinlerin ilişkileri yoktur. Apoptoz sahası bunların oligomerize olmalarına ve reseptörlerine bağlanmalarına izin veren bir ortamdır. RIP, TRADD, FADD böbrek dahil pek çok organda bulunurlar (60).

C-myc hem hücre bölünmesinde hem de hücre ölümünde aktiftir. Kontrolsüz olarak ortamda artması büyüme faktörlerinin varlığında hücresel proliferasyon artımıyla sonuçlanırken, ortamda olmayışı ile de apoptoz gelişir (10). C-myc p53'ü aktive eder ve apoptoz için ona ihtiyaç duyar (32). Hücre kültüründe serumu uzaklaştırılan mezangiyal ve tübülü hücrelerinde TNF- $\alpha$  gibi bir faktörün yaptığı apoptoz C-myc mRNA'sı eklenmesiyle uzar (17, 23, 60).

P53 solit organ neoplazilerinde en sık mutasyona ya da delesyona uğrayan genidir. Deneysel beyin iskemisi gibi benign olaylarda da artar. Radyasyon ve ilaçlara bağlı DNA hasarında timositler p53'e ihtiyaç duyarlar. Hücre ölümündeki mekanizması henüz tam

açıklanmış değildir. Antiapoptotik gen olan bcl-2'yi azaltırken, onun antagonisti gibi davranan bax'ı artırır. Hücreleri p53'ün yaptığı apoptozdan bcl-2 ve hücre dışı yaşamsal faktörler korur (12, 60, 70).

Bcl ailesi ilk kez B hücreli lenfomadan izole edilen bir gen grubudur. Apoptozu önleyen bcl-2 ve bcl-xL ile apoptozu artıran Bax ve Bad gibi üyeler içerir. Apoptoza olan etkilerini nasıl yaptıkları net olmamakla beraber, muhtemelen Apaf-1'e bağlanarak ya da mitokondride sitokrom-c'yi etkileyerek caspas aktivasyonunu önlemektedir (33). Bcl-2 mitokondri ve diğer hücre içi membranlara bağlı bir proteindir (34). Temel görevinin reaktif oksijen radikalleri ile savaşmak olduğu düşünülmektedir (38). Hem ısı şoku ve radyasyon gibi fizik ajanlarla hem de glukokortikoidler, toksinler, oksidanlar gibi şimik ajanlarla oluşan apoptozu önler (65). Böbrek hücrelerinde de apoptozdan koruyucu etkisi gösterilmiştir. Mezangiyal hücreler, tübüler epiteller, fibroblastlar ve metanefrik stem hücreler bcl-2 mRNA'sını oluşturabilirler (79). Fetüsde bcl-2 üretimi erişkinlerden çok daha fazladır. Böbrek hücrelerindeki miktarının kontrolü çevresel faktörlerin denetimi altındadır. Böbrek hastalıklarında durumu çok karışıktır. Transgenik fare B lenfositlerinde aşırı oluşmakta ve otoimmünite nedeniyle proliferatif glomerülonefrit oluşturabilirken, bcl-2 mutasyonu olan farelerde doğuştan polikistik böbrek hastalığı oluşmakta ve böbrek yetmezliği gelişmektedir (60). Bcl-xL ve xS büyüme faktörlerinin yokluğunda gelişen apoptozdan koruyucu etki yaparlar (22). Siklosporin-A'nın lenfositlerde yaptığı apoptozdan bcl-xL bcl-2'den daha koruyucudur. Böbrekte esas olarak Bcl-xL'nin düşünülmektedir (23, 29, 44, 60, 86, 87, 99).

Apoptoza katılan proteazlardan ilk olarak, interlökin-1- $\beta$  konverting enzim (ICE) tanımlanmıştır. Ayrıca apoptoz esnasında Poly(ADP)ribose polimeraz (PARP) gibi bazı proteinlerinde sentezi artar. ICE ile oluşan apoptozdan hücreler bcl-2 ile korunabilirler. ICE yokluğu olan farelerde apoptozla ilişkili gelişimsel anomali görülmemekle beraber Fas yoluyla gelişen apoptoz bozuktur. ICE muhtemelen tek bir yol değildir. Böbrek hücre kültürlerinde ICE miktarı düşüktür (33, 69, 76).

Yama, ICE yolunun ileri basamaklarında yer alır. Asp-spesifik CYS proteazı aktive ederek PARP sentezini sağlar. Yama sitosol yokken çekirdekdeki apoptotik değişimleri sağlayamaz bu da ek komponentlerin de olduğunu düşündürmektedir. Yama mRNA'sı böbrek hücre kültürlerinde gösterilebilmektedir (24, 48, 60, 64, 72, 90, 98).

## 2.5. APOPTOZUN BÖBREK HASTALIKLARINDAKİ ROLÜ

Sağlıklı glomerülde hücre döngüsü çok yavaştır. Fare glomerül hücrelerinde %0.01 oranında insan da ise %0.03 oranında görülür (7). Pek çok böbrek hastalığı lökosit infiltrasyonu ile karakterizedir ve bunların çoğu da mono nükleer hücrelerden oluşur. Bu hücreler parankimde apoptoza neden olan TNF- $\alpha$ , fas ligand ve serbest oksijen radikalleri gibi maddelerin teminini sağlarlar (4, 40). Akut böbrek yetmezliğinin iyileşme fazında ve proliferatif glomerülonefritlerin hipersellülaritesinin çözülme safhasında fazlalık hücrelerin temizlenmesi apoptoz ile olmaktadır (45, 77, 79). Yüksek oranda apoptoz parankimal hücre kaybına ve tübüler atrofiye neden olarak böbrek hastalığının kronikleşmesine ve ilerlemesine de katkıda bulunabilir (80, 93). Fibroblastların apoptozunun önlenmesi ile de böbrekte fibrozun daha da fazla artması mümkündür (60). TNF- $\alpha$  ve fas ligand böbrek hücrelerinden salgılanabilirler ve böylece mononükleer hücrelerin apoptozu önlenerek hasar devam eder (4, 50). İnsanda postinfeksiyöz glomerülonefritlerde nötrofillerin apoptozu belirgin olarak göze çarpar (73). Böbrekte apoptoz; ANCA (+) vaskülitlerde, Ig A nefritinde ve lupus nefriti gibi proliferatif nefritlerde 50-100 katına kadar artmaktadır. Bu tip nefritlerde fas, bcl-2 ve bax miktarının arttığı gözlenmiştir. Glomerüler sellülaritesi normal olan minimal change hastalığı ve membranöz nefropatide ise bcl-2 ve bax miktarı kontrol grubuyla aynı bulunmuştur. Bir çalışmada 60 dakikalık iskemiden sonra bakılan apoptozda 2 adet pik görülmüştür. Birinci pik ilk 48-72 saatte olmakta ikinci pik ise nekrotik tübüllerin ve hiperplastik epitelin düzelleme dönemine denk gelen 7-14. günde görülmüştür. Parankimde ve tübülü epitellerinde ilerleyici kayıp sonucunda kronik renal atrofi gelişmektedir. HIV nefropatisinde, subtotal nefrektomide, papiller nekrozda ve kronik iskemide tübülü epitel hücrelerinde apoptoz görülür (60, 75, 81). Polikistik böbrek hastalığında da apoptoz görülmekte ve apoptoz ile ilişkili genlerde de anormallikler rapor edilmiştir (91). Gelişmekte olan böbrekte apoptoz anomalileri, agenezi ve displazilere neden olmaktadır (43, 71). Bcl-2 mutasyonu için taşıyıcı olan farelerde polikistik böbrek hastalığı hafif şekilde olmaktadır (81). Bcl-2'nin antagonisti olan bax normalde kist oluşumuna neden olmaktadır (60). Cpk/cpk farelerde C-myc fazla miktarlarda bulunmaktadır (29, 31, 91).

Siklosporin-A ve kortikosteroidler, lenfositlerde apoptoz yapması nedeniyle böbrek nakillerinde ve glomerülonefritlerde kullanılmaktadır. Şimdilik tedavideki yeri bu kadarla sınırlı gibi görünmektedir. Verici böbreğindeki tübülüs hücrelerinde apoptozun erken rejeksiyonunun bir göstergesi olabileceği gösterilmiştir (57). Apoptoz basamaklarında yer alan bazı moleküllerin eriyebilen antikor ya da antijenlerle bağlanarak uzaklaştırılması ilerde gündeme gelebilir. Ancak bunun için glomerüler hastalıklardaki tam rolü belirlenmelidir. Lökositler için yaşamsal olan faktörler böbrek hücrelerine zarar vermeden ortamdan alınabilirse lökosit apoptozu yolu ile inflamasyonun giderilmesi mümkün olabilir. Yine fibroblastlara özel apoptotik mekanizmanın gen mühendisliği ile geliştirilebilirse böbrekte fibroz gelişimi önenebilir (28, 73, 74, 89, 94).

## **2.6. PCNA ( PROLIFERATING CELL NUCLEAR ANTIGEN)**

Glomerüler hücrelerin proliferasyon anormalliği, glomerül hastalıklarında kritik bir önem taşır. Proliferasyon, özellikle glomerüler sklerozdan ve obliterasyondan sorumludur. Büyüme faktörleri, sitokinler ve hormonların yaptığı uyarı ile özel transkripsiyon faktörlerinin etkisiyle proliferasyon olmaktadır. PCNA normal hücre bölünmesi esnasında normal dokularda da ortaya çıkan bir çekirdek proteindir. Ayrıca pek çok çalışmada malign dokularda da gösterilmiştir. Hücre siklusunda dinlenme fazı hariç her fazda görülür. Proliferasyonun bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. 36 kD ağırlığında asidik, non histon bir polipeptiddir. İlk kez Miyachi ve arkadaşları tarafından tanımlanmış ve bu ismi almıştır. Bravo ve arkadaşları ise aynı proteini tanımlamış ve “cyclin” adını vermişlerdir. Mathews ve arkadaşları ise bu iki molekülün aynı olduğunu öne sürmüşlerdir. DNA replikasyonu için gerekli bir kofaktördür. Normal böbrek hücrelerindeki proliferasyon hızı PCNA ölçümleriyle yapılmış ve en fazla olarak glomerüler ve peritübüler endotelde tespit edilmiştir (%38-43). APSGN (akut pos streptokokal glomerülonefrit) de yapılan bir çalışmada glomerüler yumakta ve Bowman kapsülünün paryetal epitel hücrelerinde arttığı saptanmıştır. Çift boya ile yapılan çalışmada makrofajlarda da az miktarda PCNA pozitifliği gösterilmiştir (5, 15, 18, 55, 58, 66, 82, 97).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya böbrek biyopsisiyle tanı konulmuş lupus nefriti olan 21 ve primer MPGN tanısı konulmuş 18 hasta alındı. Böbrek biyopsisi endikasyonları:

- 1) Sürekli proteinürinin olması,
- 2) Aktif idrar sedimenti,
- 3) Böbrek fonksiyonlarında ani azalma.

Biyopsi yapılan hastaların hepsinde proteinüri vardı. Bu hastaların bir kısmında ise mikroskopik hematüri, böbrek fonksiyonlarında azalma, hipertansiyon, ödem veya hipoalbüminemi de proteinüriye eşlik ediyordu. Çalışmaya alınan tüm lupuslu hastalarda ARA'nın 1982 yılında son halini belirlediği sınıflandırma kriterlerinden en az 4'ü vardı ve böbrek biyopsisinde diffüz proliferatif glomerülo nefrit saptanmıştı (34, 57). Primer MPGN tanısı için ise, histopatolojik bulgularla birlikte, öykü, fizik inceleme, serolojik testler, ( HBsAg, HbeAg, AntiHBc antikor, AntiHbe antikor, Anti nükleer antikor, Anti-ds DNA brusella ve salmonella agglütinasyon testleri) ve görüntüleme yöntemleri ( PA Akciğer grafisi ve batin ultrasonografisi) ile sistemik hastalıklar ekarte edildi.

Lupus nefritli hastalarda, yüksek doz kortikosteroid, dipridamol ve uygun hastalarda ACE (angiotensin converting enzim) inhibitörleri verildi. Proteinürisi düzelmeyenlere pulse siklofosfamid tedavisi uygulandı. Ek olarak destek tedaviler uygulandı (diğer antihipertansifler, diüretikler, HMG Co-A enzim inhibitörleri). MPGN'li hastalarda ise yaş, böbrek fonksiyonları ve proteinüri düzeylerine göre; ACE inhibitörleri, dipridamol ve kortikosteroid tedavisi verildi. Ağır proteinürisi olan ve kortikosteroide dirençli olgularda pulse siklofosfamid denendi. 16-20 haftalık dönemde düzelmeyen hastaların kortikosteroidleri kesildi.

Bu seçilen hastaların böbrek biyopsileri tekrar gözden geçirilerek PCNA ve apoptoz değerlendirilebilmesi için yeterli miktarda glomerül sayısı olan hastalar çalışmaya alındı. Değerlendirmeye alınan tüm hastaların başvuruda, üçüncü, altıncı ve onikinci aylardaki fizik inceleme, öykü ve kan şekeri, BUN, kreatinin, kreatinin klirensi, serumda total protein , albümin , total kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol, trigliserit, sodyum, potasyum, kalsiyum, fosfor, ürik asit ve günlük proteinüri gibi biyokimyasal testleri ile hematokrit, beyaz küre, sedimentasyon gibi hematolojik değerleri kaydedildi. Normal böbreklerdeki apoptozu

gözlemek için de travma nedeniyle nefrektomi yapılmış hastaların biyopsi materyalleri kullanıldı (şekil 6).

Alınan biyopsi örnekleri Dubosok Brosil fiksatifinde tespit edildikten sonra, rutin takip işlemlerinden geçirildi. Hazırlanan parafin doku bloklarından 3-4 mikron kalınlığındaki kesitlerden Hematoksilen + Eozin (H+E) , Periodic Asid Schiff (PAS), Kongo kırmızısı ve kristal viole ile boyanmış böbrek iğne biyopsileri değerlendirildi.

### Strept Avidin-Biotin Boyama Yöntemi

#### Hazırlık

1. % 10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edilmiş dokulara ait parafin bloklardan 3-4 mikron kalınlığında kesitler yapıldı.
2. Kesitler deparafinizasyon amacıyla 55-60 derecede bir saat etüvde bekletildi.
3. Daha sonra iki kez beşer dakika ksilolde bekletildi.
4. Absolü etil alkol içine konuldu.
5. Kesitler % 95'lik etil alkol içine alındı.
6. Kesitler rehidrate edildikten sonra fosfat tamponlu tuzlu suda (Phospate Buffer Saline (PBS), pH 7.2) yıkandı. Her kesitin çevresi kurularak nemli ortama yerleştirildi.

#### PCNA için boyama yöntemi

7. Her kesitin üzerine kaplayacak şekilde 2-3 damla "Peroxidase Blocking Reagent" (% 3 hidrojen peroksit solüsyonu) damlatılarak nemli ortamda oda sıcaklığında 5-15 dakika bekletildi. Amaç, ortamda bulunan endojen peroksitleri yok ederek nonspesifik zemin boyanmasını azaltmaktır.
8. Kesitlerin üzerindeki fazla solüsyon dikkatlice dökülüp önceden hazırlanmış PBS solüsyonunda beş dakika süreyle yıkandı.
9. Kesitlerin etrafı dikkatlice kurulandı ve her kesitin üzerini kaplayacak şekilde 1-2 damla "Nonspecific Blocking Reagent" (normal serum) damlatıldı. 20 dakika inkübe edildi. Bunun amacı, antikolların kollajen ya da retikülin liflerindeki proteinlere nonspesifik bağlanmasından dolayı olabilecek zemin boyanmasını azaltmaktır. Daha sonra lam üzerindeki fazla serum döküldü, ancak yıkama yapılmadı.

10. Kesitlerden birine 1:25 oranında sulandırılmış primer antikor [ monoklonal anti-PCNA antikorü PC-10 (BioGenex)] damlatıldı. Oda ısısında nemli ortamda 120 dakika bekletildi.
11. Kesitler beşer dakika PBS solüsyonunda yıkandı ve sonra kurulandı.
12. Kesitlerin üzerine multilink biotinylated sekonder antikor (Lipshaw, Immunon, kod no: 485.000) damlatılarak oda ısısında 30 dakika bekletildi.
13. Tamponlanmış yıkama solüsyonunda 5-10 dakika yıkanarak solüsyonun fazlası kesitlerin üzerinden alındı.
14. Kesitler üzerine “Strept Avidin Peroxidase Reagent” (Lipshaw, Immunon, kod no:485.000) damlatıldı. Oda ısısında 30 dakika inkübe edildi.
15. PBS ile yıkama işleminden sonra, kesitlerin üzerine AEC (3 amino 9 ethyl carbozole) kromojen solüsyonu (Lipshaw, Immunon, kod no:484700) damlatıldı. 5-20 dakika bekletildi ve çeşme suyuyla yıkandı.
16. Mayer Hematoksilen ile 30-60 saniye zemin boyaması yapıldı, yıkanarak % 0.25’lik amonyaklı su ile mavileştirildi ve tekrar distile su ile yıkandı.
17. Kesitler gliserin jel ile kapatılarak mikroskopik incelemeye hazır hale getirildi.

#### Apoptoz için peroksidaz boyama yöntemi

1. Deparafinize haldeki dokulara taze hazırlanan Proteinase K (20 microgram/ml Oncor-Germany) solüsyonu her 5 cm<sup>2</sup> ye yaklaşık 60 mikrolitre miktarında eklendi.
2. Daha sonra dokular her biri 2 dakika olmak üzere 2 defa distile su ile yıkandı.
3. Kesitler PBS içine eklenmiş olan % 3’lük hidrojen peroksit ile oda ısısında 5 dakika inkübe edildi. Burada amaç, endojen peroksidaz aktivitesini azaltmaktır.
4. Bu işlemten sonra dokular her biri beşer dakika olmak üzere iki kez PBS ile yıkandı.
5. Daha sonra kesitlere hızlı bir şekilde 75µl equilibration buffer (ApopTag, Peroxidase Kits kod no: S7100) uygulandı ve oda ısısında 10 saniye bekletildi.
6. Dokuların etrafındaki fazla sıvı kurulandıktan sonra her 5 cm<sup>2</sup>’ye 55 µl olacak şekilde TdT enzimi (ApopTag, Peroxidase Kits kod no: S7100) uygulandı ve 37 derecede 1 saat süreyle inkübe edildi.



7. Daha sonra kesitler stop/ wash buffer (ApopTag, Peroxidase Kits kod no: S7100) ile yıkandıktan sonra oda ısısında 10 dakika inkübe edildi.
8. Kesitler her biri birer dakika olmak üzere PBS ile 3 kez yıkandı ve kurulandı.
9. Dokulara oda ısısında her 5 cm<sup>2</sup>'ye 65 µl olacak şekilde anti-digoxigenin peroxidase conjugate (ApopTag, Peroxidase Kits kod no: S7100) eklenerek oda ısısında 30 dakika inkübe edildi.
10. Her biri iki dakika olmak üzere PBS ile dört kez yıkama yapıldı ve kurulandı.
11. Dokuların üzerini tamamen kapatacak kadar peroxidase substrate (DAB) eklenerek mikroskopta bakıldı ve uygun boyanmanın 3. dakikada olduğu tespit edildi.
12. Kesitler her biri 1 dakika olacak şekilde üç kez distile su ile yıkandı ve oda ısısında beş dakika inkübe edildi.
13. Daha sonra kesitlere zemin boyanması için metil green eklendi ve oda ısısında 10 dakika inkübe edildi.
14. Kesitler distile suya 2 kez 10 kere batırıldıktan sonra 30 saniye süreyle çalkalandı.
15. Ardından kesitler % 100'lük N-Butanol içinde 2 kez 10 saniye süreyle ve 3. kez 30 saniye süreyle çalkalamadan bekletildi.
16. Preparatlar dehidrate etmek için 3 kez xylolden geçirildi.
17. Kesitlere lamel kapatıldı ve mikroskop altında incelendi.
18. Kesitler oda ısısında saklandı.

Lupus nefritli biyopsilerde (H+E) boyasında aktivite ve kronisite indeksleri belirlendi (34). Tüm biyopsilere apoptoz boyaması yapıldı. Boyayı tutan, koyu lacivert-siyah renkte küçülmüş çekirdekli hücreler apoptotik hücreler olarak kabul edildi (Şekil 1 ve 2). Tüm preparatların kendi negatif kontrolleri incelendi ve boya almadığı görüldü. Glomerüllerdeki apoptotik hücreler sayıldı ve toplam glomerül sayısına bölünerek apoptotik indeksleri çıkarıldı. İnterstisyumdaki apoptotik hücreler ise; 40x10 (400) büyütme sahasındaki glomerül içermeyen 2 sahada sayıldı (Şekil 3,4 ve 5 ). Biyopsilere PCNA boyaması uygulandı. Boyanın çekirdeklerde kırmızı-kahverengi renkte tutulduğu gözlemlendi. Glomerüllerde tüm hücreler sayılarak boya alan hücreler oranlanarak % değer olarak belirlendi. Tübülüslerde ve interstisyumda 100 hücre sayılarak boya alan hücreler % değer olarak belirtildi. PCNA değerleri <% 10, % 10-25, % 25-50, % 50-75 ve >% 75 olarak dizinlendi ( şekil 7 ve 8).

#### Rutin tetkiklerde kullanılan araç ve gereçler

Sodyum	İyon selektif elektrot—OLYMPUS AU-5200 otomasyon cihazı
Potasyum	İyon selektif elektrot—OLYMPUS AU-5200 otomasyon cihazı
BUN	Enzimatik, kinetik yöntem
Kreatinin klirensi	Kolorimetrik yöntem
Kalsiyum	Cresal Phtholein Complexon (CPC) yöntemi
Fosfor	Fotometrik U V test
Hemogram	Coulter STKS cihazı
Total protein	Biüret metodu
Albümin	BCG metodu
Proteinüri	Escbach yöntemi
Ürik asit	Enzimatik, kolorimetrik yöntem (ürikaz metodu)
Total kolesterol	Enzimatik, kolorimetrik yöntem
HDL kolesterol	Enzimatik, Kolorimetrik yöntem (çöktürmesiz)
LDL kolesterol	Friedwald formülü ( $LDL = \text{total kolesterol} - (HDL + \frac{Trg}{5})$ )
Trigliserit	Enzimatik, kolorimetrik yöntem
Hepatit markerleri	MEİA (microparticuar enzym immuno assay) AXSYM cihazı (Abbot)
Salmonella agg.	Gruber-Widal tüp agglütinasyon metodu
Brusella agg.	Wright tüp agglütinasyon metodu
Kan şekeri	Glukoz oksidaz yöntemi

Sedimentasyon(ESR) Westergren metodu

Çalışmamızın istatistiksel analizinde non parametrik test Mann-Whitney U testi, SAS system 1999 ve SPSS 9.0 paket programı kullanılmıştır. Ortalama değerler (mean±standart sapma) olarak verilmiş ve önemlilik sınırı ( $p < 0.05$ ) kabul edilmiştir.

#### 4. BULGULAR

Çalışmaya alınan 21 lupus nefritli hastanın (G1) yaş ortalaması  $29.28 \pm 9.66$  [alt ve üst sınır (R) 16-51] ve 18 MPGN'li hastanın (G2)  $33.88 \pm 15.85$  (R 16-71) ve toplam (G1+G2) 39 hastanın  $31.41 \pm 12.92$  (R 16-71) idi.

G1'de 1 (% 4.8) hasta erkek, 20 (% 95.2 ) hasta kadındı. G2'de 13 (% 72.2) hasta erkek, 5 (% 27.8) hasta kadındı. İki grup arasında E/K farklılığı mevcuttu ( $p < 0.0001$ ).

İlk başvuruda G1'de 9 (% 42.9), G2'de 12 (% 66.7) ve G1+G2'de 21 (% 53.8) hastada kan basıncı değerleri yüksek (140/90 mmHg üzerinde) bulundu. G1'de 12 (% 57.1), G2'de 6 (% 33.3) ve G1+G2'de 18 (% 46.2) hastada normal (140/90 mmHg altında) sınırlar içindeydi (Tablo X ve XI). Bu fark istatistiksel olarak önemli değildi ( $p = 0.122$ ). 3.ayda G1'de 8 (% 38.1), G2'de 10 (% 55.6) ve G1+G2'de 18 (% 46.1) hastada yüksek, G1'de 13 (% 61.9), G2'de 8 (% 44.4) ve G1+G2'de 21 (% 53.9) hastada normal idi ( $p = 0.275$ ). 6.ayda G1'de 5 (% 27.8), G2'de 9 (% 72.2) ve G1+G2'de 14 (% 35.9) hastada yüksek, G1'de 16 (% 76.1), G2'de 9 (% 27.8) ve G1+G2'de 25 (% 64.1) hastada normal idi ( $p = 0.08$ ). 12.ayda G1'de 2 (% 9.6), G2'de 7 (% 38.9) ve G1+G2'de 9 (% 23) hastada yüksek, G1'de 19 (% 90.4), G2'de 11 (% 61.1) ve G1+G2'de 30 (% 77) hastada normal idi. 12.ayda G1'de G2'ye göre kan basıncı normal değerlerde olan hasta sayısı önemli oranda fazla idi ( $p = 0.03$ ). G1 ve G2'deki kan basıncı izlemleri Şekil 13 ve 14'te verilmiştir.

G1'de ilk başvuruda anti-DNA antikoru 5 (% 23.8) hastada (-), 11 (% 52.4) hastada (+), 2 (% 9.5) hastada (++) , 3 (% 14.3) hastada (+++) olarak bulundu. G2'de ANA (+) olgu yoktu ( Tablo XII).

İlk başvuruda G1'de ortalama hematokrit değeri (%)  $29.66 \pm 5.57$  (R 20-44) idi. G2'de ise  $34.38 \pm 9.44$  (R 15-49) ve G1+G2'de  $31.84 \pm 7.86$  (R 15-49) olarak bulundu (Tablo XII ve XIII). 3.ay değerleri G1'de  $28.76 \pm 4.95$  (R 21-37), G2'de  $35.38 \pm 9.12$  (R 21-49) ve G1+G2'de  $31.82 \pm 7.83$  (R 21-49) idi. 6.ay değerleri G1'de  $30.81 \pm 5.22$  (R 20-40), G2'de  $35.22 \pm 8.25$  (R 18-46) ve G1+G2'de  $32.84 \pm 7.06$  (R 18-46) idi. 12.ay değerleri G1'de  $31.33 \pm 4.74$  (R 24-40), G2'de  $34.77 \pm 9.53$  (R 17-49) ve G1+G2'de  $32.92 \pm 7.45$  (R 17-49) idi. G1 ve G2'de hematokrit değerlerinde; başvuru ile 3.ay, 6.ay, ve 12.ay izlemlerindeki değişim önemli değildi ( $p = 0.468$ ). G1'de G2'ye göre daha düşüktü ( $p = 0.032$ ) (Şekil 15 ve 16).

İlk başvuruda G1'de ortalama beyaz küre sayısı  $\text{mm}^3$ 'de,  $7761.90 \pm 3135.67$  (R 3700-13100) idi. G2'de ise  $9133.33 \pm 2908.60$  (R 3900-15200) ve G1+G2'de  $8394.87 \pm 3072.36$  (R 3700-15200) idi. 3.ay değerleri G1'de  $6814.28 \pm 2105.77$  (R 2900-10500), G2'de  $8027.77 \pm 2574.26$  (R 4400-13300) ve G1+G2'de  $7374.35 \pm 2382.02$  (R 2900-13300) idi. 6.ay değerleri G1'de  $7180.95 \pm 2184.86$  (R 4000-12400), G2'de  $7655.55 \pm 2526.38$  (R 4500-14500) ve G1+G2'de  $7400 \pm 2329.21$  (R 4000-14500) idi. 12.ay değerleri G1'de  $7433.33 \pm 2548.20$  (R 4000-14600), G2'de  $7322.22 \pm 2396.70$  (R 4500-12200) ve G1+G2'de  $7382.05 \pm 2447.54$  (R 4000-14600) idi. G1 ve G2'de başvuru, 3.ay, 6.ay, 12.ay izlemlerindeki beyaz küre sayısındaki değişim önemli değildi ( $p=0.187$ ). Beyaz küre sayıları her iki grupta benzerdi ( $p=0.618$ ).

İlk başvuruda BUN, G1'de  $33.29 \pm 22.15$  (R 8-92), G2'de  $32.61 \pm 22.53$  (R 8-89), G1+G2'de  $32.97 \pm 22.04$  (R 8-92) mg/dl idi (Tablo XII ve XII). 3.ayda G1'de  $31.27 \pm 20.98$  (R 9-88), G2'de  $33.71 \pm 22.87$  (R 11-93), G1+G2'de  $32.44 \pm 22.14$  (R 9-93) mg/dl idi. 6.ayda G1'de  $30.91 \pm 20.33$  (R 8-91), G2'de  $34.84 \pm 23.71$  (R 12-95), G1+G2'de  $32.81 \pm 21.25$  (R 8-95) mg/dl idi. 12.ayda G1'de  $29.12 \pm 19.34$  (R 10-75), G2'de  $35.17 \pm 23.91$  (R 8-105), G1+G2'de  $32.31 \pm 20.84$  (R 10-105) mg/dl idi. G1 ve G2'de BUN düzeyindeki değişim önemli değildi ( $p=0.145$ ). BUN düzeyi G1 ve G2'de benzerdi (Şekil 15 ve 16).

İlk başvuruda kreatinin klirensi (CCr) G1'de 1 (% 4.8), G2'de 2 (% 11.1) hastada 10 ml/dk'nın altında idi. G1'de 6 (% 28.6), G2'de 4 (% 22.2) hastada CCr 10-50 ml/dk idi (Tablo XII ve XII). G1'de 14 (% 66.7), G2'de 12 (% 66.7) hastada ise 50 ml/dk'nın üzerinde idi. Her iki grupta CCr değerleri arasında önemli fark bulunamadı ( $p=0.756$ ).

3. ayda CCr G1'de 1 (% 4.8), G2'de 3 (% 16.7) hastada 10 ml/dk'nın altında idi. G1'de 3 (% 14.3), G2'de 2 (% 11.1) hastada 10-50 ml/dk idi. G1'de 17 (% 81), G2'de 13 (% 72.2) hastada 50 ml/dk'nın üzerinde idi. Her iki grupta CCr değerleri arasında önemli fark bulunamadı ( $p=0.332$ ).

6. ayda CCr G1'de 1 (% 4.8), G2'de 3 (% 16.7) hastada 10 ml/dk'nın altında idi. G1'de 3 (% 14.3), G2'de 3 (% 16.7) hastada 10-50 ml/dk idi. G1'de 17 (% 81), G2'de 12 (% 66.7) hastada 50 ml/dk'nın üzerinde idi. Her iki grupta CCr değerleri arasında önemli fark bulunamadı ( $p=0.222$ ).

12. ayda CCr G1'de 1 (% 4.8), G2'de 4 (% 22.2) hastada 10 ml/dk'nın altında idi. G1'de 2 (% 9.5), G2'de 1 (% 5.6) hastada 10-50 ml/dk idi. G1'de 18 (% 85.7), G2'de 13 (% 72.2) hastada 50 ml/dk'nın üzerinde idi. Her iki grupta kreatinin klirensi değerleri arasında önemli fark bulunamadı (p=0.169). Kreatinin klirensindeki azalma G1 (p=0.80) G2 (p=0.861) 'de bir yıllık izlemde önemli bulunmadı (Şekil 9, 10, 15, 16).

İlk başvuruda <1g/gün proteinüri G1'de 1 (% 4.8) hasta vardı. G2'de yoktu. G1'de 11 (% 52.4), G2'de 4 (% 22.2) hastada proteinüri 1-3.5 g/gün idi. G1'de 9 (% 42.9), G2'de 14 (% 77.8) hastada 3.5 g/gün'ün üzerinde idi. G1'de proteinüri G2'ye göre önemli oranda düşüktü (p=0.025) (Tablo XII ve XII).

3. ayda proteinüri G1'de 9 (% 42.9), G2'de 2 (% 11.1) hastada 1 g/gün'ün altında idi. G1'de 10 (% 47.6), G2'de 12 (% 66.7) hastada proteinüri 1-3.5 g/gün idi. G1'de 2 (% 9.5), G2'de 4 (% 22.2) hastada 3.5 g/gün'ün üzerinde idi. G1'de proteinüri G2'ye göre önemli oranda düşüktü (p=0.025).

6. ayda proteinüri G1'de 19 (% 90.5), G2'de 11 (% 61.1) hastada 1 g/gün'ün altında idi. G1'de 1 (% 4.8), G2'de 7 (% 38.9) hastada proteinüri 1-3.5 g/gün idi. G1'de 1 (% 4.8) hastada 3.5 g/gün'ün üzerinde idi. G2'de yoktu. G1'de proteinüri G2'ye göre önemli oranda düşüktü (p=0.015).

12. ayda proteinüri G1'de 21 (% 100), G2'de 14 (% 77.8) hastada 1 g/gün'ün altında idi. G2'de 4 (% 22.2) hastada proteinüri 1-3.5 g/gün idi. G1'de yoktu. Her iki grupta da 3.5 g/gün'ün üzerinde proteinüriye rastlanmadı. G1'de proteinüri G2'ye göre önemli oranda düşüktü (p=0.015). G1 ve G2 izlemlerinde proteinüri de azalma önemli idi ( ikisi için de p<0.001). G1'deki azalma ilk başvuruda ve izleyen ölçümlerde G2'den daha önemli idi (sırasıyla p=0.026, p=0.032, p=0.046, p=0.024) (Şekil 11, 12, 15, 16).

G1'de ortalama değerler şöyle idi: BUN 33.28±22.15 (R 8-92) mg/dl, kreatinin değerleri 1.52±1.20 (R 0.5-5.2) mg/dl, CCr 58.33±28.42 (R 6-100) ml/dk, albümin 2.93±0.74 (R 1.7-4.3) g/dl, total protein 6.29±1.22 (R 4.1-8.3) g/dl, trigliserit 247.47±91.77 (R 106-456) mg/dl, total kolestreol 232.95±80.43 (R 134-453) mg/dl, olarak bulundu (Tablo XII).

G2'de ortalama değerler şöyle idi: BUN 32.61±22.53 (R 8-89) mg/dl, kreatinin değerleri 2.06±1.80 (R 0.5-8) mg/dl, CCr 60.94±31.78 (R 9-130) ml/dk, albümin 2.54±0.48 (R 1.7-3.5) g/dl, total protein 5.54±0.71 (R 4.3-6.7) g/dl, trigliserit 345.55±169.37 (R 132-776) mg/dl, total kolesterol 288.05±103.15 (R 140-458) mg/dl, olarak bulundu (Tablo XIII).

İlk başvuruda G1'de ortalama total kolesterol  $232.95 \pm 40.43$  (R 134-453) mg/dl idi. G2'de  $288.05 \pm 103.15$  (R 140-520), G1+G2'de  $258.38 \pm 94.55$  (R 134-520) mg/dl idi (Tablo XII ve XIII). 3.ay değerleri G1'de  $204.09 \pm 43.71$  (R 140-363), G2'de  $242.22 \pm 113.54$  (R 158-653), G1+G2'de  $221.69 \pm 84.52$  (R 140-653) mg/dl idi. 6.ay değerleri G1'de  $195.04 \pm 56.79$  (R 124-380), G2'de  $213.72 \pm 86.34$  (R 140-524), G1+G2'de  $203.66 \pm 71.56$  (R 124-524) mg/dl idi. 12.ay G1'de  $196.42 \pm 40.26$  (R 154-308), G2'de  $208.11 \pm 58.30$  (R 142-365), G1+G2'de  $201.82 \pm 49.07$  (R 142-365) mg/dl idi. G1 ve G2'de total kolesterol düzeylerinde başvuru ile 3.ay 6.ay ve 12.ay izlemlerinde azalma önemli idi ( $p < 0.05$ ). Ancak gruplar arasında fark önemsizdi ( $p = 0.676$ ) (Şekil 15 ve 16).

İlk başvuruda G1'de ortalama total lipid  $1021.05 \pm 566.03$  (R 515-3321) mg/dl idi. G2'de  $1082.72 \pm 364.10$  (R 460-1874), G1+G2'de  $1049.51 \pm 478.44$  (R 460-3321) mg/dl idi. 3.ay değerleri G1'de  $911.66 \pm 273.33$  (R 630-1850), G2'de  $928.11 \pm 259.14$  (R 558-1587), G1+G2'de  $919.25 \pm 263.50$  (R 558-1850) mg/dl idi. 6.ay değerleri G1'de  $853.81 \pm 173.09$  (R 520-1187), G2'de  $875.22 \pm 210.10$  (R 472-1326), G1+G2'de  $863.67 \pm 189.20$  (R 472-1326) mg/dl idi. 12.ay değerleri G1'de  $793.95 \pm 128.75$  (R 459-1085), G2'de  $892.83 \pm 219.85$  (R 548-1380), G1+G2'de  $839.60 \pm 181.22$  (R 459-1380) mg/dl idi. G1 ve G2'de total lipid düzeylerinde başvuru ile 3.ay 6.ay ve 12.ay izlemlerindeki azalma önemli idi ( $p < 0.05$ ). Ancak gruplar arasında fark önemsizdi ( $p = 0.519$ ).

İlk başvuruda G1'de ortalama trigliserit  $247.48 \pm 91.78$  (R 106-456) mg/dl idi. G2'de  $345.55 \pm 169.28$  (R 132-776), G1+G2'de  $292.74 \pm 140.43$  (R 106-776) mg/dl idi (Tablo XII ve XII). 3.ay değerleri G1'de  $220.14 \pm 79.22$  (R 119-428), G2'de  $251.61 \pm 74.73$  (R 145-377), G1+G2'de  $234.67 \pm 77.81$  (R 119-428) mg/dl idi. 6.ay değerleri G1'de  $220.52 \pm 84.10$  (R 102-460), G2'de  $237.11 \pm 85.60$  (R 158-425), G1+G2'de  $228.18 \pm 84.08$  (R 102-460) mg/dl idi. 12.ay değerleri G1'de  $234.67 \pm 90.85$  (R 112-450), G2'de  $240.38 \pm 83.23$  (R 165-444), G1+G2'de  $237.30 \pm 86.32$  (R 112-450) mg/dl idi. G1 ve G2'de trigliserit, başvuru ile 3.ay 6.ay ve 12.ay izlemlerinde azalma önemli idi ( $p < 0.05$ ). Ancak gruplar arasında fark önemsizdi ( $p = 0.152$ ).

G1'de 8 (%38.1), G2'de 3 (%16.7) hasta Hepatit B virüsüyle karşılaşmıştı. G1'de 13 (%61.9), G2'de 15 (%83.3) hastada Hepatit B testlerinin hepsi (-) idi. G1 ve G2 'de fark önemli değildi ( $p = 0.130$ ).

G1'de böbrek biyopsisinde aktivite indeksi ortalama  $11.23 \pm 3.41$  (R 6-18) idi (Tablo X). Tübülüslerde ve interstisyumdaki PCNA pozitifliği ile aktivite indeksi arasında önemli ilişki bulundu ( $r = 0.789$ ,  $p < 0.001$ ,  $r = 0.721$ ,  $p < 0.001$  sırasıyla). Aktivite indeksi ile; hem glomerüler hem de interstisyumdaki apoptoz ve glomerüler PCNA ilişkisizdi. Aktivite indeksi ile kreatinin klirensi arasında ilişki bulunamadı ( $p = 0.35$ ). Aktivite indeksi ile proteinüri arasında da ilişki bulunamadı ( $p = 0.61$ ).

G1'de apoptotik indeks (glomerüler) ortalama  $1.08 \pm 0.10$  (R 0.35-2.4), G2'de  $0.83 \pm 0.77$  (R 0.45-1.35), G1+G2'de  $0.96 \pm 0.41$  (R 0.35-2.4) idi. Apoptoz (interstisyum); G1'de  $3.71 \pm 1.38$  (R 2-6), G2'de  $3.55 \pm 1.75$  (R 0-7), G1+G2'de  $3.64 \pm 1.54$  (R 0-7) idi. PCNA (glomerüler) G1'de  $16.76 \pm 11.34$  (R % 5-40), G2'de  $21.33 \pm 18.42$  (R % 5-65), G1+G2'de  $18.87 \pm 14.99$  (R % 5-65) olarak bulundu. PCNA (interstisyum) G1'de  $46.57 \pm 22.54$  (R % 14-83), G2'de  $34.66 \pm 26.84$  (R % 7-80), G1+G2'de  $41.07 \pm 25.02$  (R % 7-83) idi. PCNA (tübüler) G1'de  $40.28 \pm 23.14$  (R % 8-77), G2'de  $35.5 \pm 25.99$  (R % 5-83), G1+G2'de  $38.07 \pm 24.28$  (R % 5-83) idi. Travma nedeniyle yapılan nefrektomilerde glomerüllerde ve interstisyumda hiç apoptotik hücre bulunamadı. Bu değerler G1 için Tablo X'da, G2 için Tablo XI'de verildi. Bu parametrelerin CCr ve proteinüri ile ilişkisi ve hasta sayıları Tablo VI, VII, VIII ve IX' da verilmiştir.

Tablo VI: G1 ve G2'de bir yıllık izlemde yüksek ve düşük PCNA ve kreatinin klirensi olan hasta sayıları

	PCNA		Kreat. klirensi 3. ay		Kreat. klirensi 6. ay		Kreat. klirensi 12. ay	
			<50	>50	<50	>50	<50	>50
Lupus Nefriti	Düşük <%50	Tübüler	4	8	4	8	3	9
		İnterstis.	4	7	4	7	3	8
		Glomer.	4	7	4	8	3	9
	Yüksek >%50	Tübüler	0	9	0	9	0	9
		İnterstis.	0	10	0	10	0	10
		Glomer.	0	0	0	0	0	0
MPGN	Düşük <%50	Tübüler	4	8	5	7	5	7
		İnterstis.	5	8	6	7	5	8
		Glomer.	5	11	6	10	5	11
	Yüksek >%50	Tübüler	1	5	1	5	0	6
		İnterstis.	0	5	0	5	0	5
		Glomer.	0	2	0	2	0	6

PCNA túbüler ile interstisyum ve kreatinin klirensi ilişkisi için tahmini (estimated) ve p değerleri:

	<u>PCNA túbüler</u>		<u>PCNA interstisyum</u>	
	<u>Tahmini</u>	<u>p</u>	<u>Tahmini</u>	<u>p</u>
$\alpha$	0.1564	0.1936	0.1110	0.35
$\beta^D$	0.0972	0.3518	0.0623	0.55
$\beta^{pcna}$	0.3096	0.0839	0.5406	0.0027
$\beta(occ)$	0.0510	0.668	4.17E-18	1.00
$\gamma(occxpcna)$	-0.00044	0.9958	0.0278	0.7415

Yüksek kreatinin klirensi (50ml/dk üzeri) gözlemlene olasılığı PCNA (túbüler) için lupus nefritli hastalarda, MPGN'li hastalara göre 1.1 kat artmış olmasına rağmen bu fark istatistiksel olarak önemli değildi. Aynı değer PCNA (interstisyum) için 1.006 olarak bulundu. Her iki hasta grubunda da PCNA'in (túbüler ve interstisyum) yüksek (%50'den fazla) ve düşük (%50'den az) değerleri kreatinin klirensi değerlerinde bir fark yaratmadı. Yüksek kreatinin klirensi gözlemlene olasılığı PCNA túbüler için yüksek olan hastalarda düşük olanlara göre 0.73 katıdır. Bu değer PCNA interstisyum için de 0.54 olarak bulundu. Sonuçta hasta gruplarından bağımsız olarak proliferasyonu yüksek olan hastalarda böbrek fonksiyon bozukluğu görölme oranı daha yüksekti ve bu fark interstisyumda daha belirgindi. Lupus nefriti grubunda glomerüllerde yüksek PCNA boyanması olmadı bu nedenle PCNA'in glomerüler boyanma oranlarının kreatinin klirensine etkisi bu çalışmada değerlendirilemedi.

Tablo VII: G1 ve G2'de bir yıllık izlemde yüksek ve düşük PCNA ve proteinürisi olan hasta sayıları

	PCNA		Proteinüri 3.ay		Proteinüri 6. ay		Proteinüri 12. Ay	
			<3.5	>3.5	<3.5	>3.5	<3.5	>3.5
Lupus Nefriti	Düşük <%50	Túbüler	10	2	11	1	12	0
		İnterstis.	9	2	10	1	11	0
		Glomer.	19	2	20	1	21	0
	Yüksek >%50	Túbüler	9	0	9	0	9	0
		İnterstis.	10	0	10	0	10	0
		Glomer.	0	0	0	0	0	0
MPGN	Düşük <%50	Túbüler	9	3	12	0	12	0
		İnterstis.	10	3	13	0	13	0
		Glomer	13	3	16	0	16	0
	Yüksek >%50	Túbüler	5	1	6	0	6	0
		İnterstis.	4	1	5	0	5	0
		Glomer.	1	1	2	0	2	0



PCNA tübüler ile interstisyum ve proteinüri ilişkisi için tahmini (estimated) ve p değerleri:

	<u>PCNA tübüler</u>		<u>PCNA interstisyum</u>	
	<u>Tahmini</u>	<u>p</u>	<u>Tahmini</u>	<u>p</u>
$\alpha$	-0.4085	0.0008	-0.4102	0.0006
$\beta^D$	-0.0228	0.8231	-0.0219	0.8323
$\beta^{pcna}$	-0.1958	0.2774	-0.1846	0.3065
$\beta(\text{occ})$	-0.0510	0.6657	-0.0525	0.6533
$\gamma(\text{occ} \times \text{pcna})$	-0.1530	0.0876	-0.1526	0.0883

Yüksek proteinüri (3.5 g/gün üzeri) gözlemlene olasılığı PCNA (tübüler) için lupus nefritli hastalarda, MPGN'li hastalara göre 0.98 kat artmış olmasına rağmen bu fark istatistiksel olarak önemli değildi. Aynı değer PCNA (interstisyum) için 0.97 olarak bulundu. Her iki hasta grubunda da PCNA'nın (tübüler ve interstisyum) yüksek (%50'den fazla) ve düşük (%50'den az) değerleri proteinüri miktarında bir fark yaratmadı (p=0.09). Takip değerlerinde 6. ve 12. aylarda düşük proteinüri görülme olasılığı PCNA tübüler boyanması yüksek olanlarda düşük olanlara göre 1.9 kat daha fazla idi. Bu değer PCNA interstisyum için de benzerdi. Sonuçta hasta gruplarından bağımsız olarak proliferasyonu yüksek olan hastalarda proteinüride düzelme daha belirgindi (yaklaşık iki kat). Lupus nefriti grubunda glomerüllerde yüksek PCNA boyanması olmadı bu nedenle PCNA'nın glomerüler boyanma oranlarının proteinüri miktarına etkisi bu çalışmada değerlendirilemedi.

Tablo VIII: G1 ve G2'de bir yıllık izlemde yüksek ve düşük apoptoz ve kreatinin klirensi olan hasta sayıları

	Apoptotik indeks		Kreat. klirensi 3.ay		Kreat. klirensi 6.ay		Kreat. klirensi 12. ay	
			<50	>50	<50	>50	<50	>50
Lupus Nefriti	Düşük	İnters.	8	1	9	0	9	0
		Glomer.	10	1	11	0	11	0
	Yüksek	İnters.	11	1	11	1	12	0
		Glomer.	9	1	9	1	10	0
MPGN	Düşük	İnters.	7	1	8	0	8	0
		Glomer.	13	2	15	0	15	0
	Yüksek	İnters.	7	3	10	0	10	0
		Glomer.	1	2	3	0	3	0

Apoptotik indeks (glomerüler) ile interstisyum ve kreatinin klirensi ilişkisi için tahmini ve P değerleri:

	<u>Apoptotik indeks(glomerüler)</u>		<u>apoptoz interstisyum</u>	
	<u>Tahmini</u>	<u>p</u>	<u>Tahmini</u>	<u>p</u>
$\alpha$	-0.5243	< 0.0001	-0.5288	0.0002
$\beta^D$	-0.0627	0.5611	-0.0367	0.7167
$\beta^{pcna}$	-0.1995	0.2914	0.1014	0.5629
$\beta(occ)$	-0.1810	0.1370	-0.1368	0.1461
$\gamma(occxpcna)$	-0.0859	0.3274	-0.0875	0.4197

Yüksek CCr (50ml/dk üzeri) gözlemlene olasılığı apoptoz (glomerüler) için lupus nefritli hastalarda, MPGN'li hastalara göre 1.05 kat artmış olmasına rağmen bu fark istatistiksel olarak önemli değildi. Aynı değer apoptoz (interstisyum) için 0.96 olarak bulundu. Her iki hasta grubunda da apoptoz (glomerüler) yüksek (>1) ve düşük (<1) değerleri kreatinin klirensi değerlerinde bir fark yaratmadı (p=0.53). her iki hasta grubunda apoptoz (interstisyum) yüksek ve düşük değerleri CCr değerlerinde bir fark yaratmadı (p=0.56). Yüksek CCr gözlemlene olasılığı apoptoz glomerüler ve interstisyum boyamalarında farklı değildi. Sonuçta hasta gruplarından bağımsız olarak hastalarda böbrek fonksiyon bozukluğu görülme oranı apoptozla ilişkilendirilememiştir.

Tablo IX: G1 ve G2'de bir yıllık izlemde yüksek ve düşük apoptoz ve proteinürisi olan hasta sayıları

	Apoptotik indeks		Proteinüri 3.ay		Proteinüri 6.ay		Proteinüri 12. ay	
			<3.5	>3.5	<3.5	>3.5	<3.5	>3.5
Lupus Nefriti	Düşük	İnters.	1	8	1	8	1	8
		Glomer.	2	9	2	9	2	9
	Yüksek	İnters.	3	9	3	9	2	10
		Glomer.	2	8	2	8	1	9
MPGN	Düşük	İnters.	1	7	2	6	2	6
		Glomer.	4	11	5	10	4	11
	Yüksek	İnters.	4	6	4	6	3	7
		Glomer.	1	2	1	2	1	2

Apoptotik indeks (glomerüler) ile interstisyum ve proteinüri ilişkisi için tahmini (estimated) ve p değerleri:

	<u>Apoptotik indeks (glomerüler)</u>		<u>apoptoz interstisyum</u>	
	<u>Tahmini</u>	<u>p</u>	<u>Tahmini</u>	<u>p</u>
$\alpha$	0.2717	0.0188	0.4116	0.0040
$\beta^D$	0.1716	0.1235	0.1810	0.0832
$\beta^{pcna}$	-0.0264	0.8871	-0.3167	0.0677
$\beta(occ)$	0.0258	0.8271	0.0831	0.3519
$\gamma(occxpcna)$	-24.4E-18	1.0000	-0.0415	0.6922

Düşük proteinüri (<3.5 g/gün) gözlemlene olasılığı apoptoz (glomerüler) için lupus nefritli hastalarda, MPGN'li hastalara göre 1.19 kat artmış olmasına rağmen bu fark istatistiksel olarak önemli değildi (p=0.12). Aynı değer apoptoz (interstisyum) için 1.18 olarak bulundu (p=0.08). Her iki hasta grubunda da apoptoz (glomerüler) yüksek (>1) ve düşük (<1) değerleri kreatinin klirensi değerlerinde bir fark yaratmadı (p=0.53). Her iki hasta grubunda apoptoz (interstisyum) yüksek ve düşük değerleri proteinüri değerlerinde bir fark yaratmadı. Düşük proteinüri gözlemlene olasılığı apoptoz glomerüler ve interstisyum boyamalarında farklı değildi. Sonuçta hasta gruplarından bağımsız olarak hastalarda proteinüri miktarı apoptozla ilişkilendirilememiştir.

Bu hesaplamada (logit models for repeated binary responses) modeli kullanılmıştır (1).

$$L(g, h_i) = \alpha + \beta_h^D + \beta_i^{pcna} + \beta_{vg} + \gamma_i v_g$$

$\beta_h^D$  ve  $\beta_i^{pcna}$  cevapda ( kreatinin klirensi ve proteinüri) hata grupları ile PCNA ve apoptoz gruplarının etkilerini ölçer.  $\beta$  tekrarlanmış ölçümlerin etkisini,  $\gamma_i$  ise PCNA ve apoptoz ile tekrarlanmış ölçümlerin etkileşimlerini ölçer.

Tablo X: Lupus nefritli hastalarda kan basıncı, böbrekte apoptoz, aktivite-kronisite indeksleri ve PCNA değerleri.

İsim	Apoptotik İndeks(glo)	Apoptoz interstisyum	PCNA Glomerüller	PCNA Tübüler	PCNA Interstisyum	Aktivite indeksi	Kronisite indeksi	Kan basıncı
DD	1	2	%15	%30	%30	8	0	110/70
EY	0.70	2	%20	%15	%28	9	5	160/90
ŞT	1.10	4	%5	%16	%18	8	6	130/90
Sİ	0.95	2	%33	%66	%80	12	3	150/100
Lİ	1.60	5	%18	%65	%45	14	5	100/70
RŞ	1.55	3	%8	%60	%66	16	3	110/60
EB	1	2	%5	%43	%52	8	6	170/110
ÖA	2.40	6	%23	%18	%33	10	5	180/120
AE	0.35	2	%35	%72	%81	18	3	120/80
SA	1.40	3	%5	%44	%71	12	3	165/105
NS	0.40	3	%9	%8	%14	8	6	160/95
YS	1	2	%10	%60	%37	14	6	120/70
HD	1.25	4	%13	%19	%42	12	3	150/90
CE	0.60	4	%40	%77	%68	16	5	110/70
EA	1.25	4	%15	%26	%58	14	4	160/100
AB	0.80	5	%17	%43	%65	10	5	110/60
HU	1.80	5	%8	%57	%37	12	3	100/60
EG	1.15	4	%5	%72	%83	14	0	120/90
GR	0.65	5	%8	%21	%18	9	3	155/95
FÇ	1.25	6	%22	%19	%21	6	6	115/75
ME	0.55	5	%38	%15	%31	6	0	120/60
Or±sd*	1.08±0.49	3.71±1.38	%16.76±11.34	%46.57±22.54	%40.28±23.14	11.23±3.41	3.81±1.99	134.04±25.62/88.81±18.02

\* ortalama±standart sapma

Tablo XI: MPGN'li hastalarda kan basıncı ile böbrekte apoptoz ve PCNA değerleri.

İsim	Apoptotik İndeks(glo)	Apoptoz interstisyum	PCNA Glomerüller	PCNA Tübüller	PCNA İnterstisyum	Kan basıncı
AU	1.35	7	%8	%35	%29	165/110
MA	0.75	4	%65	%78	%62	110/70
HE	0.90	4	%15	%53	%33	150/95
HC	0.55	5	%18	%58	%9	190/120
BD	1.20	4	%9	%8	%7	175/110
MD	1	7	%8	%5	%8	150/100
RP	1.15	0	%21	%15	%68	165/95
FD	0.75	3	%8	%70	%45	120/80
KE	1	3	%19	%44	%9	155/90
SSP	1	3	%5	%13	%8	180/110
MV	1	5	%6	%17	%7	150/100
AK	0.80	2	%55	%83	%72	160/90
MZ	0.70	2	%7	%62	%80	110/60
HT	0.60	2	%38	%16	%32	120/90
HK	0.60	4	%46	%21	%36	130/80
FÖ	0.70	3	%34	%36	%79	130/90
ST	0.45	2	%8	%8	%12	160/115
YÇ	0.55	4	%14	%17	%28	110/60
Ort±sd*	0.83±0.25	3.55±1.75	%21.33±18.42	%35.5±25.99	%34.66±26.84	146.11±25.35/92.50±17.59

\* ortalama±standart sapma

Tablo XII: Lupus nefritli hastaların başlangıçtaki yaş, total kolesterol (total kol.), trigliserit, antiDNA antikorları, proteinüri, BUN, total protein (T.prot.), albümin, kreatinin klirensi (Krea.kli.) ve hematokrit (Htc.) değerleri.

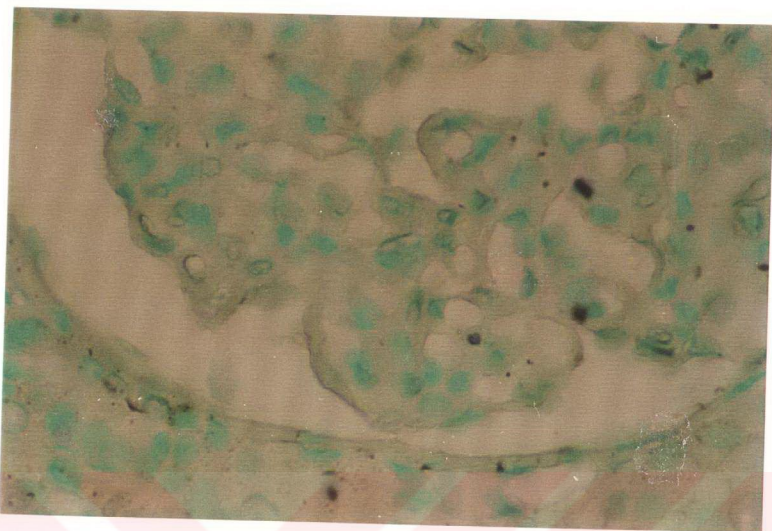
İsim	Yaş	Total. kol. (mg/dl)	Trigliserit (mg/dl)	Anti DNA	Proteinüri (g/gün)	BUN (mg/dl)	Kreatinin (mg/dl)	T.prot. (g/dl)	Albümin (g/dl)	Krea.kli. (ml/dk)	Htc. (%)
DD	27	181	106	(-)	7	14	0.8	6.9	3.4	78	33
EY	21	453	360	(+)	4	59	1.5	4.9	2.4	20	35
ŞT	50	315	306	(-)	2	92	1.9	4.4	2	16	25
SI	51	225	198	(+)	5.2	31	1.3	8.3	3.6	75	22
Lİ	25	293	229	(+++)	6.3	21	1.9	5.6	3.7	69	44
RŞ	29	164	456	(+)	1	26	1.1	6.5	1.8	27	30
EB	31	155	112	(-)	1.25	23	1.2	7.8	3.9	43	30
ÖA	18	397	340	(+)	2.25	30	1	4.2	1.8	74	26
AE	20	212	192	(+)	5	27	0.8	5.2	2.4	61	35
SA	27	134	198	(-)	0.5	8	0.9	8	4.3	85	32
NS	23	175	318	(++)	2.5	79	4.8	7.5	4	6	35
YS	42	313	258	(+++)	3	26	1.1	7.2	3	61	28
HD	16	215	165	(-)	2	15	0.5	6.1	3	100	25
CE	20	240	362	(++)	3	32	1.2	4.1	1.7	72	31
EA	30	196	214	(+)	6	20	1	5.9	2.7	88	29
AB	29	221	208	(+)	2.25	25	1.2	6.3	2.9	63	31
HU	21	165	178	(+)	4.5	42	1.5	6.8	3.1	55	26
EG	33	218	254	(+)	6	23	1.1	5.7	2.6	45	20
GR	37	235	365	(+)	1	66	5.2	6.9	3.2	10	25
FÇ	36	184	204	(+++)	3	20	0.9	7	3.1	92	36
ME	29	201	174	(+)	4	20	1.2	6.8	3	85	25
Or± sd*	29.28±9.66	232.95±80.43	247.47±91.77		3.41±1.93	33.28±22.15	1.52±1.20	6.29±1.22	2.93±0.74	58.33±28.42	29.66±5.57

\* Ortalama ± standart sapma

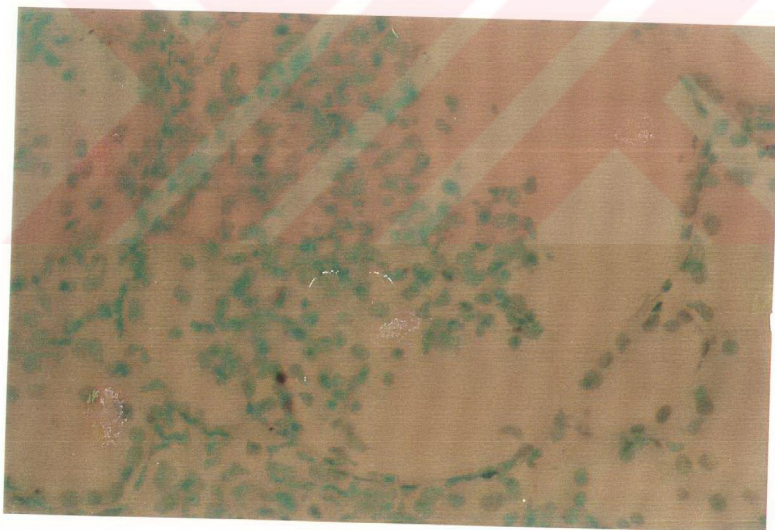
Tablo XIII: MPGN'li hastaların yaş, hematokrit (Htc.), total kolesterol (T.kol.), trigliserit (Trg.), proteinüri (E.), BUN, kreatinin (K.), total protein (T.pro.), albümin (Alb.), kreatinin klirensi (K.kl.) değerleri.

İsim	Yaş	Htc.(%)	T. kol.(mg/dl)	Trg.(mg/dl)	E.(g/gün)	BUN(mg/dl)	K.(mg/dl)	T.pro.(g/dl)	Alb.(g/dl)	K.kl.(ml/dk)
AU	20	42	403	357	4.8	10	1	5	2	130
MA	40	43	328	410	12	15	1.1	4.3	2.7	75
HE	53	40	260	250	3.5	17	1	5.5	2.5	35
HC	71	27	415	269	2	42	2.7	5.9	1.9	33
BD	52	25	200	197	4	43	2.8	6.3	3.5	20
MD	20	22	140	225	2	89	8	5.7	2.3	10
RP	23	48	458	776	6	8	0.5	5.5	2.5	80
FD	34	28	335	457	4.3	16	0.7	5.1	2.1	89
KE	16	41	520	664	10	60	4.2	4.4	1.7	54
SSP	60	49	289	354	6.2	20	1.7	5.2	2.6	67
MV	20	15	220	145	3	74	3.2	6.1	3	9
AK	33	43	205	132	5	20	1	4.9	2.1	65
MZO	21	35	284	425	7	22	0.9	5.2	2.8	93
HT	29	36	225	265	4	23	1.5	6.5	3.2	92
HK	29	31	235	285	4.8	30	1.3	6.1	2.5	75
FO	22	35	221	451	4	19	1.2	6.4	2.9	68
ST	41	24	182	207	2.5	35	3.1	6.7	3.1	44
YÇ	26	35	265	351	5.2	44	1.2	4.9	2.4	58
Or±sd*	33.88±15.85	34.38±9.44	288.05±103.15	345.55±169.37	5.01±2.59	32.61±22.53	2.06±1.80	5.53±0.71	2.54±0.48	60.94±31.78

\*Ortalama±standart sapma

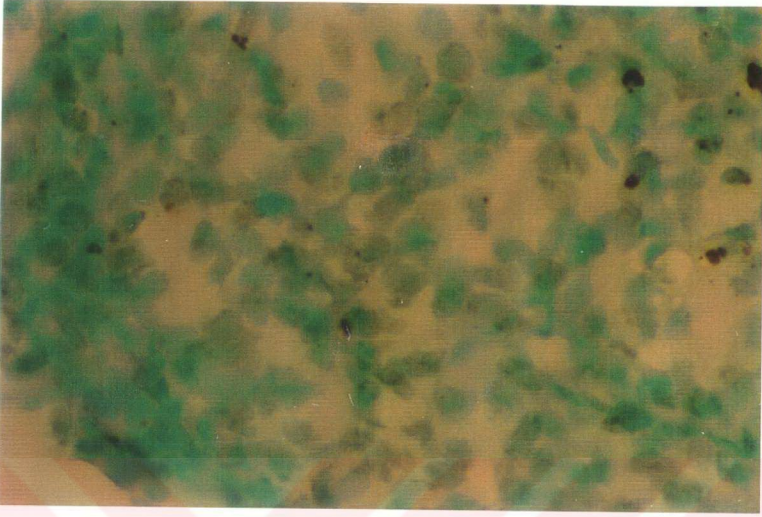


Şekil 1. Glomerül yumağında apoptag ile (+) boyanan apoptotik hücreler (x 400) (MPGN)

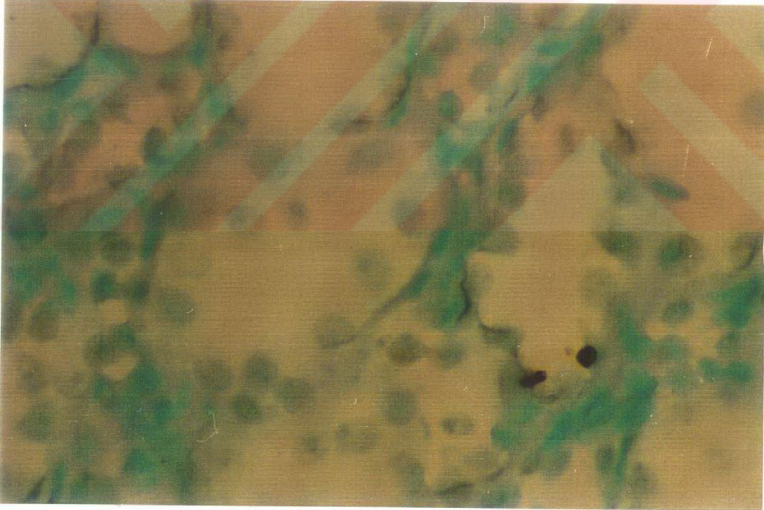


Şekil 2. Lupus nefriti klas IV bir olguda glomerül yumağında apoptag ile (+) boyanan apoptotik hücre (x 400)

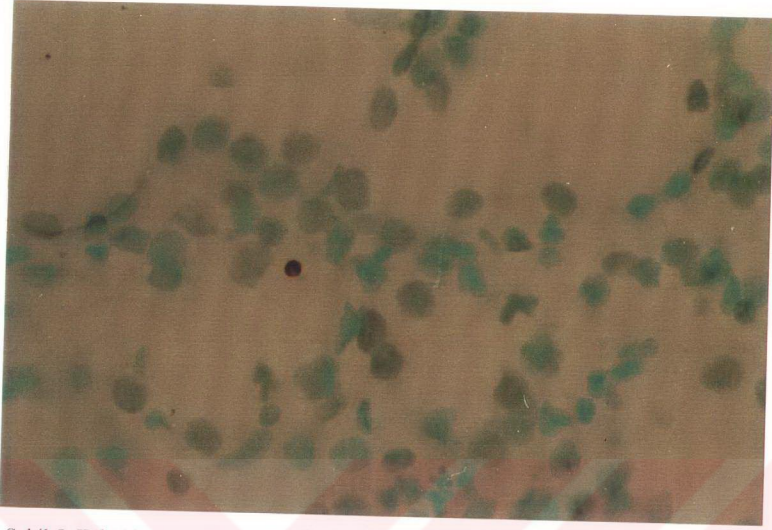




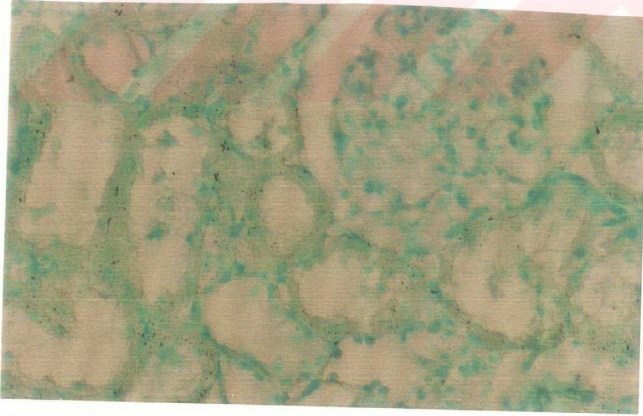
Şekil 3. İnterstisyumda apoptag ile (+) boyanan tübül epitelleri (x 400)



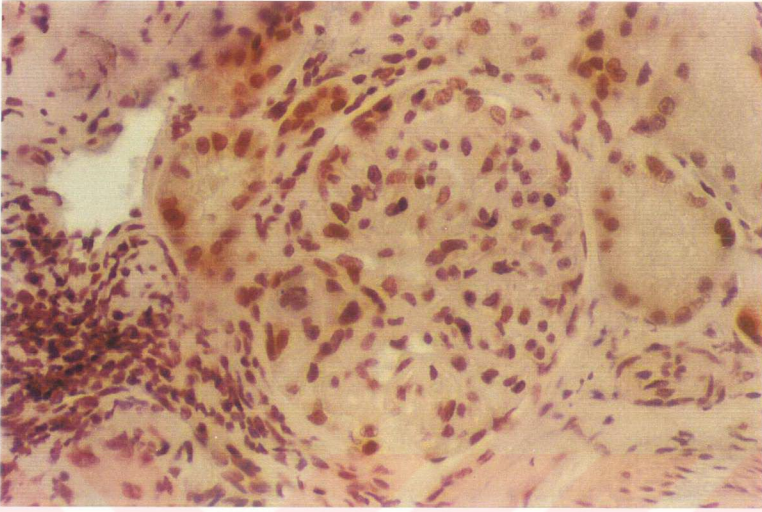
Şekil 4. Tübül epitelinde apoptag ile (+) boyanan apoptotik hücreler (x 400) (SLE)



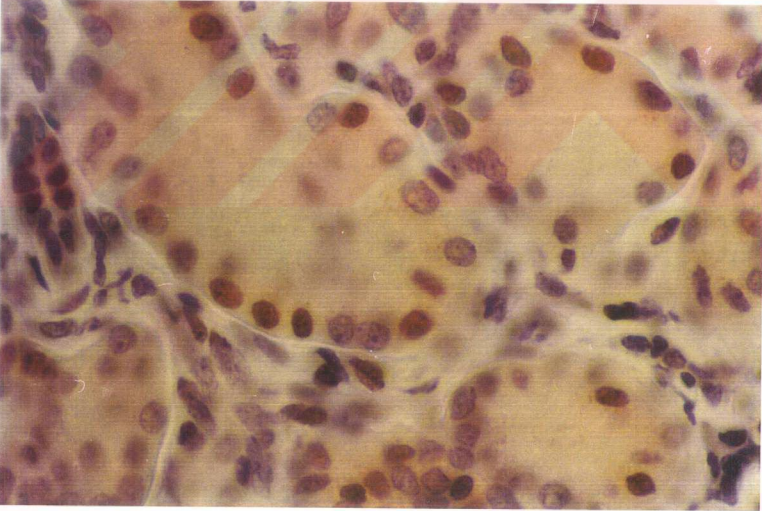
Şekil 5. Tübül lümeninde apoptag ile (+) boyanan apoptotik hücre (x 400) (SLE)



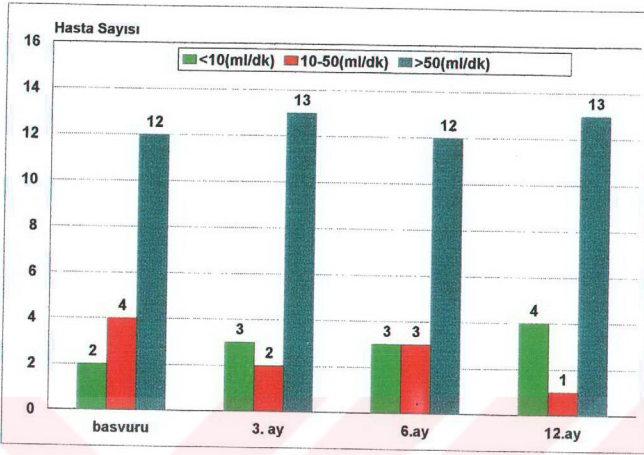
Şekil 6. Glomerülde ve tübülilerde apoptag boyaması (trauma) (x 400)



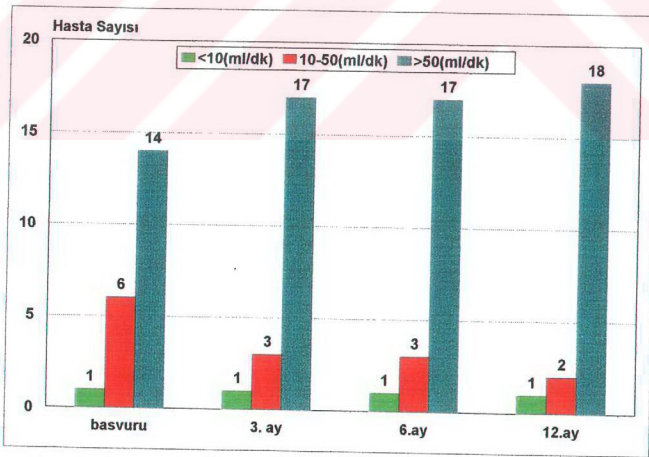
Şekil 7. Glomerül yumağı ve interstisyumda PCNA (+) hücreler (x 400) (MPGN)



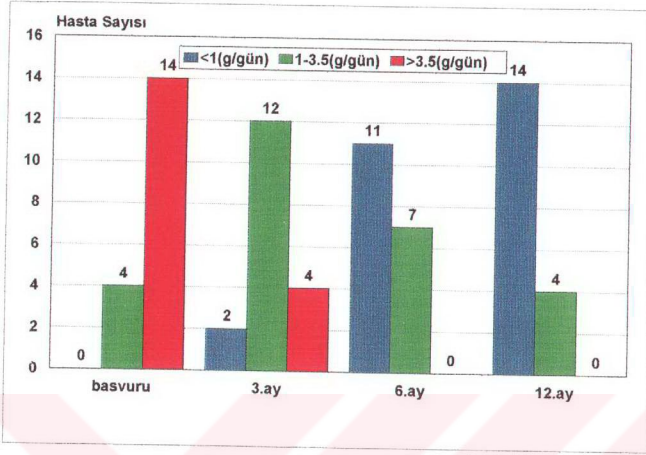
Şekil 8. İnterstisyumda tübül epitellerinde PCNA (+)'liği (x 400) (SLE)



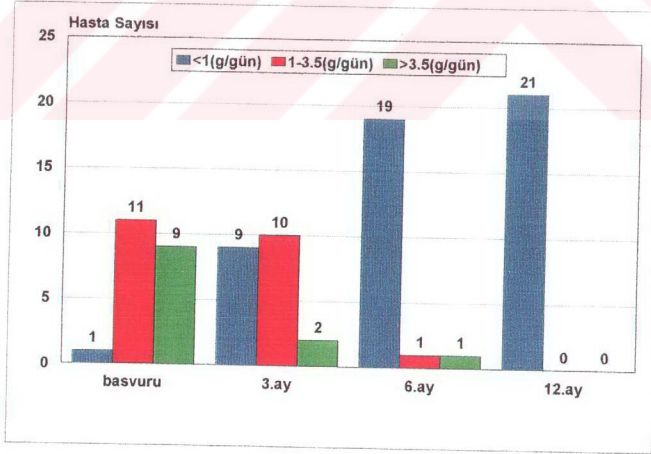
Şekil 9. MPGN'li hastaların başvuruda ve bir yıllık izlemde kreatinin klirensinin dizinlenmiş değerlerine göre hasta sayıları.



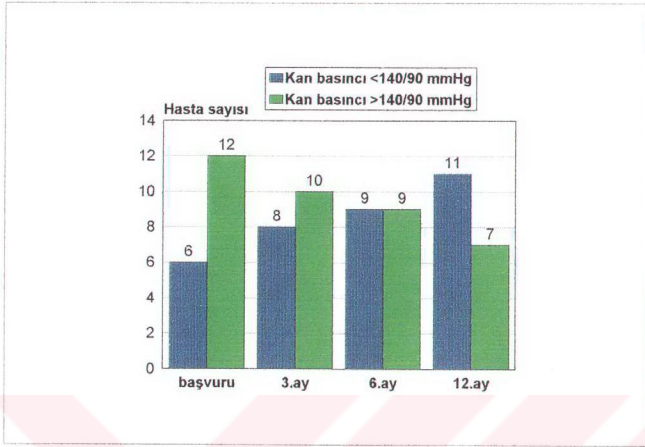
Şekil 10. Lupus nefritli hastaların başvuruda ve bir yıllık izlemde kreatinin klirensinin dizinlenmiş değerlerine göre hasta sayıları.



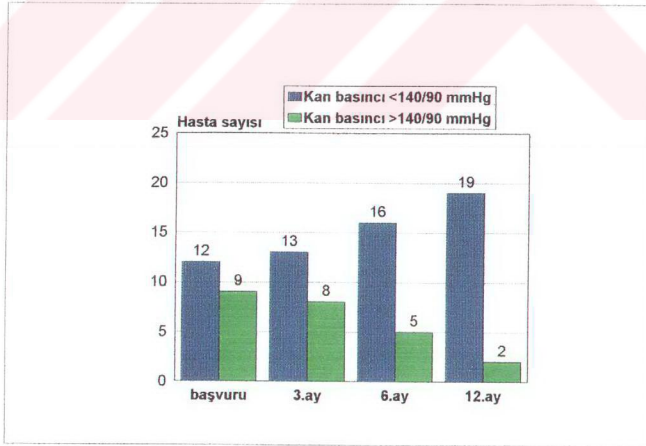
Şekil 11. MPGN'li hastaların başvuruda ve bir yıllık izlemde proteinüri düzeyinin dizinlenmiş değerlerine göre hasta sayıları



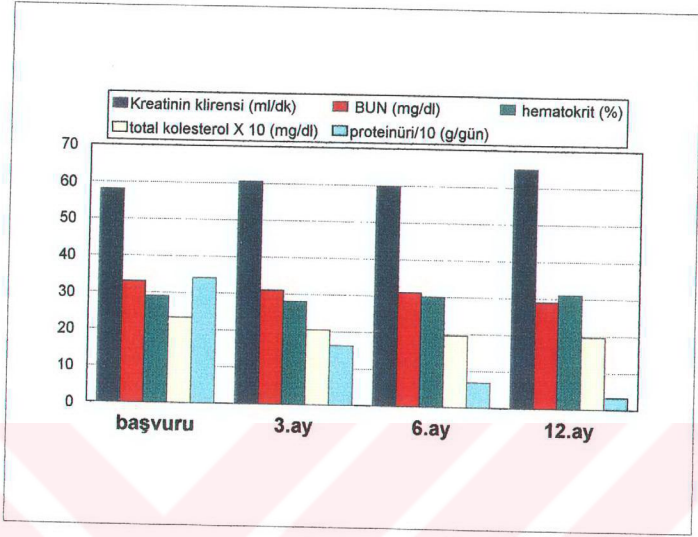
Şekil 12. Lupus nefritli hastaların başvuruda ve bir yıllık izlemde proteinüri düzeyinin dizinlenmiş değerlerine göre hasta sayıları



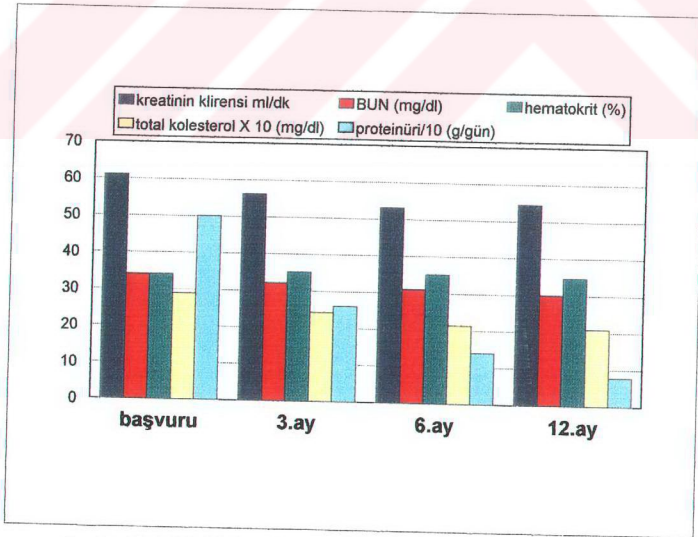
Şekil 13. MPOG'li hastaların başvuruda ve bir yıllık izlemde kan basıncı değerlerine göre hasta sayıları



Şekil 14. Lupus nefriti hastaların başvuruda ve bir yıllık izlemde kan basıncı değerlerine göre hasta sayıları



Şekil 15. Lupus nefritli hastaların başvuruda ve bir yıllık izlemde bazı laboratuvar bulguları



Şekil 16. MPGN'li hastaların başvuruda ve bir yıllık izlemde bazı laboratuvar bulguları

## 5. TARTIŞMA

Çalışmamızda lupus nefritli ve MPGN'li hastalar değerlendirmeye alındı. Bir yıllık izlem boyunca hastalarda böbrek fonksiyonu ve proteinürinin gidişi ile başlangıçta yapılan böbrek biyopsisindeki bulgular arasındaki ilişkiler araştırıldı. Biyopsiler geleneksel yöntemlerle incelendikten sonra son zamanlarda öne sürülen fizyopatolojik bulgular ve yeni geliştirilmiş yöntemlerle değerlendirildi.

Lupus nefritli ve MPGN'li hastalardaki yaş dağılımı diğer çalışmalardan farklı değildi (19, 27). Bilindiği gibi SLE'da E/K oranı 1/9'dur. Çalışmada, lupus nefriti grubundaki 21 hastadan bir tanesi erkekti. Lupus nefritinin genç erkeklerde sık görüldüğü ve kötü gidiş gösterdiği klasik bir bilgidir. Çalışmadaki erkek hasta 16 yaşındaydı.

Lupus nefritinde 13 hasta, MPGN'de ise 14 hasta ilk semptomundan sonraki 3 ay içinde hastaneye başvurmuş ve tanı almıştı. Lupus nefritinde 3 hastanın ise 1 yılı aşkın süredir semptomları vardı. Bu grupta bir yılın sonunda son dönem böbrek yetmezliği olan tek hastanın ilk semptomları 3 yıl önce başlamıştı. Lupus nefritinde son dönem böbrek yetmezliği başlangıçtan sonra 6 ay içinde bile gelişebilmektedir (39). Bir yılın sonunda son dönem böbrek yetmezliği olan 4 MPGN hastasının ikisinde ilk semptomları başvurudan 1 yıl öncesinden başlamıştı, ikisinde ise sadece 3 aydı. MPGN'de bu şekilde hızla ilerleyen, tedaviye cevap vermeyen ve 6 ay içinde son dönem böbrek yetmezliği gelişen hastalar olduğu bilinmektedir (96).

Her iki hasta grubunda da orta derecede bir anemi vardı. Bu anemi, lupus nefriti grubunda SLE'a bağlı olabileceği gibi her iki hasta grubunda da var olan nefrotik sendrom ve böbrek yetmezliği ile açıklanabilir. Coombs (+) hemolitik anemi lupus nefritli iki olguda saptandı. Hemoglobin ve hematokrit düzeyleri 1 yıllık izlem sonunda başlangıç değerlerine göre önemli düşme saptanmadı. Lupus nefritli hastalarda hemoglobin değeri MPGN grubuna göre daha düşüktü ve bu düşüklük SLE'a bağlandı (27).

Hipertansiyon diffüz proliferatif glomerülo nefritte sıklıkla görülür (5). Hastaların başlangıçta % 43'ünde vardı ve bir yılın sonunda %10'unda hala kan basıncı yüksekti (140/90 mmHg üzeri). MPGN'li grupta ise başlangıçta % 67'sinde, bir yılın sonunda ise % 39'unda hipertansiyon vardı. Lupus nefritinde, primer hastalığın tedavisi ve antihipertansiflerle kan basıncı daha kolay kontrol altına alındı. MPGN'li grupta daha az kontrol edilebilmesi primer hastalığın tedaviye cevabının daha az olmasından kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca bu grup lupus



nefritlilere göre daha ileri yaşta ve bir yıl sonunda son dönem böbrek yetmezliğinde olan hasta sayısı daha fazlaydı. JNC VI. raporuna göre 1 gr/gün'den fazla proteinürisi olan hastalarda hedef kan basıncı değeri 120/75 olarak önerilmektedir. Burada 140/90 mmHg değeri seçilmiş olması sadece hipertansiyon tanısı içindir. Hastalarda tedavi hedefi 125/70 mmHg'dır (46).

Lupus nefritli hastaların ilk başvuruda % 72'sinin antiDNA antikorları (+) idi. Başlangıçta (-) olan 5 olgunun izlemlerinde pozitifleşmiştir. Lupus nefritinde bu durum sıkça tanımlanmaktadır. Glomerülo nefrit tanısından yıllar sonra antiDNA (+)'liği gelişen hastalar bildirilmektedir. İmmünojenik parametrelerin klinik ve aktif hastalıkla ilişkisiz olduğu belirtilen çalışmalar da vardır. Bu nedenle antiDNA'nın (-) olması lupus nefriti tanısını ekarte ettirmez. İzlemlerde yıllar sonra bile antinükleer antikorlara bakılmalıdır (92).

Lupus nefriti grubunda bir hastada kreatinin klirensi 10 ml/dk'nın altındaydı. Bu hastada bir yılın sonunda düzelme olmadı. Bu hastanın aktivite indeksi 8, kronisite indeksi ise 6 idi. PCNA boyanması glomerüllerde % 9, tübülüslerde % 8 ve interstisyumda % 14 olarak bulundu. Normal glomerüllerde bu değer ortalama % 20'dir. Apoptotik indeksi glomerüllerde 0.40 ve interstisyumda 3 olarak bulundu. Yüksek kronisite indeksi gibi proliferatif aktivitenin azaldığını gösteren düşük PCNA de, hasarın kronikleştiğini ve inflamasyona ikincil kalıcı zararlanmanın tedaviye yanıtının az olduğunu gösterebilir. Bir olguyla karar vermek uygun değildir. Verilecek yoğun tedaviler klinik düzelme sağlamadığı gibi immün süpresyon gibi ağır yan etkilere neden olmaktadır.

MPGN grubunda da CCr 10 ml/dk'nın altında olan 2 hasta vardı. Bu hastalarda PCNA oranları düşük iken, aksine interstisyumda daha belirgin olmak üzere hem glomerüllerde hem de interstisyumda apoptoz artmıştı. Buna göre hastalıkla ilgili inflamatuvar olayların azaldığı, fibrozun ve tübüler harabiyetin olması nedeniyle tedavi uygulanırsa bile böbrek fonksiyonlarında düzelme olmamasını açıklayabiliriz. Bu hastalarda proteinüri ve kan basıncı yüksekliği de vardı. Lupus nefriti olan hastanın da PCNA değeri düşüktü ancak apoptoz bulgularını hasta sayısının bu grupta çok az olması nedeniyle yorumlamak güçtür.

Lupus nefriti grubunda CCr 10-50 ml/dk arasındaki 6 hastanın dördünde birinci yılın sonunda CCr'de bir miktar düzelme saptandı ancak bu istatistiksel olarak önemlilik göstermiyordu. Bu hastalarda aktivite ve kronisite indeksleri değişken olmakla birlikte kronisite indeksleri genellikle düşük, aktivite indeksleri ise 8-16 arasında değişmekteydi.

PCNA değerleri glomerüller için özellik göstermiyordu sadece bir hastada % 20 idi, diğerleri % 5 ve 8 idi. Ancak túbüler ve interstisyum da sırasıyla % 15 ile 72 ve % 18 ile 83 arasında idi. Bu değerler CCr 10 ml/dk'nın altında olanlara göre yüksekti. Bu grupta apoptoz interstisyumda ve glomerüllerde de artmıştı. Hastaların CCr'lerinde kötüleşme olmaması ya da hafif düzelme olması PCNA ve apoptoz bulguları inflamasyonun olduğunu düşündürebilir. Bu hastalarda kan basıncı normal ya da yüksekti. Proteinüri ile ilişkisi araştırıldığında, PCNA arttıkça proteinürinin de arttığı gözlemlendi ve aralarındaki ilişki istatistiksel olarak önemli bulundu. Aynı şekilde CCr ile túbüler ve interstisyumdaki PCNA ilişkisi önemliydi.

MPGN'li hastalarda ise CCr 10-50 ml/dk arasında olan dört olgu vardı ve birinci yılın sonunda bu olguların ikisinin CCr'i 10 ml/dk'nın altına düştü, birinde ise düzelme görüldü. Bu hastaların apoptoz değerlendirmelerinde CCr ve proteinüri ile ilişki bulunamadı. PCNA glomerüllerde % 8-18, túbülüslerde % 8-58, interstisyumda % 7-33 arasında idi. Lupus nefritlerine göre MPGN'li CCr 10-50 ml/dk arası olan olgularda PCNA oranları daha düşüktü. Bu hastalarda klinik izlemde düzelme olmaması akut inflamasyon döneminde olmadıklarını düşündürülebilir. Bu dört olgunun tamamı hipertansif idi. Ayrıca bu hastaların proteinürileri de yüksekti. Bir yıllık izlemde antihipertansif tedaviye rağmen kan basınçları yeterince regüle edilememişti. Böbrek fonksiyonlarındaki kayba, tedaviye cevapsız hipertansiyonun ve proteinürinin de katkısı olduğu söylenebilir.

Lupus nefriti grubunda CCr 50 ml/dk'dan daha yüksek olan hastaların klinik gidişleri daha iyiydi. Bu hastalarda böbrek fonksiyonlarında bir kayıp olmadı. Apoptoz yönünden bu olgularda da CCr ile ilişki bulunamadı. Glomerüllerdeki PCNA ile de ilişki bulunamadı, ancak túbüler ve interstisyumdaki PCNA değerleri artmıştı. Kronisite indeksleri düşük, aktivite indeksleri belirgin şekilde yüksekti. Sonuç olarak túbüler ve interstisyumdaki PCNA değerleri ile aktivite ve kronisite indeksleri birbirine paralellik gösteriyordu. CCr yüksek hastalarda bir yıllık izlemde böbrek fonksiyon kaybı olmaması, aksine istatistiksel olarak önemli olması da düzelme olması, bu hastalarda fibrotik değişikliklerin olmadığı, akut inflamasyonun olduğunu düşündürülebilir (74, 75, 79). Bu hastalarda proteinüri ile CCr arasında ilişki olmamakla birlikte bir yılın sonunda hastaların tamamında proteinüride ve hipertansiyonda düzelme görüldü.

MPGN'li grupta CCr 50 ml/dk üzerinde olan hastaların bir yıllık izlem boyunca böbrek fonksiyonlarında kötüleşme olmadı. Apoptoz ile CCr arasında ilişki yoktu PCNA túbüler ve

interstisyumdaki değerler CCr ile önemli ilişki gösteriyordu. Bu hastaların başlangıçtaki kan basıncı değerleri CCr düşük olanlara göre daha düşüktü. Ancak proteinüri yönünden bir ilişki yoktu. PCNA değeri yüksek olan hastaların bir yılın sonunda hem proteinrilerinde önemli düzelme oldu hem de kan basınçları daha kolay kontrol altına alındı.

Lupus nefritinde aktivite ve kronisite indeksleri ile tübülüs ve interstisyumda PCNA değerlendirilmesi birbiri ile paralellik gösteriyordu. Aktivite indeksi ve PCNA değerleri yüksek olan hastalarda düzelme görülürken, aktivite indeksi düşük, kronisite indeksi yüksek ve PCNA değerleri düşük hastalarda klinik düzelme gözlenmedi. CCr 10 ml/dk'nın altında olan hastalar incelendiğinde; apoptoz MPGN'de yüksek olduğu halde lupus nefritinde dşmşt. Bu nedenle apoptozun bir fibroz bulgusu mu? yoksa inflamasyonun bulgusu mu? olduğunu buradaki olgu sayısının gök az olması nedeniyle yorumlayamayız. Ancak bazı gşmlerde benzer yorumlar yapılmaktadır (79, 80, 82, 86).

Apoptoz hem MPGN hem de lupus nefritli grupta böbrek fonksiyon testleri açısında istatistiksel olarak önemli ilişki göstermedi. Ancak bu hastalarda klinik izlemde düzelme gösterenlerde apoptoz daha yüksekti. Bu ykseklilik yüksek CCr düzeylerinde akut inflamasyonla ilişkili olarak düşünülebilir. PCNA her iki grupta da CCr ve proteinüriyle ilişkiliydi.

Aktivite ve kronisite indekslerinde olduğu gibi proliferatif glomerülonefritlerde başlangıç biyopsisindeki PCNA değerlendirmesine göre tedaviye yanıt, mortalite ve morbidite belirlenebilir. Bu hastaların kontrol biyopsilerinde aynı değerlendirmeleri yapmak literatürde olduğu gibi, gşmamızda da var olan bazı belirsizlikleri ortadan kaldırabilir. Apoptoz değerlendirmesinde net sonuçlar elde edemedik. Olgu sayısının artması ve kontrol biyopsilerinin aynı şekilde değerlendirilmesi lupus nefriti ve MPGN'de ya da proliferatif glomerülonefritlerde patogenez ve tedavi için bazı ipuçları verebilir. PCNA lupus nefritlilerde aktivite ve kronisite indekslerine göre bir üstünlük göstermemekle birlikte MPGN'lilerde prognoz belirleyici olarak kullanılabilir.

## 6. SONUÇ

Lupus nefritli hastalarda klinik gidiş daha iyi idi. Bir yıllık izlemde böbrek fonksiyonları ve kan basıncı kontrolü yönünden hiç kötüleşme gözlenmediği gibi proteinüri düzeyleri ve kan basınçları önemli oranda düzeldi. Tüm hastalarda proteinüri 1 g/gün'ün altına düşmüştü. Bu hastalarda böbrek biyopsisindeki apoptoz değerlendirmesi ile klinik bulgular ve aktivite-kronisite indeksleri arasında ilişki bulunamadı. Fakat PCNA ile hem klinik bulgular hem de aktivite ve kronisite indeksi önemli ilişki gösterdi.

MPGN'li hastalarda ise klinik gidiş lupus nefritliler kadar iyi değildi. CCr düşük hastalarda iyileşme olmadığı gibi, böbrek fonksiyon kaybında artma gözlendi. CCr 50 ml/dk üzerinde olan hastalar bir yıllık izlem boyunca kötüleşmediler. Bu hastaların kan basınçları lupus nefriti olan hastalardaki kadar kolay kontrol altına alınamadı. CCr düşük hastalarda bu daha da belirgindi. Proteinüri MPGN'li hastalarda da düzelme gösterdi ama lupus nefritliler kadar iyi değildi. Bu grupta proteinüri ancak 3.5 g/gün'ün altına düştü. Lupus nefritliler gibi apoptoz ile klinik bulgular arasında ilişki bulunamadı. PCNA hem CCr hem de günlük proteinüri yönünden ilişkiliydi.

## 7. KAYNAKLAR

1. Agresti A: Logit models for repeated binary responses. **Categorical Data Analysis** John Wiley Newyork 1990:395-400.
2. Albina JE, Cui S, Mateo RB, Reichner JS: Nitric oxide-mediated apoptosis in murine peritoneal macrophages. **The Journal of Immunology** 1993; 150: 5080-5085.
3. Alderson MR, Armitage RJ, Maraskowsky E et al: Fas transduces activation signals in normal human T lymphocytes. **J Exp Med** 1993; 178: 2231-2235.
4. Alexopoulos E, Seron D, Hartley RB, Cameron JS: Lupus nephritis: Correlation of interstitial cells with glomerular function. **Kidney Int** 1990; 37:100-109.
5. Appel GB, D'agati V: Lupus nephritis. **The Principles and Practise of Nephrology**. Jacobson H R, Striker G E, Klahr S, 2nd edition Mosby 1995; 159-168.
6. Aydın Ö: Yumuşak doku sarkomlarında proliferatif aktivitenin immünohistokimyasal yöntemle belirlenmesi PCNA ( Proliferating cell nuclear antigen ) ve Kİ-67 reaktivitesi. Uzmanlık tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana 1997.
7. Baker AJ, Mooney A, Hughes J et al: Mesangial cell apoptosis: the major mechanism for resolution of glomerular hypercellularity in experimental mesangial proliferative nephritis. **J Clin Invest** 1994; 94: 2105-2116.
8. Bates RC, Buret A, Van Helden DF et al: Apoptosis induced by inhibition of intercellular contact. **The Journal of Cell Biology** 1994; 125: 403-415.
9. Bigda J, Beletsky I, Brakebusch C et al: Dual role of the p75 tumor necrosis factor (TNF) receptor in TNF cytotoxicity. **J Exp Med** 1994; 180:445-460.
10. Bissonette RP, Echeverri F, Mahboubi A, Green DR: Apoptotik cell death induced by *c-myc* is inhibited by *bcl-2*. **Nature** 1992; 359: 552-554.

11. Border WA, Okuda S, Languino LR et al: Suppression of experimental glomerulonephritis by antiserum against transforming growth factor  $\beta$ 1. **Nature** 1990; 346: 371-374.
12. Caelles C, Helmborg A, Karin M: p53-dependent apoptosis in the absence of transcriptional activation of p53-target genes. **Nature** 1994; 370: 220-223.
13. Cervera R, Khamashta MA, Font J et al: Morbidity and mortality in systemic lupus erythematosus during a 5-year period. **Medicine** 1999; 78: 167-175.
14. Cheng J, Zhou T, Liu C et al: Protection from Fas-mediated apoptosis by a soluble form of the Fas molecule. **Science** 1994; 263: 1759-1762.
15. Choong PFM, Akerman M, Willen H et al: Expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and Ki-67 in soft tissue sarcoma. Is prognostic significance histotype-specific?. **AF MIS** 1995; 103: 797-805.
16. Chu JL, Drappa J, Parnassa A, Elkon KB: The defect in fas mRNA expression in MRL/lpr mice is associated with insertion of the retrotransposon, *ETH*. **J Exp Med** 1993; 178: 723-730.
17. Cowley BD Jr, Chadwick LJ, Grantham JJ, Calvet JP: Sequential protooncogene expression in regenerating kidney following acute renal injury. **The Journal of Biological Chemistry** 1989; 264: 8389-8393.
18. Diamond JR, Ding G, Frye J, Diamond IP: Glomerular macrophages and the mesangial proliferative response in the experimental nephrotic syndrome. **American Journal of Pathology** 1992; 141: 887-894.
19. Donadio Jr. JV: Membranoproliferative glomerulonephritis. **The Principles and Practise of Nephrology**. Jacobson H R, Striker G E, Klahr S, 2nd edition Mosby 1995; 155-159.

20. Düzgün N: Sistemik lupus eritematozus, antifosfolipid sendrom, overlap sendromları, mikst tip bağ dokusu hastalığı. **Temel İç Hastalıkları cilt-II.** İliçin G, Ünal S, Biberoglu K ve ark, Melisa Matbaacılık 1996; 1916-1929.
21. Elkon KB: Apoptosis. **Dubois' Lupus Erythematozus** Wallace DJ, Hahn BH. 5<sup>th</sup> edition, Williams&Wilkins a waverly company, Baltimore USA; 1995: 133-143.
22. Fang W, Rivard JJ, Mueller DL, Behrens TW: Cloning and molecular characterization of mouse bcl-2 in B and T lymphocytes. **The Journal of Immunology** 1994; 153: 4388-4398.
23. Fanidi A, Harrington EA, Evan GI: Cooperative interaction between c-myc and bcl-2 proto-oncogenes. **Nature** 1992; 359: 554-
24. Fath I, Schweighoffer F, Rey I et al: Cloning of a Grb2 isoform with apoptotic properties. **Science** 1994; 264: 971-974.
25. Gamba G, Reyes E, Angeles A et al: Observer agreement in the scoring of the activity and chronicity indexes of lupus nephritis. **Nephron** 1991; 57: 75-77.
26. Glasscock RJ, Brenner BM: Glomerulopathies associated with multisystem disease. **Harrison's Principles of Internal Medicine**, Wilson J D, Braunwald E, Isselbacher K J et al, 12<sup>th</sup> edition McGraw-Hill 1991; 1180-1187.
27. Hahn BH: Systemic lupus erythematozus. **Harrison's Principles of Internal Medicine**, Wilson J D, Braunwald E, Isselbacher K J et al, 12<sup>th</sup> edition McGraw-Hill 1991; 1432-1437.
28. Hammerman RM: Renal programmed cell death and the treatment of renal disease. **Current Opinon in Nephrology & Hypertension** 1998; 7: 1-3.
29. Harding MA, Gattone II VH, Grantham JJ et al: Localization of over expressed c-myc mRNA in polycystic kidneys of the *cpk* mouse. **Kidney Int** 1992; 41: 317-325.

30. Harris CC, Hollstein M: Clinical implication of the p53 tumor-suppressor gene. **New Engl J Med** 1993; 329: 1318-1327.
31. Hattori T, Shindo S, Kawamura H: Apoptosis and expression of bax protein and fas antigen in glomeruli of a remnant-kidney model. **Nephron** 1998; 79: 186-191.
32. Hermeking H, Eick D: Mediation of c-myc-induced apoptosis by p53. **Science** 1994; 265: 2091-2093.
33. Hetsch SW: To die or not to die. **JAMA** 1998; 279: 300-307.
34. Hockenbery D, Nunez G, Millman C et al: Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death, **Nature** 1990; 348: 334-336.
35. Huong DLT, Papo T, Beaufils H et al: Renal involvement in systemic lupus erythematosus. **Medicine** 1999; 78: 148-166.
36. Kagi D, Vignaux F, Ledermann B et al: Fas and perforin pathways as major mechanisms of T cell-mediated cytotoxicity. **Science** 1994; 265: 528-530.
37. Kalunian KC: Definition, classification, activity, and damage indices. **Dubois' Lupus Erythematosus** Wallace DJ, Hahn BH. 5<sup>th</sup> edition, Williams&Wilkins a waverly company Baltimore USA; 1995: 19-28.
38. Kane DJ, Sarafian TA, Anton R et al: Bcl-2 inhibition of neural death: Decreased generation of reactive oxygen species. **Science** 1993; 262: 1274-1277.
39. Kashgarian M: Lupus nephritis: Pathology, pathogenesis, clinical correlations and prognosis. **Dubois' Lupus Erythematosus** Wallace DJ, Hahn BH. 5<sup>th</sup> edition, Williams&Wilkins a waverly company, Baltimore USA :1995; 1037-1048.
40. Kitamura M, Ishikawa Y: Oxidant-induced apoptosis of glomerular cells: Intracellular signaling and its intervention by bioflavonoid. **Kidney Int.** 1999; 56: 1223-1229.



41. Kodera S, Tashiro K, Ohmuro H et al: A case of lupus nephritis showing good clinical course and apoptosis in glomerular cells detected by the nick end labeling method. **Am J Nephrol** 1997; 17: 466-470 (Abs.).
42. Koniçe M. Sistemik lupus eritematozus. **Klinik Romatoloji**. Karaaslan Y, Medikomat, 1. Baskı Ankara, 1996; 113-131.
43. Koseki C, Herzlinger D, Al-Awqati Q: Apoptosis in metanephric development. **The Journal of Cell Biology** 1992; 119: 1327-1333.
44. Krajewski S, Krajewska M, Shabaik A et al: Immunohistochemical determination of in vivo distribution of bax, a dominant inhibitor of bcl-2. **Am J of Pathology** 1994; 145: 1323-1336.
45. Ledda-Columbano GM, Columbano A, Coni P et al: Cell deletion by apoptosis during regression of renal hyperplasia. **Am J of Pathology** 1989; 135: 657-662.
46. Levin A: Management of membranoproliferative glomerulonephritis: Evidence-based recommendations. **Kidney Int.** 1999; 55: 41-46.
47. Lieberthal W, Triaca V, Koh JS et al: Role of superoxide in apoptosis induced by growth factor withdrawal. **AJP: Renal Physiology** 1998; 275: 691-702.
48. Liu ZG, Smith SW, McLaughlin KA et al: Apoptotic signals delivered through the T-cell receptor of a T-cell hybrid require the immediate-early gene *nur77*. **Nature** 1994; 367: 281-284.
49. Louis JC, Magal E, Seiji T, Varon S: CNTF protection of oligodendrocytes against natural and tumor necrosis factor-induced death. **Science** 1993; 259: 689-692.
50. Mangan DF, Wahl SM: Differential regulation of human monocyte programmed cell death (apoptosis) by chemotactic factors and pro-inflammatory cytokines. **The Journal of Immunology** 1991; 147: 3408-3412.

51. Mangan FD, Welch GR, Wahl SM: Lipopolysaccharide, tumor necrosis factor- $\alpha$ , and IL-1 $\beta$  prevent programmed cell death (apoptosis) in human peripheral blood monocytes. **The Journal of Immunology** 1991; 146: 1541-1546.
52. Mariani SM, Matiba M, Armandola EA, Krammer PH: The APO-1/Fas (CD95) receptor is expressed in homozygous MRL/lpr mice. **Eur J Immunol** 1994; 24: 3119-3123.
53. Mills JA: Medical progress: Systemic Lupus Erythematosus. **New Engl J Med** 1994; 330: 1871-1879.
54. Mitjavila F, Pac V, Moga I et al: Clinicopathological correlations and prognostic factors in lupus nephritis. **Clin Exp Rheumatol** 1997; 15: 625-631 (Abs.).
55. Nakopoulo L, Stefanaki K, Salpigidis K et al: The value of proliferating cell nuclear antigen (PCNA)/cyclin in the assessment of cell proliferation in glomerulonephritis. **Histol Histopathol** 1997; 12: 655-662 (Abs.).
56. Obeid LM, Linardic CM, Karolak LA, Hannun YA: Programmed cell death induced by ceramide. **Science** 1993; 259: 1769-1772.
57. Oberbauer R, Rohrmoser M, Regele H et al: Apoptosis of tubular epithelial cells in donor kidney biopsies predict early renal allograft function. **Journal of the American Society of Nephrology** 1999; 9; 10. No: 9 (Medline: <http://www.ASN9-99.Featurearticle.htm>).
58. Oda T, Yoshizawa N, Takeuchi A et al: Glomerular proliferating cell kinetics in acute post-streptococcal glomerulonephritis (APSGN). **J Pathol** 1997; 183: 359-368. (Abs.)
59. Ogasawara J, Watanabe-Fukunaga R, Adachi M et al: Lethal effect of the anti-Fas antibody in mice. **Nature** 1993; 364: 806-809.

60. Ortiz A, Cuadrado SG, Loraz C, Egido J: Apoptosis in renal disease. **Frontiers Biomedicine**1, 1996; 1: 30-47.(Medline: <http://www.frontiersbiomedicine.com>)
61. Oksel F: Sistemik lupus eritematoz. **Klinik Romatoloji**. Gümüşiş G, Doğanavşargil E, Deniz matbaası, 1. Baskı İstanbul 1999; 287-302.
62. Ponticelli C, Banfi G, Moroni G: Systemic lupus erythematosus (clinical). **Oxford Textbook of Clinical Nephrology**. Davison M A, Cameron J S, Grünfeld J P et al, 2<sup>nd</sup> edition Oxford University Press 1998; 935-959.
63. Raff MC: Social controls on cell survival and cell death. **Nature** 1992; 356: 397-400.
64. Randriamampita C, Tslen R Y: Emptying of intracellular Ca<sup>2+</sup> stores releases a novel small messenger that stimulates Ca<sup>2+</sup> influx. **Nature** 1993; 364: 809-
65. Reed JC: Bcl-2 and the regulation of programmed cell death. **The Journal of Cell Biology** 1994; 124: 1-6.
66. Rodriguez-Lopez AM, Flores O, Arevalo MA, Lopez-Novoa JM: Glomerular cell proliferation and apoptosis in uninephrectomized spontaneously hypertensive rats. **Kidney Int** 1998; 54 (suppl 68): 36-40.
67. Rouvier E, Luciani MF, Golstein P: Fas involvement in Ca<sup>2+</sup>-independent T cell-mediated cytotoxicity. **J Exp Med** 1993;195-200.
68. Safirstein R, Zelent AZ, Price PM: Reduced renal prepro-epidermal growth factor mRNA and decreased EGF excretion in ARF. **Kidney Int** 1989; 36: 810-815.
69. Saikumar P, Dong Z, Mikhailov V et al: Apoptosis: definition, mechanism, and relevance to disease. **The American Journal of Medicine** 1999; 107: 489-506.
70. Sandau K, Pfeilschifter J, Brüne B: Nitric oxide and superoxide induced p53 and bax accumulation during mesangial cell apoptosis. **Kidney Int** 1997; 52: 378-386.

71. Sariola H, Saarna M, Sainio K et al: Dependence of kidney morphogenesis on the expression of nerve growth factor receptor. **Science** 1991; 254: 571-573.
72. Savill J, Dransfield I, Hogg N, Haslett C: Vitronectin receptor-mediated phagocytosis of cells undergoing apoptosis. **Nature** 1990; 343: 170-173.
73. Savill J, Smith J, Sarraf C et al: Glomerular mesangial cells and inflammatory macrophages ingest neutrophils undergoing apoptosis. **Kidney Int** 1992; 42: 924-936.
74. Savill J: Apoptosis: A mechanism for regulation of the cell complement of inflamed glomeruli. **Kidney Int** 1992; 41: 607-612.
75. Savill J: Regulation of glomerular cell number by apoptosis . **Kidney Int** 1999; 56: 1216-1222.
76. Schulze-Osthoff K, Walczak H, Dröge W, Krammer PH: Cell nucleus and DNA fragmentation are not required for apoptosis. **The Journal of Cell Biology** 1994; 127: 15-20.
77. Schumer M, Colombel MC, Sawczuk IS et al: Morphologic, biochemical and molecular evidence of apoptosis during the reperfusion phase after brief periods of renal ischemia. **Am J of Pathology** 1992; 140:831-838.
78. Serdengeçti K, Süleymanlar G, Ataman R ve ark: Glomerüler hastalıklar. **Temel İç Hastalıkları** cilt-I. İliçin G, Ünal S, Biberoğlu K ve ark, Melisa Matbaacılık 1996; 802-852.
79. Shimizu A, Kitamura H, Masuda Y et al: Apoptosis in the repair process of experimental proliferative glomerulonephritis. **Kidney Int** 1995;47:114-121.
80. Shimizu A, Masuda Y, Kitamura H et al: Apoptosis in progressive crescentic glomerulonephritis. **Laboratory Investigation** 1996; 74: 941-951.

81. Sorenson CM: Life, death and kidneys: regulation of renal programmed cell death. **Current Opinon in Nephrology & Hypertension** 1998; 7: 5-12.
82. Soto H, Mosquera J, Rodriguez-Iturbe B et al: Apoptosis in proliferative glomerulonephritis: decreased apoptosis expression in lupus nephritis. **Nephrol Dial Transplant** 1997; 12: 273-280 (Abs.).
83. Steller H: Mechanisms and genes of cellular suicide. **Science** 1995; 267:1445-1449.
84. Stennicke HR, Salvesen GS: Biochemical characteristics of caspases-3, -6, -7 and -8. **The Journal of Biological Chemistry** 1997; 272: 25719-25723.
85. Stewart J, Cameron RT: Lupus Nephritis. **Journal of the American Society of Nephrology** 1999; 10: No: 2 (Medline: [http://www.ASN9-99.Feature article.htm](http://www.ASN9-99.Feature%20article.htm)).
86. Sugiyama H, Kashihara N, Makino H et al: Apoptosis in glomerular sclerosis. **Kidney Int** 1996; 40: 103-111.
87. Takemura T, Murakami K, Miyazato H et al: Expression of Fas antigen and Bcl-2 in human glomerulonephritis. **Kidney Int** 1995; 48:1886-1892.
88. Tashiro K, Kodera N, Takahashi Y et al: Detection of apoptotic cells in glomeruli of patients with IgA nephropathy. **Nephron** 1998; 79:21-27.
89. Thompson CB: Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. **Science** 1995; 267: 1456-1462.
90. Tomita N, Horiuchi M, Tomita S et al: An oligonucleotide decoy for transcription factor E2F inhibits mesangial cell proliferation in vitro. **AJP: Renal Physiology** 1998; 275: 278-284.
91. Trudel M, D'agati V, Constantini F: C-myc as an inducer of polycystic kidney disease in transgenic mice. **Kidney Int** 1991; 39: 665-671.

92. Wallace DJ, Hahn BH, Klippel JH: Lupus nephritis. **Dubois' Lupus Erythematosus** Wallace DJ, Hahn BH. 5<sup>th</sup> edition, Williams&Wilkins a waverly company Baltimore USA ; 1995: 1053-1061.

93. Walton G, Buttyan R, Garcia-Montes E et al : Renal growth factor expression during the early phase of experimental hydronephrosis. **The Journal of Urology** 1992; 148: 510-514.

94. Wang JS, Ger LP, Tseng HH: Expression of glomerular antioxidant enzymes in human glomerulonephritis. **Nephron** 1997; 76: 32-38.

95. White K, Grether ME, Abrams JM et al: Genetic control of programmed cell death in *drosophila*. **Science** 1994; 264:677-683.

96. Williams DG: Mesangiocapillary glomerulonephritis. **Oxford Textbook of Clinical Nephrology**. Davison M A, Cameron J S, Grünfeld J P et al, 2<sup>nd</sup> edition Oxford University Press 1998; 591-613.

97. Wolf HK, Dittrich KL: Detection of proliferating cell nuclear antigen in diagnostic histopathology. **The Histochemical Society** 1992; 40: 1269-1273 (Abs.).

98. Woronicz JD, Calnan B, Ngo V, Winoto A: Requirement for the orphan steroid receptor nur77 in apoptosis of T-cell hybridomas. **Nature** 1994; 367: 277-280.

99. Yin XM, Oltval ZN, Korsmeyer SJ: BH1 and BH2 domains of bcl-2 are required for inhibition of apoptosis and heterodimerization with bax. **Nature** 1994; 369: 321-323.

100. Zubiaga AM, Munoz E, Huber BT: IL-4 and IL-2 selectively rescue Th cell subsets from glucocorticoid-induced apoptosis. **The Journal of Immunology** 1992; 149: 107-112.