

**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI ENSTİTÜSÜ**

99332

**ANJİOTENSİN KONVERTİNG ENZİM GEN POLİMORFİZMİNİN,
MEMBRANOPROLİFERATİF GLOMERÜLONEFRİT VE
POSTSTREPTOKOKSİK AKUT GLOMERÜLONEFRİT
HASTALIKLARININ AYIRICI TANI VE PROGNOZLARINA ETKİLERİ**

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
DOKÜMANTASYON MÜHÜRÜ

(Uzmanlık Tezi)

99332

Dr.Feyza Çivici Gümüş

İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından T- 660/190299 sayılı proje ile desteklenmiştir.

İstanbul - 2001

Asistanlık sürem boyunca klinik bilgi ve deneyimlerime katkıda bulunan; öncelikle İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.B.D. Başkanları Prof.Dr.Talat Cantez ve Prof.Dr.Ülker Öneş'e, İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı Enstitüsü Başkanı Prof.Dr.Günay Saner'e, tez danışmanım Doç.Dr.Ahmet Nayır'a ve diğer tüm hocalarıma ve uzmanlarıma sonsuz şükranlarımı sunarım.

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr.Turgay İspir ve çalışma arkadaşlarına tezime verdikleri tüm destekten dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.B.D.'ndeki tüm asistan arkadaşlarıma, hemşire ve personel arkadaşlarıma ilgi, sevgi ve desteklerinden dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Her türlü yardım ve moral desteğini aldığım sevgili hayat arkadaşım Ömer Gümüş'e, biricik kızım Zeynep'e, kardeşlerim Ayşegül Çivici'ye ve Mehmet Gümüş'e, ayrıca tüm ailem ve dostlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Dr.Feyza Çivici Gümüş

İçindekiler

Başlık	Sayfa no
1- Giriş ve amaç	1
2- Genel Bilgiler	2
2.1-Glomerüler Hastalıklar	2
2.2-Glomerüler Hastalıklarda Patoloji	3
2.3-Glomerülonefritlerin Sınıflandırılması	4
2.4 -Membranoproliferatif Glomerülonefrit	6
2.4.1-Patoloji	6
2.4.2-Bulgular	7
2.4.3-Laboratuar	7
2.4.4-Patogenez	8
2.4.5-Tedavi	8
2.5-Poststreptokoksik Akut Glomerülonefrit	10
2.5.1-Patoloji	10
2.5.2-Etyopatogenez	11
2.5.3-Bulgular	11
2.5.4-Laboratuar	11
2.5.5-Tanı	12
2.5.6-Tedavi	13
2.5.7-Prognoz	13
2.6-ACE Gen Polimorfizmi	14
2.6.1-Renal Hastalıklarla İlişkisi	17
2.6.1.1-Diabetik Nefropati	17
2.6.1.2-IgA Nefropatisi	18
2.6.1.3-Glomerüler Hastalıklar	20
2.6.2-ACE Genotipi ve Tedaviye Cevap	22
2.6.3-Koronar Arter Hastalığı ile İlişkisi	23
2.6.4-Diğer Hastalıklarla İlişkisi	24
3-Materyal Metod	26
3.1-Seçilen Örneklerin Tanımı	26
3.2-Kullanılan Kimyasal Maddeler	26
3.3-Kullanılan Gereçler	27
3.4-Çözeltiler	27
3.5-Kullanılan Yöntemler	29
3.6-Sonuçların Değerlendirilmesi	31
4-Bulgular	32
4.1-PSAGN'li Hastaların Değerlendirilmesi	32
4.2-MPGN'li Hastaların Değerlendirilmesi	32
4.3-ACE Gen Polimorfizminin Gruplar Arası Dağılımı	35
4.4-MPGN'li ve PSAGN'li Hasta Gruplarının Karşılaştırılması	36
4.5-Sağlıklı Kontrol Grubu verileri	37
5-Tartışma	38
6-Özet	42
7-Kaynaklar	43
8-Ekler	47

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Membranoproliferatif glomerülonefrit (MPGN) ilk kez 1965 yılında tanımlanmış olup etyolojisi tam olarak bilinmeyen kronik bir glomerülonefrittir. Genellikle 6-13 yaş grupları arasında, idiopatik nefrotik sendrom şeklinde gözlenmektedir. Renal yetmezliğe kadar gidebilen bu olgularda; hastalığın renal transplantasyon sonrası bile tekrarlama olasılığı oldukça fazladır.

Poststreptokoksik akut glomerülonefrit (PSAGN) ise bazı çocuklarda streptokokal enfeksiyonlardan bir süre sonra oligüri, ödem, makroskobik hematüri semptomlarıyla ortaya çıkan bir glomerülonefrit şeklidir. Genellikle gelişmekte olan ülkelerde izlenen bir hastalıktır.

Anjiotensin konverting enzim geni 17. kromozomda (17q23) yerleşmiştir ve 16.intronda 287 bp alu tekrar bölgesinde insersiyon/delesyon (I/D) polimorfizmi göstermektedir. Renin- Anjiotensin sistemine (RAS) ait genlerin böbrek hastalığı ile ilişkisini göstermeye yönelik çalışmalar, çelişkiler göstermektedir. Böbrek hastalığı, ACE geni DD homozigotlarında daha hızlı ilerlemeler gösterse bile, bağlantılar henüz tam olarak anlaşılamamıştır.

Poststreptokoksik akut glomerülonefrit ve membranoproliferatif glomerülonefrit klinik ve laboratuvar bulgularıyla benzerlik göstermelerine rağmen, prognoz açısından farklı olmaları çeşitli araştırmalarla rapor edilmiştir (21). Her iki hastalıkta da ACE gen polimorfizmi ile ilgili yayınlanmış çalışma yoktur.

Bu çalışmada; ACE gen polimorfizmi açısından PSAGN'li ve MPGN'li hasta gruplarıyla, sağlıklı kontrol grubunu karşılaştırarak; bu faktörün bu iki hastalık grubundaki durumu araştırıldı.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. GLOMERÜLER HASTALIKLAR

Glomerüler hasarın en önemli nedenlerini üç başlık altında toplamak mümkündür. Bunlar;

- 1) İmmünolojik mekanizma
- 2) Herediter geçişli hastalıklar
- 3) Koagülasyon bozuklukları olarak sınıflandırılır. Ancak bunların içinde de en önemli ve en çok taraftar toplayan neden, immünolojik mekanizma olup; glomerülonefritle sonuçlandığı açıklanmıştır.

Glomerülonefritin immünolojik hasara bağlı olarak geliştiğini gösteren başlıca kanıtlar aşağıda özetlenmiştir:

- 1) Deneysel olarak oluşturulan immün kompleks glomerülonefritlerdeki morfolojik ve immünolojik benzerlik.
- 2) Glomerülde immünglobulin ve kompleman komponentlerinin görülmesi.
- 3) Serum kompleman düzeylerinde anormallikler ve otoantikörlerin (antiglomerüler bazal membran) varlığı.

İmmünolojik hasarı açıklayan mekanizmaları:

- 1) Dolaşımda bulunan antijen- antikör immün kompleksleri.
- 2) Dokudaki lokal antijenlerin antikörlerle etkileşmesi şeklinde, iki başlık altında toplamak mümkündür.

İmmün komplekslere bağlı gelişen glomerülonefritlerde; immün kompleksler glomerülde birikerek ve kompleman sistemini aktive ederek, immün hasara neden olurlar (3).

Deneysel çalışmalarda ise dolaşımda immün kompleksler oluşturulmuş ve bunların böbrekte depolandığı gözlenmiştir.

İmmün komplekslerin glomerüldeki lokalizasyonunun nasıl olduğu tam olarak anlaşılacakla beraber aşağıdaki özelliklerden etkilendiği düşünülmektedir;

- 1) İmmün kompleksin miktarı, konsantrasyonu ve içeriği.
- 2) Glomerülün mezangial yapısı ve kapiller duvardaki değişiklikleri.
- 3) Hidrodinamik güç.
- 4) Anjiotensin II ve prostaglandin gibi mediatörlerin değişik etkileri.

İmmünfloresan mikroskopta glomerüler kapiller duvarda immünglobulin ve komplemandan oluşan granüler depositlere " lumpy bumpy " adı verilmiş ve bunlar akut glomerülonefrit için tanısal değere sahip olmuşlardır.

Elektron mikroskobu ile mesangiumda ve glomerül bazal membranda depolanma olduğu görülmüştür.

Antiglomerüler bazal membran hastalığı dokudaki antijen ve antikörün etkileşimi sonucu meydana gelmektedir. İmmünopatolojik

çalışmalarda immüoglobulin ve komplemanın, glomerüler bazal membranda lineer şekilde depolandığı görülmüştür (3).

İnflamatuar reaksiyonun, immünolojik hasarı takiben bir veya birçok biyokimyasal olayın aktivasyonu sonucu meydana geldiği gösterilmiştir. Bunlardan en önemlisi kompleman sisteminin aktive olmasıdır. Kompleman sistemini antijen - antikor immün kompleksleri klasik yoldan aktive ederken, endotoksin ve aktive olmuş polisakkaritler alterne (properdin) yoldan aktive eder ve her iki yol C3'de birleşirler. Her iki yolunda (bazen teki) benzer şekillerde hücre membranlarında erime yapabilecekleri açıklanmıştır.

C3'ün aktivasyonundan sonra gelişen anaflatoksin, vasküler geçirgenliği artırır, vasküler duvardaki kontraktıl proteinleri stimüle eder. Kemotaktik faktör C5a direkt olarak nötrofilleri ve makrofajları etkileyerek, bazal membran ve vasküler hücrelerde hasara yol açar.

Kompleman sistemi ya endotel hasarını takiben direkt olarak ya da kompleman aktivasyonunu takiben indirekt olarak aktive olur, glomerüler kapiller ve Bowman kapsülünde fibrin depolanmaları gözlenir.

Koagülasyon sisteminin aktivasyonu sonucu, kinin sistemi de aktive olur ve anaflatoksin benzeri faktörler ve kemotaktik faktörün üretilmesine neden olduğu açıklanmıştır.

2.2. GLOMERÜLER HASTALIKLARDA PATOLOJİ :

Glomerülde meydana gelen hasar histopatolojik cevapla ilişkilidir. Farklı glomerülopatilerde benzer mikroskobik değişiklikler meydana gelebilir.

Glomerülo nefritlerde ortaya çıkan en önemli özellik glomerüler hücrelerdeki proliferasyondur. Tüm glomerüller tutulabildiği gibi, bazen bir kaç glomerülde tutulum gözlenmiştir. Bazen glomerül fokal olarak tutulurken, bazen de tamamı tutulur. Proliferasyon genellikle endotelial mezangial hücrelerdedir. Sıklıkla bu proliferasyon mezangial matrikste artış ile beraberdir. İmmü floresan ve elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalarda; mezangiumda depolanan immün komplekslerin, mezangial proliferasyonun göstergesi olduğu bildirilmiştir (3).

Mezangial matriks ve hücrelerdeki sayıca ve hacimce artış glomerüler hacmi artırır, kapiller lümenleri birbirine yanaştırır. Bu mekanizmanın renal yetmezliğe yol açtığı açıklanmıştır.

Paryetal epitel hücrelerdeki proliferasyon, Bowman kapsülünde kresent formasyonu oluşumu ile sonuçlanır. Kresent formasyonu rapidly progresif (hızlı seyirli) glomerülo nefritlerde gözlenir. Kresentler Bowman kapsülündeki fibrin depozitleri olup glomerüler hasarda rol oynadıkları gösterilmiştir.

Glomerüler hasarın gelişiminde önemli rolü olan diğer faktörlerin;

- 1) Bowman kapsülündeki epiteliyal hücre proliferasyonu
- 2) Bazal membran benzeri materyal üreten hücreler
- 3) Makrofajlar olduğu bildirilmiştir.

Zamanla kresent konnektif doku ile istila olur ve glomerül görevini yapamayacak hale gelir.

Kresent formasyonu genellikle glomerüler kapiller duvarda ve antiglomerüler bazal membranda immün kompleks depolanmasıyla ve mezangial hücrelerdeki proliferasyon ile bağlantılıdır (3).

Akut glomerülo nefritlerde; proliferasyona ek olarak nötrofil, eozinofil, bazofil ve mononükleer hücrelerden meydana gelen glomerüler eksudasyon izlenir.

Membranöz glomerülo nefritte, glomerüler bazal membranda genişleme şeklinde kalınlaşma söz konusudur.

Sistemik lupus eritematozusda membranda karakteristik masif immün kompleks depolanması izlenmektedir.

Membranoproliferatif glomerülo nefritlerde bazal membranda split denilen aralıklı depozitlere raslanır.

Mezangial matriks artışı skleroza ve glomerülde skar dokusu gelişmesine neden olur.

2.3. GLOMERÜLO NEFRİTLERİN SINIFLANDIRILMASI

Glomerülo nefritleri 2 ana başlık altında incelemek mümkündür. Bunlar sırasıyla;

1) Konjenital ya da kalıtsal olanlar

- Alport sendromu
- Konjenital nefrotik sendrom
- Familial hematurî
- Nail - patella sendromu

2) Sonradan edinilmiş olanlar

A) Primer ya da idiopatik

- Minimal değişiklik hastalığı (Minimal change disease MCD)
- Mezangial proliferatif glomerülo nefrit
- Fokal segmental glomerüloskleroz (FSGS)
- Membranoproliferatif glomerülo nefrit tip 1,2,3 (MPGN)
- Membranöz glomerülo nefrit
- IgA nefropatisi
- Hızlı seyirli glomerülo nefrit (RPGN)
- Fokal proliferatif glomerülo nefrit
- Diffüz proliferatif glomerülo nefrit
- Sınıflandırılmayan kronik glomerülo nefrit

B) Sekonder**1) İnfeksiyon sonrası gelişenler**

- Poststreptokokal akut glomerülonefrit
- Hepatit B
- Subakut bakteriyel endokardit
- Şant nefriti
- Post pnömokokal glomerülonefrit
- Konjenital sifiliz
- Malarya
- Leptospirozis
- Şistozomiazis
- Filariasis
- AIDS

2) Multisistemik hastalıklarla bağlantılı olanlar

- Henoch Schönlein Purpurası
- Sistemik Lupus Eritematozus (SLE)
- Hemolitik üremik sendrom
- Diabetes mellitus
- Kollajen Doku Hastalıkları
 - Poliarteritis nodoza
 - Mikst konnektif doku hastalığı
 - Wegener Granülomatozis
 - Vaskülitler
 - Romatoid artrit
 - Good - pasture sendromu
 - Amiloidoz

3) İlaçlara bağlı gelişenler

- Penisilamin
- Nonsteroid antienflamatuar ilaçlar
- Kaptopril
- Altın tuzları
- Trimethadion
- Eroin
- Lityum

4) Neoplazmlar

- Lösemi
- Lenfoma
- Karsinoma

5) Diğerleri

- Kronik renal transplantasyon rejeksiyonu
- Reflü nefropatisi
- Orak hücreli anemi

2.4. MEMBRANOPROLİFERATİF GLOMERÜLONEFRİT

Membranoproliferatif glomerülonefrit ilk kez 1965 yılında tanımlanan, etyolojisi tam olarak bilinmeyen kronik bir glomerülonefrittir.

Genellikle etkilediği yaş grubu 6-13 yaşdır. Bu yaş grubunda idiopatik nefrotik sendrom şeklinde prezente olur. Bununla beraber uzun süre asemptomatik olan olgular, rastlantısal olarak yapılan idrar analizinde ortaya çıkan mikroskobik hematüri ya da proteinüri ile saptanırlar. Renal yetmezliğe gidişi mümkün olan bu hastalıkta; renal transplantasyon sonrası da hastalığın tekrarlama olasılığı yüksektir. Membranoproliferatif glomerülonefrite; mezangiokapiller ve lobuler glomerülonefrit adı da verilir (21).

2.4.1. PATOLOJİ :

Elektron mikroskop bulgularına göre üç tip vardır. Işık mikroskobunda ise üç tipde benzer bulgular gösterir. Işık mikroskobunda tüm tiplerde hakim olan görüntü; mezangial matriks ve hücrelerde ciddi proliferasyonun varlığıdır. Glomerüller yumakta lobulasyonlar ortaya çıkar ve kapiller lümenlerde kompresyon ya da tıkanmalar meydana gelir. Ciddi mezangial proliferasyonda kapiller endotel ile bazal membran arasına mezangial sitoplazma yerleşir. Araya giren mezangial sitoplazma ile endotel arasında yeni bazal membran gelişir. Bu bazal membranlar, kapiller duvardaki karakteristik double contour (trom-track) görüntüsünü meydana getirir.

Membranoproliferatif glomerülonefritteki proliferasyon genellikle diffüzdür. Ancak vakaların % 5-10'unda fokal ya da segmental proliferatif lezyonlar da izlenir. Proliferasyona uğrayan primer hücreler mezangial hücreler olup, kısmen endotelial proliferasyonda gözlenir. Vakalarda epitelial hücre proliferasyonu ve kresent formasyonu açıkça izlenir. Ancak glomerülde nötrofilik infiltrasyon gelişebilir.

MPGN'nin elektron mikroskobik bulgularına göre üç alt şekli mevcut olup, her üç tipte de mezangiumda depozitler izlenmektedir. Bunlara ait genel özellikler aşağıda özetlenmiştir.

Tip 1'de depozitler subendotelial çıkıntılar şeklinde izlenir. Bazal membran intaktır.

Tip 2'de depozitler yeni oluşan bazal membranda şerit halinde izlenir. Benzer materyal Bowman kapsülünde ve tubuler bazal membranda da gözlenir.

Tip 3'de depozitler hem subendotelial hem de subepitelial gelişir. Bazal membranda yer yer pencere şeklinde boşluklar vardır.

İmmünfloresan çalışmalarda her üç tiptede C3 depolanması gözlenmiştir.

Tip 1'de C3 genellikle periferik kapiller yumakta depolanır. Bu saçak paterni olarak tanımlanmıştır.

Tip 2'de yine periferik kapiller yumakta bir hat boyunca aralıklar bırakarak depolanır. Buna pseudolineer patern denir.

Tip 3'de hem kapiller hem de mezangiumda granüler tarzda C3 depolanması izlenir.

Her üç tipte de değişik derecelerde IgG depolanması da görülür. Vakaların %70-80'inde IgG gösterilmiştir. C3 ile benzer lokalizasyonlarda yerleşir. Tip 2 MPGN 'de IgG depolanması oldukça zayıftır. Tip 3'de IgG depolanması değişkenlik gösterir.

Her üç tipte de minimal IgM ve IgA depolanması izlenir.

C1q ve C4 depolanması, erken dönemde meydana gelmektedir. Tip 2'de gözlenmezken, Tip 1'de sıklıkla, Tip 3'de seyrek görülürler.

Kompleman aktivasyonu Tip 1'de klasik yoldan, Tip 2 ve Tip 3'de alternatif yoldan olmaktadır.

2.4.2. BULGULAR :

MPGN'nin insidansı ve prevalansı tam olarak bilinmemektedir. Hastaların çoğunda 6 yaşından sonra ortaya çıkar. Seks farklılığı gözetmez.

MPGN asemptomatik hematüriden hızlı seyirli glomerülonefrite kadar giden geniş bir spektrum gösterir. Hastaların %25-30'unda asemptomatik mikrohematüri ve proteinüri bulguları; %30'unda gros hematüri ve ödeme ortaya çıkan akut glomerülonefrit tablosu, %40-45'de ise nefrotik sendrom tablosu gözlenir. Bununla beraber nefritik ve nefrotik tablonun birlikte olduğu vakalar gözlenmemiştir. Akut nefritik tabloda olan hastada hipertansiyon da ciddi bir bulgudur (21).

2.4.3. LABORATUAR BULGULARININ DEĞERLENDİRİLMESİ :

-İdrar analizinde; glomerüler hastalıkların tipik bulgusu hematüri ve proteinüri gözlenir.

-Nefrotik tabloda başvuran hastalarda renal fonksiyonlar genellikle normaldir. Renal yetmezliğe gidiş varsa bozuk çıkabilir.

-Nefritik tabloda başvuran hastalarda ise sıklıkla renal yetmezlik mevcuttur. Hastaların bazılarında ciddi olarak hızlı seyirli glomerülonefrit gelişir.

-Vakaların %60'ında C3 düşüklüğü saptanır. Bu tanısaldır. Eğer C3 normal ise MPGN tanısından uzaklaşılır. C3 düşüklüğünün nedeni anlaşılammıştır. Kompleman sisteminin aktivasyonu ile C3 tüketilir, katabolizması artar.

-Dolaşan immün kompleksler ve C3NEF alterne yolda kompleman sistemini aktive ederler .

-C3NEF Tip1 ve Tip 2'de varken, Tip 3'de yoktur.

-Tip 1'de, C1q ve C4 seviyeleri de düşüktür (Tablo1).

2.4.4. PATOGENEZ:

MPGN'de patogenezi tam olarak bilinmemekle beraber tipler arasında farklılık gösterir.

Tip 1 MPGN; dolaşımdaki immün komplekslerin glomerüllere yerleşmesiyle meydana gelen bir immün kompleks nefritidir.

Tip 1 MPGN'de;

- 1) Kapiller yumak boyunca ve mezangiumda granüler tarzda IgG ve C3 depolanması,
- 2) C1q ve C4 seviyelerinde erken dönemde izlenen düşüklük,
- 3) Serumda dolaşan immün komplekslerin varlığı izlenir.

Tip 2 ve Tip 3 MPGN'lerin patogenezi tam olarak bilinmese de onlar da immün kompleks nefritidir.

Kalıtsal C2 eksikliğinde, Tip 1 ve Tip 3 MPGN insidansının yüksek olduğu saptanmıştır.

2.4.5. TEDAVİ ŞEKLİ:

Tedavide kullanılan ilaçlar:

- 1) Oral kortikosteroid
- 2) Yüksek doz bolus tarzında intravenöz kortikosteroid
- 3) Siklofosfamid ile kombine warfarin+dipridamol ya da aspirin +dipridamol

Ancak bu tedavi seçeneklerinde yüz güldürücü sonuçlar alınammıştır.

Tedavisiz bırakılan hastaların bir kısmında spontan geçici remisyonlar izlenmiştir.

Alterne gün prednisone tedavisinde; gūnaşırı 2 mg/kg'dan (max 80 mg.) prednisone 1 yıl süreyle hastaya verilir. Ardından 2-15 yıl boyunca sürdürme tedavisinde gūnaşırı 20 mg. prednisone kullanılır. Ancak bu tedaviyle renal fonksiyonlarda, nefrotik sendrom bulgularında, idrar analizlerinde ve renal histolojide iyileşme sağlanammıştır (21).

İyileşen hastalarda nefrotik bulguların ve proteinürinin tekrarlaması relaps olarak kabul edilir. Düşük doz tedavi alırken relaps olan hastalarda, steroid dozu artırılırken, tedavi kesilince relaps olan hastalarda tekrar tedaviye başlanır.

Tedavi ile en iyi iyileşme Tip 1 MPGN'de izlenir. Diğer tiplerde de klinik iyileşmeler gözlenmiştir. Yüksek doz prednisone tedavisi sırasında büyümede duraklama gözlenmiştir.

Antikoagülan ve siklofosamid ile yapılan çalışmaların sonuçları farklılık göstermektedir. Kimi çalışma hiçbir yarar sağlanamadığını söylerken, kimi çalışmalarda ise yarar sağlandığı bildirilmiştir. Tip 2 MPGN'de yapılan çalışmalarda antikoagülan, prednison ve sitotoksik ilaçlarla yapılan tedavilerde depositlerde gerileme gözlenmiştir (21).

MPGN ile hızlı seyirli ya da kresentik glomerülo nefrit arasında bağlantı vardır. Bu hastalarda, çeşitli tedavi modelleri iyileşme sağlar.

Bunlar oral kortikosteroid, siklofosamid + antikoagülan tedavi, İ.V. prednison ve plazmaferez tedavileridir.

MPGN, transplante böbrekte de tekrarlar. Renal transplantta MPGN'nin tekrarlaması oranı Tip 3'de %30 iken, Tip 2'de %90'dır. Buna rağmen transplantasyon için kontrendikasyon yoktur. Tekrarlayan hastalığa bağlı olarak transplantasyonun reddi sadece %10 vakada görülür (Tablo 1).

Bu vakaların bir çoğu asemptomatiktir.

Tablo 1

MPGN subtipleri arasında klinik, laboratuvar ve patolojik bulgular açısından farklılıklar

	Elektron mikroskopu		Işık mikroskopu		Serum komplemanı			Kompleman aktivasyonu	Renal transplantta rekürrens riski
	Depozitler	Bazal membran	C3	Ig G	C3	C4	C3NEF		
Tip 1	Mesangium ve subendotelde çıkıntılı	İntakt	+	+	N↓	N↓	Olabilir	Klasik	%30
Tip 2	Mesangium ve subepitelyal	Devamlı depozit(+)	+	-	N↓	N↓	+	Alterne	%90
Tip 3	Mesangium Subepitelyal Subendotelial Intramembranöz	Aralıklı tutulum	+	?	N↓	N↓	Yok	Alterne	

2.5. POSTSTREPTOKOKSİK AKUT GLOMERÜLONEFRİT

Bazı çocuklarda streptokok enfeksiyonlarından bir süre sonra oligüri, ödem, makroskopik hematüri semptomlarıyla ortaya çıkan bir glomerülonefrit tipidir. Antibiyotiklerin keşfinden sonra bu hastalığın insidansında belirgin azalma olmuştur. Gelişmekte olan ülkelerde izlenen bir hastalıktır. Çocukların çoğunda kendi kendini sınırlayan bir hastalık iken, bazı vakalarda akut renal yetmezlik gelişebilir.

2.5.1. PATOLOJİ:

Proliferatif bir glomerülonefrittir. Vakaların çoğu subkliniktir ve genellikle ışık mikroskopunda orta derecede mezangial hücrelerde ve matrikste proliferasyon izlenir. Ciddi vakalarda mezangial hücrelerde ve matrikste diffüz tutulum, endotelial hücre proliferasyonu, polimorfonükleer lökosit ve monositlerin infiltrasyonu ile kapiller hücrelerde tıkanmalar izlenir. Morfoloji diffüz endokapiller, eksudatif, proliferatif glomerülonefrit olarak tanımlanır. Glomerül bazal membran genellikle normaldir. Nadiren interstisyel ödem ve polimorfonükleer hücrelerden, monosit ve eozinofillerden oluşan infiltrasyonda izlenebilir. Çok az vakada hızlı seyirli glomerülonefrit gelişir, bunlarda kresent oluşumu gözlenir. Nadiren renal damarlarda nekrotizan vaskülit bulguları mevcuttur (21).

Elektron mikroskopunda; depozitler mezangiumda, karakteristik olan humps adı verilen hörgüç şeklindekiler ise subepitelial lokalizasyonda izlenirler.

İmmünfloresan mikroskopta kapiller yumak boyunca ve mezangiumda ise düzensiz ve kaba granüler şekilde IgG ve C3 depolanması tipik olarak izlenir. Baskın olarak IgG depolanmasının yanı sıra minimal IgA ve IgM içeren depozitler de vardır. Genellikle C1q ve C4 izlenmez ya da nadiren görülür. Sıklıkla mezangiumda fibrin izlenir.

Bir yıl içinde immünfloresan ve elektron mikroskopuyla görülen depozitler gözden kaybolurlar. Polimorfonükleer infiltrasyon, mezangial ve endotelial proliferasyon, başlangıçtan 2-3 ay sonra düzelir. Fakat mezangial proliferasyon ve mezangial matrikste genişleme birkaç yıl daha devam edebilir.

2.5.2 ETYOPATOGENEZ:

Genellikle A grubu β hemolitik streptokok enfeksiyonlarını takiben meydana gelir. Streptokokların diğer tiplerinde etken olduğu

bilinmektedir. A grubu β hemolitik streptokokların derideki M 49, 55, 57, 60; solunum yollarındaki M1,2,4,12,18,25 tipleri sorumludur. Ayrıca grub C streptokoklardan streptococci ve streptococcus zooepidermitis etkindir.

İnfeksiyon lokalizasyonu genellikle üst solunum yolları, orta kulak ve deridir. Kızıl hastalığından sonra da ortaya çıkabilir. Akut romatizmal ateş geçiren hastada, aynı anda poststreptokoksik glomerülonefrit de gelişebilir.

Streptokokkal enfeksiyonla ilişki, klinik bulgular ve böbrekteki immünfloresan göstergeler, PSAGN'nin immünolojik bir glomerülonefrit olduğunu gösterir.

Glomerüler hasarın, proteinüri ve hematürinin mekanizması tam olarak aydınlatılamamışsa da; dolaşan ya da dokudaki immün kompleksler suçlanmaktadır. Diğer bir hipotez ise, streptokokların neuroaminidaz üretimiyle endojen IgG salınmakta ve bu otoantijenik uyarıya neden olmaktadır. Otoantikolar IgG'ye benzerler ve böbreğe giderek depolanırlar (21).

2.5.3. BULGULAR AÇISINDAN DEĞERLENDİRME:

Farenjitten sonra 10 gün, deri enfeksiyonundan sonra 21 günlük bir latent periyodu takiben semptomlar ortaya çıkar. Çoğu hastada farenjit geçirildiğine dair hikaye yoktur. Fizik muayenede bazen impetigoya ait izler görülebilir.

Tipik olarak; ani başlayan, ağrısız gros hematüri (çay ya da kola renginde idrar) ve ödem en önemli semptomlardır. Ödem ya jeneralizedir ya da göz kapaklarına lokalizedir. Hipertansiyon da gelişen diğer bir bulgudur. Baş ağrısı, kusma, dalgalılık ve konfüzyon ile baş vuran hastada hipertansif ensefalopati düşünülür.

Sıklıkla oligüri izlenir. Ciddi hastalıkta anüri de olur. Bazı hastalarda anemi izlenir.

2.5.4. LABORATUAR BULGULARINI DEĞERLENDİRME:

- İdrar analizinde; 1-4(+) proteinüri, hematüri ve anormal sediment (dismorfik eritrositler, lökositler) saptanır.
- Kan üre azotu ve kreatinin yükselmiştir.
- Yükseklik dereceleri değişkendir. Bazı hastalarda renal fonksiyonlar normal olabilir.
- Renal yetmezliğe bağlı hiperkalemi, asidoz, hiperfosfatemi ve hipokalsemi izlenebilir.

- Nadiren hastaların bazılarında nefrotik sendromda olduğu gibi ağır proteinüri gözlenir.
- Hastaların tümünde ilk haftalarda total hemolitik komplement ve C3 azalır.
- C4 genellikle normal, bazı vakalarda ise hafifçe düşüktür. Normali 80-170 mg/dl iken bu hastalıkda 20 mg/dl'ye kadar düşer.
- Hastaların yarısında properdin düzeyi azalmıştır. Bu bulgu alterne kompleman yolunun aktive olduğunu gösterir.

C3 düşüklüğü ile hastalığın ciddiyeti ya da tekrarlaması arasında bir ilişki yoktur.

Kompleman düzeyleri 8-10 haftada normale döner. Kompleman düşüklüğü devam eder ve normale dönmezse, C3 düşüklüğü ile giden MPGN ve lupus nefritinden ayırıcı tanı gerekir.

Streptokok enfeksiyonuna ait kanıtlar aranır. Ancak antibiyoterapi kullanmışsa; alınan boğaz ve deri kültürleri negatif çıkar. Streptokok enfeksiyonunu gösteren ASO, antistreptozim, antihyalurinidaz, antiDNase B gibi serolojik testler pozitif çıkarsa tanıyı güçlendirir (21).

Farenjite bağlı PSAGN'de %75-80 ASO yüksekliği saptanırken, impetigoya bağlı PSAGN'de bu oran %50'dir. Antihyalurinidaz da genellikle pozitifdir.

Serumda krioglobulinler izlenir. Bunlar IgG, IgM ve C3'dür. Dolaşan immün kompleksler pozitifdir.

Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda; farenjiti takiben %5-10, impetigoyu takiben %25 oranında PSAGN gelişme riski saptanmıştır.

2.5.5. TANI :

- Streptokokal enfeksiyonu takiben ani başlayan makroskobik hematüri ödem ve/veya akut renal yetmezlik olması
- İdrar analizinde hematüri, proteinüri, tipik idrar sedimenti
- Düşük C3 düzeyi
- Streptokok enfeksiyonunu gösteren testlerin pozitif olması.

IgA nefropatisi de farenjiti takiben makroskobik hematüri ile ortaya çıkar. Ancak hipertansiyon ve ödem olmamasıyla PSAGN'den ayrılır.

C3 düşüklüğü 6-8 haftada düzelir. Sebat eden C3 düşüklüğünde MPGN ve lupus nefriti gibi diğer kronik glomerülonefritler araştırılmalıdır.

PSAGN tanısı için renal biyopsi endikasyonu yoktur. Ancak düzelmeyen bir nefrotik tablo varsa biyopsi yapılır.

2.5.6. TEDAVİ :

Tedavi semptomatiktir.

Hipertansiyon tedavisi için periferik vazodilatatörler (hidralazin veya nifedipin) kullanımı etkilidir. Sıvı yükü olan vakalarda diüretikler de kullanılır. Günler ya da haftalar içinde antihipertansif tedaviye yanıt alınır. Eğer hastada hipertansif ensefalopati gelişmişse antihipertansif tedavi daha agresif yapılmalıdır. Hipertansiyon düzelene kadar sıvı, tuz ve potasyum kısıtlanır.

Hastalar başvurduklarında streptokokal enfeksiyona ait hikaye ya da bulgu yoksa ve boğaz kültürü negatif ise antimikrobiyal tedaviye gerek yoktur. Hikaye ya da bulgu varsa veya boğaz kültürü pozitif ise penisilin ya da eritromisin tedavisine başlanır.

Hipertansif ensefalopati ve akut renal yetmezlik yatış endikasyonunu oluşturur.

Akut renal yetmezlik gelişen hastalarda tedavi; sıvı elektrolit dengesini ve hiperkalemiyi düzeltmeye yöneliktir. Hastaların çoğu diyaliz ihtiyacı olmadan iyileşir. Fakat nadiren diyaliz endikasyonu doğan vakalar da vardır.

PSAGN tedavisinde kortikosteroid ve diğer immünsupresif ilaçların yeri yoktur. Ancak PSAGN sonucu hızlı seyirli glomerulonefrit gelişirse o zaman kortikosteroid, sitotoksik ajanlar, antikoagülanlar ve plazmaferez tedavileri kullanılır. Bunlara rağmen hastalığın kötüye gidişi önlenemez.

2.5.7. PROGNOZ:

PSAGN'li %5 vakada kresent formasyonu gösteren hızlı seyirli glomerulonefrit gelişir. Hastalıktan sonraki 5-7 gün içinde diürez başlar, ödem kaybolur ve kan basıncı normale döner. İlk haftada renal fonksiyonlarda progresif iyileşme gözlenmesine rağmen bazen bunların düzelmesi 3-4 haftayı bulur. Serum komplemanı (C3) 6-8 haftada normale döner. Ödemin kaybolmasından sonra, idrar analizindeki anormallikler bir kaç ay daha devam edebilir.

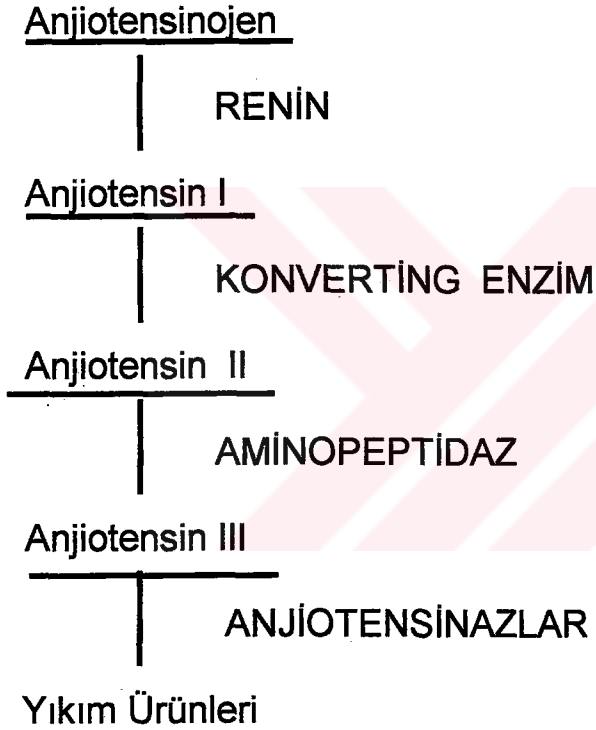
Yapılan çalışmalarda görülmüştür ki; persistan hematüri ya da proteinüri olasılığı %3.5'dir. Bu hastalarda hipertansiyonun sıklığı normal popülasyondan farklılık göstermez. PSAGN'nin uzun zamanda prognozu iyidir. Histolojik düzelmede gözlenir. Takip edilen hastalarda idrar analizi ancak C3 seviyesi normale dönünce düzelmeye gösterir. Hastalarda ekstrakapiller kresentik formasyon gelişirse, kronik renal yetmezliğe gidiş kaçınılmazdır.

2.6. ANJİOTENSİN KONVERTİNG ENZİM GEN POLİMORFİZMİ

Renin–Anjiotensin sistemi, kan basıncı ve elektrolit metabolizmasıyla ilişkilidir. Bu olaylarda primer hormon, anjiotensinojenden elde edilen bir oktapeptid olan anjiotensin II'dir. Karaciğerde yapılan bir alfa 2 globulin olan anjiotensinojen, renal afferent arteriyolün jukstaglomerüler hücrelerinde üretilen bir enzimin, reninin substratıdır. Bu hücrelerin konumu, onları özellikle kan basıncı değişikliklerine duyarlı kılar ve renin salınımıyla ilgili fizyolojik regülatörlerin pek çoğu renal baroreseptörler yolu ile etkili olurlar (Şekil1).

Şekil 1

Renin anjiotensin sistemi sentez şeması



Jukstaglomerüler hücreler renal tubuler sıvıdaki sodyum ve klor konsantrasyon değişikliklerine de hassastırlar; bundan dolayı sıvı volümünü veya NaCl konsantrasyonunu azaltan faktörlerin herhangi bir kombinasyonu renin salınımını uyarır. Jukstaglomerüler hücrelerde sonlanan renal sempatik sinirler; renin salınımı üzerine olan santral sinir sistemi etkilerine ve postural etkilere, beta adrenerjik reseptörleri kapsayan bir mekanizma ile baro-reseptör ve tuz etkilerinden bağımsız olarak aracı olurlar.

Renin, anjiotensinojen substrata etki ile anjiotensin I dekapeptidini oluşturur. Karaciğerde anjiotensinojenin sentezi glukokortikoidler ve östrojen tarafından artırılır. Akciğer, endotel

hücrelerinde ve plazmada bulunan bir glikoprotein olan anjiotensin konverting enzim, anjiotensin II oluşturmak için, hız sınırlayıcı basamaktır. Konverting enzim tesirli bir vazodilatatör olan bradikininini de yıkıma uğratar. Böylelikle kan basıncını iki belirgin yolla artırır (31).

Anjiotensin II kan basıncını arterioller vazokonstriksiyona neden olarak arttıran çok güçlü bir vazoaktif maddedir. Jukstaglomerüler hücrelerden renin açığa çıkışını engeller ve aldosteron üretiminin güçlü bir uyarıcısıdır. Anjiotensin II adrenal bezi direkt uyarmakla beraber kortizol üretiminde tesirsizdir. Anjiotensin II glomerüler sirkülasyonu sınırlamaz ve ciddi çalışmalar göstermiştir ki; proksimal tubulusda su ve sodyum emiliminde de rol oynamaktadır (2). Mezangial hücrelerde anjiotensin II reseptörleri bulunur. Anjiotensin II, bu reseptörlere bağlanarak mesangial hücrelerde ve afferent-efferent arteriollerde konstriksiyona neden olur (30). Anjiotensin II, tip 4 kollajenin transkripsiyonunu stimüle eder. Vazoaktif bir peptid olan anjiotensin II'nin böbrekteki fonksiyonlarının dışında büyümenin stimülasyonu, fibrogenezin uyarılması ve immünomodulasyon ile irreversibl renal hasar yaparak progresif kronik renal yetmezliğe yol açar (Şekil 2). Renal hasardan sonra böbreğin tekrar modellenmesinde de anjiotensin II rol oynar (49). Anjiotensin II renal hücrelerdeki bir faktörü uyararak parakrin ve otokrin bezlerin yakınındaki hücreleri aktive ederek lokal sitokin ve büyüme faktör salınımına neden olur (Şekil 3). Anjiotensin II'nin uyarmasıyla böbrek interstisyel fibroblastları, mesangial ve düz kas hücrelerinde interstisyel tipte kollajen ve fibronektin sentezi görülmüştür (30). Anjiotensin II damardaki düz kas hücrelerine ve fibroblastlara büyüme faktörü gibi etki göstermektedir. Mezangial hücre proliferasyonu sonucu atrial natiüretik peptid ve nitrik oksit sentetaz prekürsörleri inhibe olmaktadır. Anjiotensin II renomedüller, interstisyel ve glomerüler endotel hücrelerinde proliferasyon ile bağlantılıdır. Son dönem böbrek hastalıklarında; irreversibl glomerüloskleroz ve tubulointerstisyel fibrozis gelişir. Böyle bir hastada sistemik ve glomerüler hipertansiyon, proteinüri, asidoz izlenir. Dolaşımdaki monositlerin ortama çekilmesi ve ekstrasellüler matriks proteinlerinin stimülasyonu da gerçekleşir. Proksimal tubuluslarda ve mezangial hücrelerde ekstrasellüler matriks artışı da olur. Son zamanlardaki çalışmalar transforming büyüme faktörü beta-1, trombosit kaynaklı büyüme faktörü, ana fibroblastik büyüme faktörü gibi otokrin büyüme faktörlerinin, düz kas hücrelerinin üretiminin, Anjiotensin II ile uyarıldığını göstermiştir. Otokrin büyüme faktörleri, fibroblast proliferasyonunu parakrin mekanizma ile de etkileyebilir. Bazı

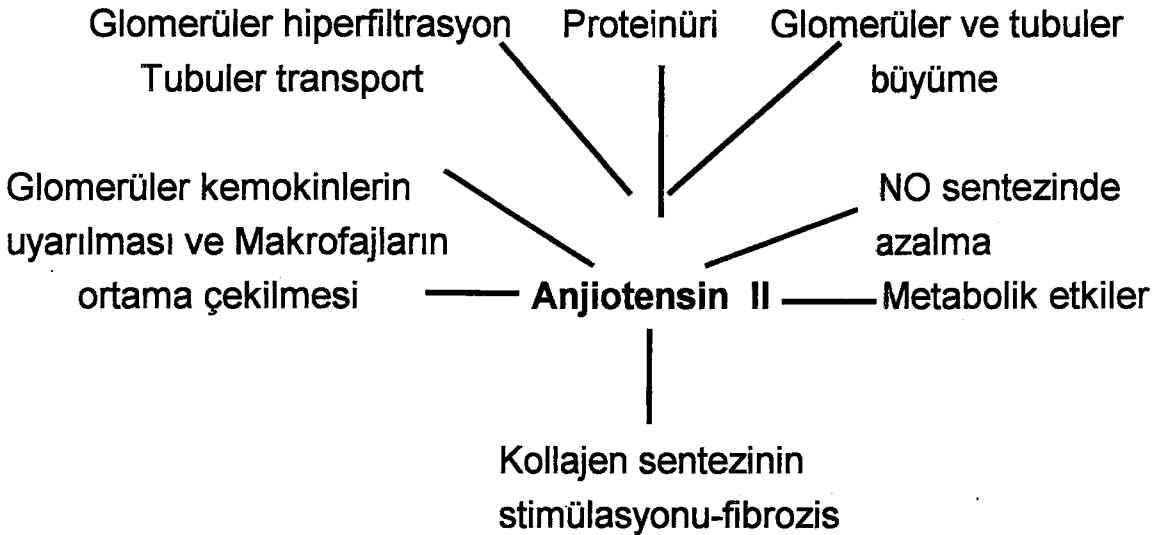
türlerde anjiotensin II, aldosteron üretiminin eşdeğer güçte bir stimülatörü olan anjiotensin III'e dönüşebilir.

RAS'ın aşırı aktive olmasıyla hipertansiyon ve glomerüloskleroz oluşmaktadır. Bu yüzden ACE inhibitörlerinin yanısıra artık anjiotensin reseptör antagonistleri ve renin inhibitörleri de tedavide kullanılmaktadır. Böbrek içi anjiotensin II üretiminin; anjiotensin I'in böbreğe yollanmasından bağımsız olduğu gösterildi. Son zamanlarda kandaki anjiotensin II düzeyi ile böbrek içi anjiotensin II üretimi ve ACE aktivitesi arasında doğru orantılı bir ilişki gösterdiği açıklanmıştır. Akut volüm artışı ve ACE inhibitörü enalapril ile proksimal tubulün perfüzyonu, intratubuler anjiotensin II konsantrasyonunun ve sekresyonunun azalmasına neden olmamaktadır. Tüm böbrekteki toplam anjiotensin II değerleri ise diyetdeki tuz alımı ve oral ACE inhibitörü verilmesinden etkilenmektedir. ACE inhibitörlerinin alınması ve tuz yüklemesi ve renin antiserumu glomerülde anjiotensin II üretimini azaltmaktadır (4).

Anjiotensin II proksimal tubulde reabsorbsiyonu artırırken aynı zamanda tubuloglomerüler geri tepkiyi de arttırmaktadır. Anjiotensin II'nin artması, hipertansiyonun oluşmasının temelini teşkil etmektedir. ACE inhibitörleri hem proksimal tubuler reabsorbsiyonu azaltıp, hem de tubuloglomerüler geri tepkiyi dindirmekte, GFR'de ise azalmaya neden olmamaktadır. ACE inhibitörlerine ilişkin çalışmalarda; bu maddelerin hipertansif hastalarda kan basıncını düşürdüğü, renal kan akımını ve sodyum atılımını normal insanlarda arttırdığı ve böbrek hastalığı olan insanlarda proteinüriyi azalttığı gösterilmiştir.

Şekil 2

Glomerülosklerozis ve tubulointerstisyel fibrozis nedenleri



Şekil 3

Anjiotensin II tarafından indüklenen sitokin ve büyüme faktörleri

Faktör	Hücre tipi
Endotelin I	Mezangial hücre Glomerüler endotel hücresi
İnterlökin 6	Mezangial hücre
MCP I	Mezangial hücre
PAF	Mezangial hücre
PA-1	Mezangial hücre
PDGF	Mezangial hücre
RANTES	Glomerüler endotel hücresi
TGF- β	Proksimal tubulüs hücreleri Mezangial hücreler

2.6.1. ACE GEN POLİMORFİZMİ VE RENAL OLGULARLA İLİŞKİSİ

ACE geni 17. kromozomda (17q23) yerleşmiştir ve 16. intronda 287 bp alu tekrar bölgesinde insersiyon/delesyon (I/D) polimorfizmi göstermektedir (41).

RAS 'a ait genlerin böbrek hastalığı ile ilişkisi araştırılmakta, ancak çelişkili sonuçlar alınmaktadır. Böbrek hastalığı ACE geni DD homozigotlarında daha hızlı ilerlemekte ise de bağlantılar henüz çözülememiştir (18,41).

2.6.1.1. DİABETİK NEFROPATİ VE ACE GEN POLİMORFİZMİ

Otuz yıldır tip I diabeti olan hastalardan, DD genotipine sahip olanlarda mikroalbuminüri ve ilerlemiş diabetik nefropati prevalansının daha yüksek olduğu çalışmalarla gösterilmiştir (19). DD genotipli Tip II diabetik hastalarda albumin atılımının ID ya da II genotiplere göre daha fazla olduğu açıklanmıştır (19). Diabetik DD genotipli hastalarda böbrek hastalığının çabuk ilerlediği gözlemlenmiştir (28). ACE inhibitörü kullanan hastalarda tansiyon düzenlenmesinin genotipler arasında benzer olduğu; ancak DD genotipinde GFR'deki azalmanın daha hızlı olduğu rapor edilmiştir (19). İnsüline bağlı diabetik nefropatisi ve hipertansiyonu olan hastalarda yapılan çalışmalarda, her üç genotipte de ACE inhibisyonuyla albuminüri ve bozulan böbrek fonksiyonlarında belirgin bir düzelleme sağlandığı bildirilmiştir (17). Hem tip I hem de tip II diabette üriner albumin atılım oranının, ACE I/D polimorfizmi ile orantılı olduğu

belirtmiştir (47). D alleli, tip I diabet hastalarından nefropatisi olmayanlarda, hastalığın süresi ile de ilişkili bulunmuştur (47). DD homozigotlarında diabetik nefropatinin daha hızlı ilerlediği bildirilmiştir (38). Bu allelin hem hastalık riskini hem de hastalığın ilerlemesini kolaylaştırdığı konusunda görüşler vardır. 1990'da yapılan bir çalışmada Tip II diabetli DD genotipli hastaların daha fazla albumin ekskresyon hızına sahip olduğu gösterilmiştir. Bu da nefropatinin progres ve ciddiyetinin anlaşılmasında, polimorfizmin potansiyel rolünü açıklayan bir örnek olarak kabul edilebilir. DD genotipli hastalarda daha inatçı mikroalbuminüri görülmektedir. Bu polimorfizm diabetik nefropatinin progres hızını ya da ACE inhibitörüyle yapılacak tedavinin hızını etkilemektedir. Yapılan çalışmalarda DD genotipli homozigot bireylerde glomerüler filtrasyon hızı daha çabuk düşmekle beraber, ACE inhibisyon tedavisiyle albuminürideki azalma da en iyi bu genotipde izlenmektedir. Fransa ve Belçika'da 17 merkezde 444 Tip I diabetik hasta üzerinde yapılan bir çalışmada ise böbrek tutulumunun ağırlığının ID polimorfizmiyle ilişkili olduğu bulunmuştur (26). Tip I ve Tip II diabetli hastalarda yapılan bir çalışmada ise ACE II genotipi ile böbrek hastalığı riskinin daha az olduğu, DD genotipi ile diabetik nefropati arasında ise ilişki olduğu gözlenmiştir (26,33). Tip I diabetik hastaların genotipine göre ACE inhibitörleri kullanılabilir. Bir çalışmada bu tedaviyle böbreğin korunduğu bildirilmiştir. Tüm buraya kadar anlatılanlar ACE gen polimorfizmi ile diabetik nefropatinin ilişkili olduğunu göstermektedir. Bunların aksine; 286 Tip II diabetik hasta üzerinde yapılan bir çalışmada, diabetik nefropati ile I/D polimorfizminin ilişkili olmadığı bildirilmiştir. Tip II diabette DD genotipinin, II genotipine göre nefropati açısından daha riskli olmadığı gösterilmiştir.

2.6.1.2. IGA NEFROPATİSİ VE ACE GEN POLİMORFİZMİ

Japonya'da yapılan iki çalışmada; IgA glomerülo nefritli hastalarda ACE inhibitörlerine karşı oluşan antiproteinürik cevabın, DD genotipinde daha iyi olduğu gösterilmiştir (41). D alleli taşıyıcılarında GFR'de azalma, biyopside kötüleşme gözlemlenmiştir (18). Sonraki çalışmalar da bu bulguları desteklemiştir. IgA glomerülo nefritli ve stabil renal fonksiyonları olan hastalarla, son dönem renal yetmezliğe ulaşan hastalar üzerinde ACE gen polimorfizmini inceleyen bir çalışmada ise; renal yetmezliği olan hastaların, stabil renal fonksiyonlu hastalara nazaran daha sık DD genotipi taşıdığı gösterilmiştir (18,46,50). Diğer bir çalışmada ise renal fonksiyonların progresif bozulmasıyla ACE I/D polimorfizmi bağlantılı bulunmuştur (16). IgA glomerülo nefritli hastalarda; anjiyotensinogen (AGT)-M235T

polimorfizmi, ACE gen polimorfizmi ve anjiotensin II tip I reseptör polimorfizminin progresyon ve proteinüri ile olan ilişkisi birçok araştırmacı tarafından gözlemlenmiştir. Tek başına ne anjiotensin II'nin ne de ACE gen polimorfizminin; progresyon ve proteinüri ile ilişkisi olmadığı gösterilmiştir. Fakat DD genotiplilerden sadece AGT-MM genotipini de içerenlerde prognoz daha kötü seyrettiği gözlenmiştir. Buna göre anjiotensinojen ve ACE gen lokuslarının; IgA glomerülonefritli hastalarda kronik renal yetmezliğe gidişi gösteren önemli tanı koydurucu etkiye sahip işaretleyiciler olduğu açıklanmıştır (39). Patoloji bulgularıyla doğrulanan IgA glomerülonefritli hastalardan; normal kreatinini olan grup ile kreatinin değerinde artışı olan grup karşılaştırıldığı zaman kreatinin düzeyinde artış yaşayanlarda DD genotipi daha fazla gözlemlenmiştir. Ayrıca DD genotipli hastalarda nefropatiye ait bulgular daha genç yaşlarda ortaya çıkmaktadır (15,26). Boston'da yapılan bir çalışmada, IgA nefropatili hastalardan DD genotiplilerde ACE plazma konsantrasyonlarının arttığı, bunun lokal ve sistemik anjiotensin II'yi arttırdığı bildirilmiştir (15). Anjiotensin II, glomerül içi basıncı arttırmakta, hücre hipertrofisini ve matriks üretimini böylece fazılaştırmaktadır. ACE değişik mekanizmalarla hastalığın ilerlemesine de neden olmaktadır. ACE'nin kinaz aktivitesi nedeniyle bradikinin yıkılması artar. Bradikinin endotel kaynaklı nitrik oksit (NO), önemli bir teşvikçisidir. NO, lökositlerin ve trombositlerin damar endotelyumuna yapışmasını ve düz kas hücre proliferasyonunu engellemektedir. Tüm bunlar, özellikle lökositin endotele yapışması; glomerüler enflamasyonu ve glomerüloskleroza oluşturmaktadır. DD genotiplerinde bu yüzden sadece anjiotensin II artmasına değil, bradikinin ve endotel kaynaklı NO azalmasına da bağlı olarak hücresel yapışıklık ve proliferasyon artmaktadır. DD genotipli IgA glomerülonefritli hastalarda; hastalığın hızı ve hastalık seyrinin ağırlığı daha fazla bulunmuştur (15,33,42). Bunların aksini gösteren çalışmalar da vardır. Hollanda'da yapılan bir çalışmada; IgA glomerülonefritli hastalarda ACE inhibitörlerine, 4-12 haftalık tedavi sonucu cevap; her üç genotipte de aynı bulunmuştur. Avusturya'da yapılan bir çalışmada ise; 6 haftalık ACE inhibisyon tedavisine II ve ID genotiplerinde, DD'ye göre daha iyi antiproteinürik yanıt alınmıştır (51). Transplante olmuş IgA glomerülonefritli hastalarda; I/D polimorfizminin transplant yaşamıyla ilişkili olmadığını gösteren bir çalışma da vardır (37). Yapılan bir çalışmada IgA glomerülonefritli hastalarda I/D allel sıklığında önemli bir fark görülmediği açıklanmıştır (18).

2.6.1.3. GLOMERÜLER HASTALIKLAR VE ACE GEN POLİMORFİZMİ

Fokal segmental glomerüloskleroz (FGS)'lu Arap ve Yahudi çocuklarında yapılan bir çalışmada; II genotipli hastalarda, hastalığın bariz olarak yavaş ilerlediği ve II genotipinin koruyucu bir gösterge olduğu; DD alelinin ise hastalığın kötü sonuçlanmasıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (11).

Minimal değişiklik hastalığı ile FGS'lu hastalar karşılaştırıldığında; DD genotipi insidansı FGS'lu hastalarda daha yüksek bulunduğu rapor edilmiştir. Ayrıca DD genotipli FGS'lu hastalarda klinik semptomlar daha erken yaşta ortaya çıkma eğilimi göstermektedir. Yine bu hastaların kortikosteroid tedaviye daha az oranda cevap verdikleri ve diğer genotiplerden farklı olarak kronik renal yetmezliğe gidiş insidansının daha yüksek olduğu gösterilmiştir (23). Bu da FGS'lu hastalarda ACE inhibitörlerinin kullanımının proteinüriyi azaltacağı ve renal yetmezliğe gidişi önleyeceği düşüncesinin doğmasına neden olmuştur.

Glomerülo nefritlerde (IgA glomerülo nefritli 70, membranöz glomerülo nefritli 23, FGS'lu 17 ve MPGN'li 6 hastada) yapılan başka bir çalışmada ise, endotelial NO sentezi ve ACE gen polimorfizminin, glomerülo nefritlerin tanı ve prognozunda belirleyici olmadıkları gösterilmiştir (6).

Otozomal dominant geçişli polikistik böbrek hastalığı olan hastalarda; DD genotipine sahip olanlarda, hipertansiyon gelişmesi ve son dönem renal yetmezliğe gidiş diğer genotiplere göre daha genç yaşlarda ortaya çıkmaktadır (1,8,18,48).

Reflü nefropatisi, skar dokusu oluşmasıyla böbrek yetmezliğine götüren bir patoloji oluşturur. DD genotipiyle vezikoureteral reflü hastalarda renal prognozunu ilişkilisini inceleyen çalışmada; DD genotipi hipertansiyon, kan kreatinin düzeyinin fazlalığı ya da proteinüriyle ilişkili bulunmazken, skar dokusu gelişme riskini 9 kat arttığı bildirilmiştir (36).

Konjenital ürolojik anomalisi olan 70 çocukta böbrek prognozu ile ACE genotipi arasındaki ilişki araştırılmıştır. Böbrek bozukluğu; renal parankimal hasarın radyografik olarak gösterilmesi ve kreatinin değerinin yüksekliği olarak kabul edilmiştir. DD genotipi olan vakalarda, renal parankimal hasarın daha fazla olduğu gözlemlenmiştir (5).

Renal stenozu olan vakalarda yapılan bir çalışmada; renal arter stenozu grubunda, kontrol grubuna göre D allel sıklığı anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (29).

176 hemodiyaliz hastası üzerinde yapılan bir çalışmada; hastaların kontrol grubuna göre allel sıklıkları arasında benzerliklerin var olduğu gösterilmiştir. DD genotipli hastalarda diyaliz öncesi BUN değeri yüksek, HDL ve kolesterol değeri düşük bulunmuştur. ACE gen polimorfizmi, lipid ve üre metabolizmasındaki değişikliklerle ilişkili olduğundan hemodiyaliz hastalarında genotiple ilgili olarak hayati komplikasyonlar artabilir (34). Diyalize giren hastalarda D allelinin çok daha fazla baskın olduğu gözlemlenmiştir (18).

Kronik renal hastalığı olan insanlardan; DD genotipine sahip olanlarda, kronik renal yetmezlik gelişme riskinin daha fazla olduğu rapor edilmiştir (20,50).

Transplantasyondan 12 ay sonra graftı yaşayan 119 çocuk hastada yapılan bir çalışmada; DD genotipli çocuklarda uzun dönemde graft yaşamının kötü etkilendiği görülmüştür. Bu genotipin olası rolü, immünolojik olmayan hasarların ilerlemesiyle, kronik böbrek graft yetersizliğine yol açmasıdır (2). Transplante böbrekte bile RAS'ın kronik doku hasarını arttırdığını bildiren çalışmalar vardır. Renal, kardiyak, aortik allograftlarda RAS'ın immün kaynaklı lezyonlarda kofaktör rolü oynadığı, farelerde ACE inhibisyonu sonrası düzelme olmamasıyla gösterilmiştir. Böbrek hastalarında nakil sonrası kullanılan immünsupresif ilaç siklosporin, RAS'ı aktive edebilmekte ve RAS'ın grafta karşı olabilecek yan etkilerini arttırabilmektedir. Bu etkilerin içinde anjiotensin II yönetimli sentezlenen, trombosit kaynaklı büyüme faktörü ve transforming büyüme faktörü β -1'de sayılabilir. Yetişkinler üzerinde yapılan bir çalışmada ise ACE genotipinin graft yaşamına önemli bir etkisi olmadığı gösterilmiştir. Bunun nedeni şöyle açıklanmaktadır. Çocuklarda immün allo tepkisellik daha fazladır. İmmün baskılanma fazla olunca, immün olmayan (RAS gibi) etkenlerin önemi artmaktadır. Ayrıca çocuklarda plazma renin aktivitesi erişkinlerden daha fazladır. Bu nedenlerle pediatrik böbrek alıcılarında immün olmayan hasarlar, graftta; ateroskleroz, fibroz ve dokunun yeniden modellenmesine, daha fazla neden olmaktadır.

Sadece erkeklerde yapılan bir çalışmada; ACE geni yerleşiminin, kan basıncıyla, özellikle diastolik kan basıncıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca D allelinin erkeklerde hipertansiyon riskiyle ilişkili olduğu açıklanmıştır. Gençlerde yapılan bir çalışmada ACE gen lokusunun tansiyon ve diastolik kan basıncıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Buna rağmen yapılan birkaç çalışmada ise ACE genotipinin kan basıncı ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir (37).

2.6.2. ACE GENOTİPİ VE TEDAVİYE CEVAP

Serum ve doku ACE'sinin ve anjiyotensin I'in dönüşümünün DD homozigotlarında artmış olması, bu hastaların ACE inhibitörlerinden faydalanabileceğini düşündürmektedir(33). DD homozigotlarında, ACE inhibitörleriyle kan basıncındaki düşmenin; II ve ID genotipleriyle benzerlik gösterebileceği veya azalabileceği açıklanmıştır. DD genotipinde proteinürinin ACE inhibitörleriyle azaldığı bildirilmiştir (41). Japonya'da yapılan bir çalışmada; herhangi bir nedene bağlı proteinüride; I allelinin, ACE inhibitörlerinin antiproteinürik etkisinde azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. DD homozigotlu hastaların II homozigotlulara göre daha hızlı GFR azalması gösterdiği bildirmiştir (18). Avrupa'da yapılan çalışmalarda diabetik ve diabetik olmayan hastalarda ACE inhibitörlerine antiproteinürik cevabın, II ve ID genotiplerinde, DD'ye benzer yada daha iyi olduğu gösterilmiştir. Uzun dönemli çalışmalarda; diabetik olmayan hastalarda beta bloker yada ACE inhibitörleriyle; diabetik hastalarda ise ACE inhibitörleriyle tansiyon kontrolüne rağmen; DD genotipinde böbrek hastalığının daha hızlı ilerlediği gözlenmiştir. Yani DD homozigotlu hastalarda uzun dönemde tedavi ile böbreği korumanın daha zor olduğu açıklanmıştır. D alleli normal kişilerde de baskılanabilir ve risk oluşturması için diğer risk faktörleri (genetik ve çevresel) olması gerekir. Böbrek hasarı oluşuktan sonra ACE genotipi böbrek hastalığının ilerlemesini genetik olarak etkileyen bir rol üstlenir. DD genotipinin hastalığın ilerlemesini kolaylaştırdığını mı yoksa ilerleyen hastalığın bir göstergesi mi olduğu henüz kesinlik kazanmamıştır. İlk böbrek hasarının nedeni önemsenmezse ve RAS yolunun hastalığın ilerlemesine etkisi varsa, ACE genotipi RAS'ın alışılmış yolunu etkileyerek hastalığı ilerletiyor olabilir. Bu hipotez geçerli ise kalp ve böbrek hastalıklarında genotipe bağlı riskin neden arttığı açıklanabilir.

Diabetik olmayan böbrek hastalarında böbrek yetersizliğinin ilerlemesini önlemek için Atenolol ve Enalapril'in kullanıldığı çalışmalar yapıldı. Her iki ilacın GFR hızının azalmasına karşı etkisiz olduğu ve DD genotipli hastalarda proteinüriyi azaltmadığı gösterilmiştir. Bu çalışma DD genotipli hastalarda alışılmış böbrek koruyucu tedavinin işe yaramadığını göstermektedir (10). ACE geninin I/D polimorfizminin, doku ACE konsantrasyonlarını belirlediği dikkate alınmıştır. DD homozigotlarıyla ACE aktivitesi en yüksek, II homozigotlarıyla en düşük olmaktadır. Japonya'da yapılan iki çalışmada; ACE inhibitörlerinin DD genotipli hastalarda proteinüriyi azalttığı, II genotiplilerde ise antiproteinürik yanıtın az olduğu

gösterilmektedir (12,20). Bu konuyla ilgili 27 sağlıklı insanda yapılan diğer bir çalışmada (bunların 7 tanesi DD, 10 tanesi ID, 10 tanesi de II genotipi) kaptopril 50 mg. oral verilmesi sonucu; DD genotipli hastalarda efektif renal plazma akımının arttığı ve renal vasküler rezistansın azalmasının diğer genotiplere göre daha iyi olduğu gözlemlenmiştir (30). Yapılan başka bir çalışmada proteinürik hastalarda ACE inhibisyonuna, kısa dönemde verilen cevabın, ACE gen polimorfizmiyle ilişkisi olmadığı gösterilmiştir (22,33).

2.6.3. KORONER ARTER HASTALIĞI VE ACE GEN POLİMORFİZMİ

ACE geninin DD genotipinin koroner arter hastalığının altta yatan etyolojik mutasyonunun göstergesi olduğu; daha önce klasik risk faktörleriyle belirlenemeyen koroner arter hastalığı geliştirme riskinin genel erkek toplumda az da olsa bu ilişkiyle önceden görüleceği bildirilmiştir (27). Yapılan diğer bir çalışmada ise ACE genotipinin iskemik kalp hastalığı ya da miyokard enfarktüsü ile ilişkili olmadığı açıklanmıştır. Kafkas ırkında yapılan bir çalışmada miyokard enfarktüs riski düşük hastalarda, DD genotipinin miyokard enfarktüsü için bağımsız bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir (7). Japonlar, ACE'nin DD genotipini taşıyan bireylerde, koroner arter hastalığı riskinin arttığını bildirmişlerdir (24,32). Diğer bir çalışma; ACE gen polimorfizminin miyokard enfarktüsü ile ilişkili olmasına rağmen, koroner arterde stenoz gelişmesiyle direkt ilişkili olmadığını bildirmiştir (25). Almanya'da DD genotipi olan hastalarda sol ventrikül hipertrofisi gelişme riskinin yüksek olduğunu saptayan çalışmalar mevcuttur (43). ACE I/D polimorfizmi; sol ventrikül hipertrofisi ve kardiyomyopati gelişmesi açısından risk faktörüdür. Özellikle DD genotipinde hücrel ACE aktivasyonu sonucu myokardiyal fibrozis meydana gelir. Bu fibrozisin atriumlarda gelişmesi sonucu hastalarda atrial fibrilasyon gözlenir.

ACE DD genotipinin; idiyopatik dilate kardiyomyopati hastalarda sol ventrikül sistolik performansındaki azalmayla ve sol ventrikül boşluğunun giderek artmasıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Hipertrofik kardiyomyopatide, DD genotipinin hipertrofinin artmasıyla ilişkili olduğu ve bu hastalığa bağlı ani ölümlerin bu genotipte daha fazla olduğu yapılan bir çalışmayla bildirilmiştir.

Heterozigot familial kolesterollemi ve familial defektif apolipoprotein B100 hastalarında DD genotipi; erken yaşlarda miyokard infarktüsü ve koroner arter hastalığı gelişmesi açısından risk faktörüdür.

Perkütanöz transluminal koroner anjioplasti yapılan hastalardan, DD genotipli olanlarda restenoz riskinin daha fazla olduğu gösterilmiştir.

Konjestif kalp yetmezliğinde, DD genotipinin mortalite riskinin yüksekliğiyle ilişkili olduğu yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır.

2.6.4. ACE GENOTİPİNİN DİĞER HASTALIKLARLA İLİŞKİSİ

ACE, anjiotensinojen ve endotelinin gen polimorfizmlerinin; atopik hastalıkların etyopatogenezinde rol oynadığı yapılan çalışmalarla ispatlanmıştır. ACE; bradikinin, substans P ve nörokinin A üzerine inaktive edici etki gösterir. Bunun da astım patogenezinde rol oynadığına inanılmaktadır. Özellikle de nörolojik inflamasyondan sorumlu olduğu düşünülmektedir. Astımlı hastalarda yapılan bir çalışmada; ACE gen polimorfizminin her üç genotipi arasında bir farklılığa rastlanmamıştır. Sağlıklı kontrol grubu ile astımlı hasta grubu arasında da genotipler açısından farklılık gösterilememiştir. Bunun sonucunda astım ile ACE genotipi arasında bir ilişki olmadığı açıklanmıştır. Yapılan başka bir çalışmada ise; DD genotipinin havayolu obstruksiyonunun derecesiyle bağlantılı olmadığı gösterilmiştir. Astımlı hastalardaki öksürük semptomunun tedavisinde ACE inhibitörlerinin kullanılmasıyla ilgili bir çalışmada; tedaviye en iyi yanıt II genotipinde alındığı rapor edilmiştir.

Anjioödem, patogenezinde immünolojik mediyatörler; bradikinin, histamin, substans P vb. rol oynar. Bu nedenle ACE inhibitörleri anjioödem hem akut hem de takip tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır.

Henoch Schönlein Vaskülitli olan hastalarda yapılan bir çalışmada; ACE DD genotipini taşıyan vakalarda persistan proteinüri miktarı diğer genotiplere göre beş kat daha fazla bulunmuştur. Yapılan diğer bir çalışmada ise, renal fonksiyonlardaki progresif kötüleşmede, ACE I/D polimorfizminin rolü olmadığı gösterilmiştir (52).

Lupus nefritinde; II genotipli hastalarda, DD genotiplilere göre hastalığın daha fazla aktivasyon gösterdiği, buna göre lupus nefritinin aktivasyonunun ACE geninin insersiyon polimorfizmiyle korelasyon gösterdiği bildirilmiştir.

ACE, bradikinin ve takikininleri inaktive ederek güçlü bir bronkokonstriksiyona ve inflamatuvar reaksiyona neden olmaktadır. Sarkoidozlu hastalarda II genotiplilerde bronşiyal cevabın diğer genotiplere göre daha iyi olduğu gösterilmiştir. DD genotipinin ise sarkoidoz için predispoze faktör olduğu bildirilmiştir. Ayrıca ACE I/D polimorfizminin sarkoidozun prognozunu belirlemede ve sarkoidoz

riskini göstermede karar verdirici olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir.

Kawasaki hastalığında yapılan bir çalışmada; II genotipi olan vakalarda koroner anevrizma gelişme riskinin daha fazla olabileceği rapor edilmiştir.

Hipertansif hastalarda, DD genotipinde hipertansif nefropati gelişme olasılığının daha fazla olduğu bildirilmektedir. Esansiyel hipertansiyonlu hastalardan; DD genotipli hastalarda mikroalbuminüri, retinopati, sol ventrikül hipertrofisi gibi hedef organ hasarı gelişme riski diğer genotiplere göre daha fazladır (44,45). Bu hastalarda sol ventrikül hipertrofisini tedavi etmek için kullanılan enalapril ile alınan yanıt DD genotipli hastalara oranla daha az olduğu gösterilmiştir. Ayrıca DD genotipli hastalarda, renal komplikasyonların gelişme riskinin daha fazla olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (35).

ACE gen polimorfizminin serebrovasküler hastalıklarda yeni ve güçlü bir risk faktörü olduğu bilinmektedir. İntrakranial sakkuler anevrizma gelişme etiolojisinde de ACE I/D polimorfizminin rolü vardır. Yapılan çok sayıdaki çalışmada; ACE I/D polimorfizminin, hipertansiyonu olmayan hastalarda stroke gelişiminde risk faktörü olmadığı gösterilmiştir. DD genotipli bir kısım hipertansif hastada ise komplike beyin infarktusünün, sağlıklı kontrol grubuna göre daha fazla olduğu gösterilmiştir. Serebral arteriyoskleroz gelişiminin ve akut serebral infarkta erken ölüm riskinin DD genotipinde daha fazla olduğunu gösteren çalışmalar yapılmıştır. DD genotipi, normotansif hastalarda stroke gelişimi için bir risk faktörü değilken; hipertansif hastalar için bir risk faktörüdür.

Tip 2 diabetli ve sağlıklı kişilerde; ultrasound ile femoral ve karotid arter intima-media tabakalarının kalınlığının ölçüldüğü ve bu hastalarda Apo E ve ACE gen polimorfizminin incelendiği çalışmalarda; Apo E polimorfizmi ile femoral ve karotid arter intima-media tabakası kalınlaşması arasında bağlantı yokken; tip2 diabetli hastalarda DD genotipi ile ilişki saptanmıştır. Ancak sağlıklı kontrol grubuyla bir ilişki tesbit edilememiştir.

ACE I/D polimorfizmi diabetik nefropati açısından bir risk faktörüken; diabetik retinopatiyle ilişkisi saptanamamıştır.

3. MATERYAL ve METOD

3.1. SEÇİLEN ÖRNEKLERİN TANIMI

Çalışmaya, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Nefrolojisi polikliniğinden izlenen 25 PSAGN'li ve 25 MPGN'li hasta alındı. Genel Pediatri polikliniğine başvuran 25 olgu kontrol grubunu oluşturdu.

Onaltı erkek, dokuz kız hastadan oluşan PSAGN grubundaki olguların yaşları 2.5-13 yaş arasında idi (7.64 ± 2.58). Hastalara, akut başlayan bifissür ve pretibial ödem, makroskobik veya mikroskobik hematüri, geçirilmiş üst solunum yolu enfeksiyonu veya piyodermi öyküsü, oligüri, ASO titresinin > 240 Todd ünitesi olması, C3 düzeyinin < 50 mg/dl olması, proteinüri varlığı, arteriyel kan basıncının geçici yükselmesi, geçirilmiş böbrek hastalığı öyküsü olmaması kriterleri ile PSAGN tanısı konulmuştu. Hastalara ait bilgiler ek 1,3,5'de özetlenmiştir.

Onsekiz erkek, yedi kız hastadan oluşan MPGN grubundaki olguların yaşları 3-16 yaş arasında idi (11 ± 3.1). Hastalara, ödem, makroskobik veya mikroskobik hematüri, proteinüri, hipertansiyon, C3 düzeyinin düşük persiste etmesi, hipoalbuminemi, böbrek fonksiyonlarında bozulma nedenleri ile böbrek biyopsisi yapılmış ve histopatolojik olarak Tip 1 MPGN saptanmıştı. Hastalara ait bilgiler ek 2,4,6'da özetlenmiştir.

PSAGN ve MPGN gruplarında, ilk geliş yakınma, klinik ve laboratuvar sonuçları karşılaştırıldı.

Onsekiz erkek, yedi kızdan oluşan kontrol grubundaki olguların yaşları 4-16 yaş arasında idi (11.2 ± 2.5). Olguların hiçbirinin kronik hastalığı yoktu ve böbrek fonksiyon testleri ve idrar tahlilleri normaldi. Kontrol grubuna ait bilgiler ek 7'de özetlenmiştir.

Çalışma grubuna alınan tüm olguların ailelerinden gerekli izin alındıktan sonra, anamnez ve laboratuvar bilgileri kayıt edildi. Hastaların fizik muayeneleri yapıldı. Tam kan sayımı, tam idrar tahlili, C3, C4, serum üre, kreatinin, total protein, albumin düzeyleri saptandı. EDTA'lı tüpe 7-8 cc kan alınarak, İ.Ü. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı'nda ACE gen polimorfizmi araştırıldı.

3.2. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Agaroz (Promega MBG), Amonyum asetat (Sigma A-8920), Amonyum klorür (SigmaA-5666), Asetik asit (Merck K-04134156), Borik asit (Sigma B-6768), Hidroklorik asit (% 37 Merck K-13190114), Brom

fenolmavisi (Sigma896),dNTPseti(MBIfermentas),Dietileter(Merck),EDTA (dihidrat)(Merck K-90602121), Elon(Sigma M-5251,Etanol (%99 Tekel), Etidyum bromür(Sigma E-8751), Hidrojen peroksit%35 Merck K-(22035097),Mineral yağ (Sigma M-5904, Potasyum bikarbonat(Merck K-126223552},Sodyumbisülfid (Sigma S-9631),Sodyum doedasil(lauryl) sulfat(SigmaL5750),Sodyumhidroksit(MerckC754962),Potasyumdihidrojenfosfat(Merck A-741071), Sodyum klorür(Carlo Erba 368257),Sodyum molibdat(Sigma S-6646),Sülfirik asit(Sigma S-1526),Trizma baz(Sigma T-1503),Taq polimeraz(Promega),Metaphor agaroz(FMC 50182), Xylene cyanol(SigmaX-4126),Ficoll400(SigmaF-9378),DNA marker(PBR322Msp Biolabs303-2S; XI74Hae},Proteinaz K (Stratagene300-141),Potasyum hidroksit(Sigma P 1767),Triton X-100(Sigma T9284),Civa klorür(Sigma M 1136),Sodyum azid(Sigma S 2002),Titanyum oksid (Sigma T 8141),Amonyum sülfat (Sigma A 5132), Xylene orange (Sigma X 0127), Izopropanol(Sigma 405-7); ACE gen bölgesi için kullanılan primer dizileri: (5' CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT 3'), (5' GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGA T 3'), (5' TGG GAC CAC AGC GCC CGC CAT TAC 3'), (5' TCG CCA GCC CTC CCA TGC CCA TAA 3') (Prizma)

3.3. KULLANILAN GEREÇLER

Elektroforez için güç kaynağı (Titan plus Helena Laboratories), hassas terazi (Mettler), polaroid kamera (D534 Direct screen instant camera), ısıtıcıli manyetik karıştırıcı (Elektromag), mikrodalga fırın (Philco), mikrosantrifüj (TDX), PCR aleti (MJ Research Techne), pH metre (Hanna), pipet takımı (Brand), falkon santrifüj (Hereaus), spektrofotometre (Shimadzu UV-1208), su banyosu (Elektromag), UV transilluminator (Stratagene UV/White light Transilluminator), Vorteks (Nuve mix), elektroforez Sistemi (LKB 2013 miniphor electrophoresis, LKB 2012 maxiphor electrophoresis).

3.4. ÇÖZELTİLER

DNA izolasyonunda kullanılan çözeltiler:

1) Eritrosit Parçalama Tamponu

8.74 gram amonyum klorür, 1 gram potasyum bikarbonat , 200 mikrolitre 0.5 molarlık etilen diamine tetra asetat (EDTA)'nın tartımları yapılarak erlen içine alındı. 900 mililitre ddH₂O eklendi ve çözeltinin pH'si bir normal sodyum hidroksit çözeltisi ile 7.4'e ayarlandı. Daha sonra balon joje içine alınarak bir litreye tamamlandı. Çözelti ısıya dayanıklı cam şişelere aktarılarak 120°C'de 15 dakika otoklavda sterilize edildikten sonra +4 °C'de saklanmıştır.

2) 0.5 M Disodium Etilen Diamin Tetra Asetat (EDTA) (pH:8.0)

186.1 gram etilen diamin tetra asetat (EDTA) tartılarak beher içine alındı ve 800 ml ddH₂O eklendikten sonra manyetik karıştırıcı yardımıyla çözdürüldü ve pH'si sodyum hidroksid çözeltisi ile 8.0'e ayarlanarak ddH₂O ile 1 litreye tamamlandı. Çözelti 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

3) 4 Molar Sodyum Klorür (NaCl)

233.6 gram sodyum klorür tartılarak erlene alındı. Üzerine 800 mililitre ddH₂O ilave edildikten sonra manyetik karıştırıcı yardımıyla iyice çözüldürüldü. Balon jojeye aktarılarak 1 litreye tamamlandı. Hazırlanan çözelti 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

4) Lökositleri Parçalama Tamponu

25 mililitre 4 molar sodyum klorür ve 50 mililitre 0,5 molar 50 mililitre etilen diamin tetra asetat (EDTA) direkt balon jojeye aktarılarak 1 litreye tamamlandı. Çözelti 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildikten sonra oda ısısında saklandı.

5) 1 Molar Tris tamponu (stok)

121.1 gram Tris baz tartılarak bir behere alındı. Üzerine 42 mikrolitre hidroklorik asit ile yaklaşık 800 mililitre ddH₂O eklenerek manyetik karıştırıcı yardımıyla iyice çözüldürüldü. Daha sonra balon jojeye aktarıldı ve 1 litreye tamamlandı. Çözelti 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildikten sonra kullanılmıştır.

6) 9,5 Molar Amonyum asetat

73.22 gram amonyum asetat tartılarak beher içine alındı. Üzerine 80 mililitre ddH₂O eklenerek manyetik karıştırıcıda çözdürüldü. Balon jojeye aktarıldı ve ddH₂O ile 100 mililitreye tamamlandı. 0.22 mikronluk filtreden geçirilerek sterilize edildi ve +4 °C'de saklandı.

7) %10'luk Sodyum dodesil sülfat (SDS)

10 gr sodyum dodesil sülfat tartıldı. SDS tozlarını kaldırmamaya dikkat ederek beher içine alındı ve üzerine 80 mililitre ddH₂O eklendi. Manyetik karıştırıcı yardımı ile çözdürüldü ve pH'si 7.2'ye ayarlandı. 0.22 mikronluk filtreden geçirilerek sterilize edildi ve oda ısısında saklandı.

8) Proteinaz K (10mg /ml)

20 miligram proteinaz K tartılarak steril bir gode içinde steril ddH₂O ile 1 mililitreye tamamlandı. -20°C'de saklandı.

Agaroz Jel Elektroforezi'nde Kullanılan çözeltiler:

1) Etidyum Bromür(10 mg/ml)

10 gram etidyum bromür tartılarak steril ddH₂O ile 10 mililitreye tamamlandı.

2) Agaroz Jel Yükleme Tamponu (5x)

20 gram Ficoll 400, 1 gram SDS, 0.2 mililitre 0.5 molarlık etilen diamin tetra asetat, 1 mililitre 1 molarlık Tris (pH 8.0), 200 miligram brom fenol blue, 200 miligram xylene cyanol tartılarak steril ddH₂O ile 100 mililitreye tamamlandı. Oda ısısında saklandı.

3) 50x Tris - Asetik asit - Etilen diamin tetra asetat (TAE) Tamponu

242 gram Tris baz tartılarak bir behere alındı. Üzerine 57,1 mililitre glasiyal asetik asit ve 100 ml 0,5 molarlık etilen diamin tetra asetat ve 800 mililitre ddH₂O ilave edilerek manyetik karıştırıcıda çözdürüldü. Balon jöjeye aktarılarak 1 litreye tamamlandı. 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi ve oda ısısında saklandı.

4) 5x Tris-Borik asit Etilen diamin tetra asetat (TBE) Tamponu

54 gram Tris baz ve 27,5 gram borik asit tartılarak beher içine aktarıldı. Üzerine 20 mililitre 0.5 molarlık EDTA (pH'si 8.0) ve 800 ml ddH₂O ilave edilerek manyetik karıştırıcıda çözdürüldü. Çözelti balon jöjeye aktarılarak 1 litreye tamamlandı ve 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi. Hazırlanan çözelti oda ısısında saklandı.

3.5. KULLANILAN YÖNTEMLER

1)Periferik kandan DNA izolasyonu

10 ml periferik kan örneği steril EDTA'li tüplere alındıktan sonra çalışma için falkon tüpüne aktarıldı. Üzerine 1:3 oranında (30ml) eritrosit parçalama çözeltisi eklenerek karıştırıldı ve +4°C'de 15 dakika bekletildi. +4°C'den çıkarılan örneklerin 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatant kısımları atıldı ve pelletleri tamamen süspanse edilerek, üzerlerine tekrar 15-20 ml eritrosit parçalama çözeltisi eklendi. Örnekler +4°C'de 15 dakika bekletildikten sonra 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatantları atılarak pelletleri süspanse edildi. Süspanse olan pellet üzerine 500 mikrolitre %10'luk SDS 50 mikrolitre proteinaz K (20 mg/ml) ve 9.4 ml lökosit parçalama çözeltisi eklenerek 56°C su banyosunda 1 gece inkübe edildi. Inkübasyon sonrası her 1 ml örnek başına 0.37 ml 9.5 M 'lık amonyum asetat çözeltisi

eklendikten sonra yavaşça karıştırıldı ve 3000 rpm'de 25 dakika santrifüj edilerek proteinler çöktürüldü. Santrifüj sonrası süpernatant kısmi temiz bir falkona aktarılarak üzerine 1:2 oranında %99'luk absolü alkol eklendi ve böylece DNA'nın presipitasyonu sağlandı. Yoğunlaşan DNA'nın alkol yüzeyine çıkması beklendi ve DNA steril bir mikropipet ucuyla alındı. DNA %70'lik alkolde yıkanarak ve korunmak üzere Tris-EDTA çözeltisi içinde çözündürüldü. DNA örnekleri +4°C'de saklandı.

2) DNA Saflık Tayini

DNA örnekleri Tris-EDTA çözeltisi ile 1/100 oranında sulandırıldı. 260 nm'de DNA'nın ve 280 nm'de RNA ve proteinin vermiş olduğu absorbans Tris EDTA çözeltisi ile spektrofotometre sıfırlanarak ölçüldü. 260 nm'de okunan absorbans / 280 nm'de okunan absorbans oranından DNA saflığı saptandı. O.D.200 / O.D.280 oranı 1,7-1,8 olan DNA'lar temiz olarak kabul edildi. Bu oranın altında bir değere sahip olan DNA'lara temizleme işlemi uygulandı.

3) DNA Düzeylerinin Hesaplanması

Çift iplikli DNA'nın 260 nm'de vermiş olduğu 1 absorbans 50 mikrog/ml (50ng/mikrolt)' dir. Bu temel bilgiden faydalanarak DNA formülü aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

DNA Konsantrasyonu (ng/mikrolt) : Sulandırma katsayısı (100) x A₂₈₀ x 50

4) PCR Yöntemiyle DNA'da ACE Gen Bölgesinin çoğaltılması

(Ek 8)

DNA örneklerinden ACE gen bölgesinin çoğaltılması için 50 mikrolt hacminde PCR karışımı hazırlandı. Karışım 31.9 mikrolt ddH₂O , 0.1 ünite Taq polimeraz enzimi ,5 mikrolt Taq Polimeraz enziminin çalışması için gereksinim duyduğu 10 x reaksiyon çözeltisi , ACE gen bölgesine özgü 10 pmol primer çifti, 200 mM deoksinükleotid trifosfat karışımı (dNTP) içermektedir. DNA örnekleri yaklaşık 500 ng olacak şekilde PCR karışımlarına eklenmiştir.

Buharlaştırmanın engellenmesi için karışımın üzerine 50 mikrolt mineral yağ damlatılarak örneklerin Stratagene Mini Thermal Cycler'da PCR'ları yapıldı.

ACE DD genotipindeki örneklere ikinci kez PCR uygulandı. 20 mikrolt'lik PCR karışımında 9.05 mikrolt ddH₂O , 0.15 ünite Taq polimeraz enzimi, 2 mikrolt 10 x reaksiyon çözeltisi , ACE gen bölgesine özgü 10 pmol primer çifti, 200 mM deoksinükleotid trifosfat karışımı (dNTP) kullanarak PCR reaksiyon ortamı hazırlanarak ve DNA örnekleri yaklaşık 500 ng olacak şekilde PCR karışımlarına eklenmiştir. Üzerlerine

50mikroлт mineral yağ damlatılarak örneklerin Stratagene Mini Thermal Cycler'da birinci PCR koşullarında PCR'ları gerçekleştirildi (40).

ACE Gen bölgesi için kullanılan amplifikasyon koşulu:

94°C'de 1 dakika denatürasyon, 56°C'de 1 dakika bağlanma, 72 °C'de 2 dakika, uzama olmak üzere 30 döngü olarak gerçekleştirilmiştir.

5) Agaroz Jel Elektrofözezi

PCR sonrası oluşan amplifikasyon ürünlerinin incelenmesi için %3'lük agaroz jel hazırlandı. Örnekler agaroz jel elektrofözezinde hazırlanmış olan jele tatbik edilerek 100 volt'luk elektrik akımında yürütüldü.

%3'lük Agaroz Jelin Hazırlanması:

1.5 gr. agaroz tartılarak behere alındı. Üzerine 50 ml 1xTAE çözültisi eklenerek mikrodalga fırında kaynatıldı. Daha sonra üzerine 1 mikroлт 10 mg/ml'lik etidyum bromür eklenerek karıştırıldı. Yaklaşık 70 °C'ye soğutularak küvete döküldü. Tarak yerleştirildi ve jel soğumaya bırakıldı. Jel donduktan sonra tank 1xTAE çözültisi ile dolduruldu. Alınan 15 mikroлт PCR ürünleri son derişimi 1x olacak şekilde eklenen 5x'lik yükleme tamponu ile karıştırılarak jeldeki kuyucuklara yüklendi. Kuyucuklardan birine apo E için PBR 322 Msp I DNA size marker ACE için OX 174 DNA Hae size marker yüklendi. Yükleme işleми bittikten sonra elektrotlar yerleştirilerek örnekler 80-100 V'ta yürütüldü. Elektrofözez tamamlandıktan sonra jel UV altında incelendi ve poloroid kamera ile jelin fotoğrafı çekildi (Ek 8).

3.6. SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Elde edilen sonuçlar Windows için hazırlanmış SPSS 8.0 paket programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Değerlendirmede t-testi ve χ^2 testi kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. PSAGN'Lİ HASTALARIN DEĞERLENDİRİLMESİ (Ek 1,3,5)

Yaş dağılımı 2.5-13 (7.64 ± 2.58) arasında değişen hasta grubu, 16 erkek (%64) ve 9 kız(%36) hastadan oluşuyordu.

Başvuru şikayetleri sıklık sırasına göre; kanlı idrar (88), gözlerde, el ve ayaklarda şişlik (%68), idrar miktarında azalma (%20) ve karın ağrısıydı (%12).

Fizik muayenedeki en sık bulgu göz kapaklarında ödemdi (%56). Daha az sıklıkla pretibial ödem (%20) ve skrotal ödem (%4) de tesbit edildi. Hastaların hiçbirinde asite rastlanmadı. Akciğer ödeminin göstergesi olan krepitan raller duyulmadı. Ortalama sistolik tansiyon 113 ± 19.3 , ortalama diastolik tansiyon 75.2 ± 17.2 olarak hesaplandı.

Hastaların idrar analizlerinde; hematüri (%92) ve proteinüri (%24) mevcuttu. Ancak bu proteinüri stick ile tesbit edilebilen düzeydeydi. Hastaların hiçbirinin 24 saatlik proteinüri değerleri yüksek saptanmadı. Hipoalbuminemiye (%8) nadir olarak rastlandı. Ortalama albumin değeri 3.8 ± 0.51 'di. Anemi (%32), hiçbir hastada kan transfüzyonu gerektirecek düzeyde değildi. Ortalama hematokrit değeri 33.36 ± 3.97 'di. C3 düzeyinde (%84) ve C4 düzeyinde (%80) anlamlı derecede düşüklük saptandı. Ortalama C3 değeri 38.37 ± 33.03 , ortalama C4 değeri ise 24.40 ± 11.36 olarak saptandı. Ortalama üre değeri 39.37 ± 14.26 , ortalama kreatinin değeri ise 0.60 ± 0.21 olarak ölçüldü.

ACE gen polimorfizmi; 9 hastada DD (%36), 14 hastada ID (%56) ve 2 hastada II (%8) genotipindeydi. D allel dağılımı %64, I allel dağılımı %36 saptandı.

Tedavi tüm hastalarda semptomatikti. Takiplerinde hiçbir hastanın renal probleminin olmadığı izlendi.

4.2 . MPGN'Lİ HASTALARIN DEĞERLENDİRİLMESİ (Ek 2,4,6)

Yaş dağılımı 3-16 (11 ± 3.1) arasında değişen hasta grubu, 7 kız (%28) ve 18 erkek (%72) hastadan oluşuyordu.

Başvuru şikayetleri sıklık sırasına göre; gözlerde şişlik (%80), göz kapaklarındaki şişliğe eşlik eden el ve ayak şişliği (%64), kanlı idrar yapma (%24), total vücut şişliği (%20) ve karın ağrısıydı (%4).

Fizik muayenede; bifüssür tarzında ödem (%84), pretibial ödem (%76), asit (%20), skrotal ödem (%4) ve akciğer ödemeine ait krepitan raller (%4) saptandı. Ortalama sistolik tansiyon değeri 118.4 ± 15.9 , ortalama diastolik tansiyon değeri 80.2 ± 10.0 olarak saptandı.

İdrar analizlerinde proteinüri (%100) ve mikroskopik hematüri (%76) saptandı. Hastaların 24 saatlik proteinüri dağılımı; negatif (%12), 1-3 gr/gün (%28) ve >3 gr/gün (%60) olarak saptandı. Hipoalbuminemi (%72) anlamlı düzeyde vardı. Ortalama albumin değeri 2.93 ± 1.12 'di. Anemi (%64) mevcuttu. Ortalama hematokrit değeri 33.76 ± 4.24 'di. C3 düşüklüğü (%72) ve C4 düşüklüğü (%84) anlamlı derecedeydi. Ortalama C3 değeri 54.68 ± 46.63 , ortalama C4 değeri 27.12 ± 27.65 saptandı. Ortalama üre değeri 43.81 ± 36.39 , ortalama kreatinin değeri 0.72 ± 0.41 ölçüldü.

ACE gen polimorfizmi; 10 hastada DD (%40), 15 hastada ise ID (%60) genotipindeydi. D allel dağılımı %70, I allel dağılımı %30 bulundu.

Hastaların tedavisinde genellikle 5 günlük pulse kortikosteroid tedavisini takiben, gūnaşırı kortikosteroid tedavi protokolü uygulanıyordu. Tedaviye rağmen devam eden inatçı proteinürisi olan vakalarda enalapril de tedaviye ekleniyordu. 3 hasta tedavisiz olarak izlenmişti. 22 hastada 5 kez pulse kortikosteroid tedavisi aldıktan sonra, gün aşırı steroid tedavisine başlanmıştı. Bu hastalardan 13 tanesi gün aşırı steroid tedavisinin en erken 2. ayında, en geç ise 1. yılında olmak üzere proteinürileri negatifleşmişti. 4 hastaya ise gün aşırı steroid tedavisine enalapril eklendikten sonra en erken 6 ay, en geç ise 1 yıl olmak üzere proteinürileri negatifleşmişti. 5 hastada ise gün aşırı steroid tedavisine rağmen proteinüri azalmakla beraber devam ediyordu. Genotipler arasında tedavi başarısı açısından fark saptanmadı. Her iki genotipte; şifa oranı %80, sebat eden proteinüri oranı %20 olarak saptandı. MPGN'li 25 hastadan hiçbirinin takibinde renal yetmezliğe gidiş gözlenmedi.

Tablo 2
PSAGN'li ve MPGN'li hastalarda yaş, cinsiyet ve laboratuvar bulgularının istatistiksel olarak karşılaştırılması

Hastalık ismi	Yaş	Cins		Üre	Kreatinin	C3	C4	Htc	Albumin
		Kız	Erkek						
PSAGN	7.64±2.58	%36	%64	39,37±14,26	0,60±0,21	38,37±33,03	24,40±11,36	33,36±3,97	3,80±0,51
MPGN	11.00±3.10	%28	%72	43,81±36,39	0,72±0,41	54,68±46,63	27,12±27,65	33,76±4,24	2,93±1,12
İstatistiksel değerlendirme	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Gruplar arasında yaş, cinsiyet ve biyokimyasal bulgular açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.
 (ns:non significant)

Tablo 3
PSAGN'li ve MPGN'li olgulara ait ilk gelişlerinde saptanan klinik özelliklerinin değerlendirilmesi

Hastalık ismi	Kan basıncı*		Mik. Hematüri	Mak. Hematüri	24 h 'lik (-)	Proteinüri		Bifissür ödem	Pretibial ödem	Skrotal ödem
	Sistolik	diastolik				1-3gr	>3gr			
PSAGN	113±19.3	75.20±17.2	%92	%60	%100	(-)	(-)	%56	%20	%4
MPGN	118.4±15.9	80.2±10.0	%76	%24	%12	%28	%60	%84	%76	%4
İstatistiksel değerlendirme	ns	ns	P=0.012	P=0.012	P<0.0001	P<0.0001	P<0.0001	ns	ns	ns

*Kan basıncı X± standart sapma olarak verilmiştir.

Gruplar arasında tansiyon ve ödem dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. PSAGN'li grupta hematüri miktarı, MPGN'li gruba göre ($p<0.05$); MPGN'li grupta ise proteinüri miktarı PSAGN'li gruba göre ($p<0.0001$), istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptanmıştır.

3. ACE gen polimorfizminin gruplar arasında dağılımı

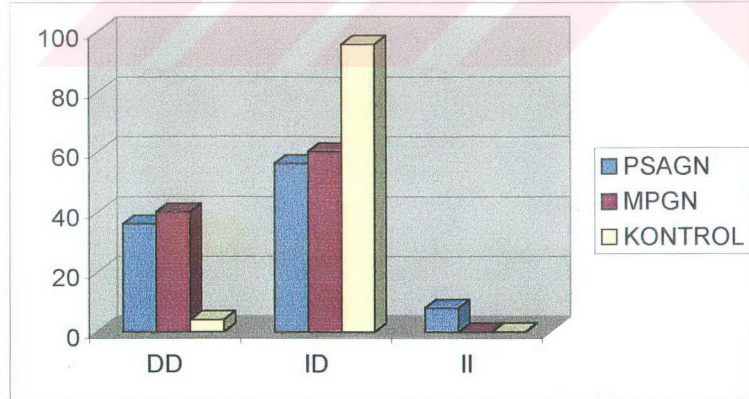
Tablo 4

Çalışma gruplarında ACE genotip ve allel dağılımı

ACE genotip dağılımı	GRUPLAR		
	PSAGN	MPGN	KONTROL
Genotip			
DD	9 (%36)	10 (%40)	1 (%4)
ID	14 (%56)	15 (%60)	24 (%96)
II	2 (%8)	-	-
Allel			
D	32 (%64)	35 (%70)	26 (%52)
I	18 (%36)	15 (%30)	24 (%48)

Çalışma gruplarına ait ACE genotip ve allel dağılımları Tablo 4'de ve Grafik 1'de gösterilmiştir. MPGN'li olgularda ACE DD genotipi ve ACE D allel frekansının arttığı gözlenmiştir. Sağlıklı kontrol grubuna göre, hasta gruplarında DD genotip dağılımı istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.01$).

Grafik 1

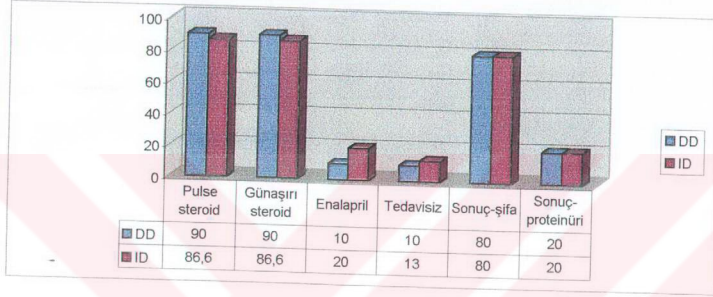


Tablo 5

ACE genotipine göre tedaviye cevabın değerlendirilmesi

Hastalık ismi	ACE genotipi	Pulse steroid	Günaşırı steroid	Enalapril	Tedavisiz	Sonuç	
						Şifa	proteinüri(+)
MPGN	DD (%40)	%90	%90	%10	%10	%80	%20
	ID (%60)	%86.6	%86.6	%20	%13	%80	%20

Grafik 2



PSAGN ve MPGN'li olgularda ACE genotipine göre tedaviye cevabın değerlendirilmesi Tablo 5'de ve grafik 2'de gösterilmiştir. MPGN'li grupta genotip dağılımına göre, tedavi sonuçlarında istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır.

4.4. MPGN'Li ve PSAGN'Li HASTA GRUPLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

- Gruplar arasındaki yaş dağılımları t - testi ile karşılaştırıldı. Bu teste göre iki grup arasında yaş dağılımı açısından farklılık görülmedi (Tablo 2).
- Gruplar arasındaki cinsiyet dağılımı χ^2 -testi ile karşılaştırıldı. Bu açıdan da fark tespit edilmedi (Tablo 2).
- Gruplar arasındaki ödem bulgusu χ^2 -testi ile karşılaştırıldığında fark tespit edilmedi (Tablo 3).
- Hipertansiyon sıklığı açısından gruplar χ^2 -testi ile karşılaştırıldığında yine fark görülmedi (Tablo 3).
- 2 hasta grubu arasında hematüri sıklığı açısından χ^2 -testine göre karşılaştırıldığında; PSAGN'li grupta MPGN'li gruba göre hematüri

miktarının anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü ($p < 0.05$) (Tablo 3).

- İki hasta grubu proteinüri miktarı açısından χ^2 -testi ile karşılaştırıldığında; MPGN'li gupta, PSAGN'li gruba göre proteinüri miktarı anlamlı derecede yüksek bulundu ($p < 0.0001$) (Tablo 3).
- C3 düzeyinin düşüklüğü açısından iki grup χ^2 -testi ile karşılaştırıldığında; gruplar arasında fark gözlenmedi. Her iki grupta da düşüktü (Tablo 2).
- ACE gen polimorfizminin I/D ve D/D genotipinin gruplar arası dağılımı χ^2 -testi ile karşılaştırıldığında anlamlı bir sonuç elde edilememiştir (Tablo 4).
- Ancak her iki grubunda sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmasında ise χ^2 - testine göre çok anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Belirgin olarak D/D genotipi her iki hasta grubunda, sağlıklı kontrol grubuna göre belirgin derecede yüksek tespit edilmiştir ($p < 0.01$) (Tablo 4).

4.5. SAĞLIKLI KONTROL GRUBU VERİLERİ (Ek 7)

Yaş dağılımı 4-16 (11.2 ± 2.5) arasında olan kontrol grubu, 18 erkek (%72) ve 7 kız (%28) olgudan oluşuyordu. Olguların hiçbirinin kronik hastalığı yoktu ve yapılan biyokimyasal tetkiklerinde patolojiye rastlanmadı.

ACE gen polimorfizmi 24 olguda ID (%96), 1 olguda DD(%4) olarak saptandı (Tablo 4).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

PSAGN, günümüzde çocukluk yaş grubunda akut glomerüler hastalıkların çoğunluğunu oluşturmaktadır. PSAGN ile sıklıkla karışan MPGN de çocukluk yaş grubu için önemli bir glomerülo nefrit tipidir. Her iki hastalık grubunda klinik ve laboratuvar bulgularındaki benzerlikler, ayırıcı tanıda zorluk oluşturmaktadır. Bu çalışmada; başvuru yakınması, klinik ve laboratuvar bulguları ile her iki grup hasta değerlendirilmiştir. Ayrıca, böbrek hastalıklarında son yıllarda hastalık progresyonunda önemli bir rolü olduğu ortaya konan Renin-Angiotensin sisteminin önemli bir parametresi olan ACE gen polimorfizmi olgularda araştırılmış, hasta gruplarının ACE gen polimorfizmi sonuçları, bu hastalığı geçirmemiş kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır.

Her iki hastalığında, cinsiyet farkı gözetmediği söylenmektedir (3,21). Bizim çalışma gruplarımızda erkek cinsiyet sayısı daha fazlaydı (PSAGN'li grupta 9 kız, 16 erkek; MPGN'li grupta ise 7 kız, 18 erkek hasta mevcuttu). Ancak cinsiyet dağılımı açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

PSAGN ve MPGN'nin genellikle 6 yaşın üzerinde ortaya çıktığı bilinmektedir (3,21). PSAGN'li grupta yaş dağılımı 2,5-13 yaş, MPGN'li çalışma grubunda ise 3-16 yaş arasında değişiyordu. Bizim hasta gruplarımıza göre her iki hastalığın daha erken yaşlarda da görülebileceğini söyleyebiliriz. Yaş dağılımı açısından PSAGN'li ve MPGN'li hasta gruplarımız arasında istatistiksel farklılık yoktu.

İlk başvuru şikayetleri sıklık sırasına göre; PSAGN'li hastalarda kanlı idrar, ödem ve idrar miktarında azalma, MPGN'li hastalarda ise ödem ve kanlı idrar yapmadır (21). Hasta gruplarımızdaki ilk başvuru şikayetleri literatür bilgilerimizle paralellik gösteriyordu. PSAGN'li grupta en sık şikayet kanlı idrar yapma (%88), ikinci sıklıkta ise ödemdi (%68). MPGN'li grupta ilk sırada göz kapaklarında ve/veya bacaklarda şişlik şeklinde ödem (%80), ikinci sırada ise kanlı idrar yapma (%24) yer alıyordu.

Her iki hastalıkta da fizik muayenede en sık bulguların; gözlerde bifissür tarzı ödem, pretibial ödem ve hipertansiyon olduğu bilinir (21). Benzer olarak bizim hasta gruplarımızda da en sık bulgu gözlerde bifissür tarzı ödemdi. Bu bulgu PSAGN'de %56, MPGN'de %84 oranında mevcuttu. Pretibial ödem PSAGN'de %20, MPGN'de %76 vakada vardı. MPGN'li hastaların %20'de asit, %4'de akciğer ödeme bağlı krepitan raller duyulmaktayken; bu bulgular PSAGN'li hastalarda izlenmedi. Ödem bulgusunun görülme sıklığı açısından; gruplar arasında istatistiksel fark tesbit edilmedi. Hastaların fizik muayene sırasında ölçülen tansiyon arteriyel değerleri; PSAGN'li grupta %28 oranında, MPGN'li grupta ise %24 oranında;

120/80 mm/Hg değerinin üzerindeydi. Gruplar arasında hipertansiyon sıklığı açısından istatistiksel fark yoktu.

PSAGN'li hastaların tamamına yakınında idrar analizlerinde mikroskopik hematüri tespit edilmesine rağmen, proteinüri genellikle anlamlı derecede yüksek saptanmaz. MPGN'li hastaların idrar analizlerinde ise proteinüri daima mevcuttur ve miktarı anlamlı derecede yüksektir. Beraberinde mikroskopik hematüriye de rastlanabilir (3,21). Kanlı idrar yapma; PSAGN'li hastaların, %60'ında makroskopik, %92'sinde mikroskopik hematüri; MPGN'li hastaların ise, %24'ünde makroskopik, %76'sında mikroskopik hematüri şeklindeydi. Hematüri miktarı açısından gruplar karşılaştırıldığında; χ^2 -testine göre PSAGN'li grupta MPGN'li gruba göre hematüri miktarının anlamlı derecede yüksek olduğu tesbit edildi ($p < 0.05$). Ödem bulgusunun laboratuvar göstergesi olan proteinüri; PSAGN'li hastaların hiçbirinde anlamlı derecede yüksek tesbit edilmedi. MPGN'li hastaların %60'ında 3gr/gün değerinin üzerindeyken; %28'inde 1-3gr/gün değerleri arasındaydı. MPGN'li hastalardan sadece %12'sinde proteinüri yoktu. Proteinüri miktarı açısından gruplar karşılaştırıldığında; MPGN'li grupta, PSAGN'li gruba göre, proteinüri miktarı istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek tesbit edildi ($p < 0.0001$).

PSAGN'li hastaların tedavisi beta hemolitik streptokok enfeksiyonunun tedavisi ve semptomatik tedavi şeklindedir (21). Çalışmamızda izlenen 25 hastanın hepsinin tedavisi şifa ile sonlanmış ve hiçbirinin takibinde sorunları olmamıştır. MPGN'li hastalarda ise tedavide ilk tercih edilen ilaç kortikosteroidlerdir (21). Hastalığın takibindeki iyileşme kriteri, mevcut proteinüride azalma veya negatifleşmedir. Çalışma grubundaki üç hasta tedavisiz izlenmiştir ve takiplerinde proteinürileri kaybolmuştur. 22 vakada, 5 gün pulse kortikosteroid tedavisini takiben, gūnaşırı steroid tedavisi başlanmıştı. Bu hastalarımızdan da 13 tanesi gūnaşırı steroid tedavisinin; en erken ikinci ayında, en geç ise birinci yılında olmak üzere proteinürileri negatifleşmişti. Diğer 9 hastanın, tedaviye rağmen proteinürileri azalmakla beraber devam etmekteydi. Bu hastalardan da, 4'üne gūnaşırı steroid tedavisine ek olarak enalapril başlandıktan sonra, en erken altı ay, en geç ise birinci yılda proteinürileri negatifleşmişti.

Renin-anjiyotensin sistemi, kan basıncı yanında, böbrek dolaşımının da düzenlenmesinde önemli rol oynar. Vazoaktif bir peptid olan anjiyotensin II renal skar oluşumunda etkili olabilmektedir (36). Anjiyotensin II miktarına etkili ACE geninin ekspresyonu ile bazı böbrek hastalıkları arasında önemli ilişki ortaya konulmuştur. ACE gen polimorfizmi DD genotipinin, IgA nefropatili (14,15,16,18,37,46,51),

diabetik nefropatili (9,13,19,47), fokal glomerülosklerozlu (11), reflü nefropatili (36) hastalarda, ve değişik renal patolojilerde ciddi prognozun göstergesi olduğu birçok çalışma ile gösterildi.

IgA glomerülo nefritli; stabil renal fonksiyonları olan hastalarla, son dönem renal yetmezliğe ulaşan hastalar üzerinde ACE gen polimorfizmini inceleyen bir çalışmada; renal yetmezliği olan hastaların, stabil renal fonksiyonlu hastalara nazaran daha sık DD genotipi taşıdığı gösterilmiştir (18,46,50). Ayrıca DD genotipli hastalarda nefropatiye ait bulgular daha genç yaşlarda ortaya çıkmaktadır (15,26). DD genotipli, IgA glomerülo nefritli hastalarda; hastalığın hızı ve hastalık seyrinin ağırlığı daha fazla bulunmuştur (15,33,42).

Otuz yıldır tip I diabeti olan hastalardan, DD genotipine sahip olanlarda mikroalbuminüri ve ilerlemiş diabetik nefropati prevalansının daha yüksek olduğu çalışmalarla gösterilmiştir (19). Tip I diabetik hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada ise böbrek tutulumunun ağırlığının, ID polimorfizmiyle ilişkili olduğu bulunmuştur (26).

Diğer bir grup fokal segmental glomerülosklerozlu hastalardır. Bu hastalıkta da, DD alelinin hastalığın kötü sonuçlanmasıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (11).

Otozomal dominant geçişli polikistik böbrek hastalığı olan hastalarda; DD genotipine sahip olanlarda, hipertansiyon gelişmesi ve son dönem renal yetmezliğe gidiş diğer genotiplere göre daha genç yaşlarda ortaya çıkmaktadır (1,8,18,48).

Vezikoüreteral reflüsü olan hastalardan, DD genotipi taşıyanlarda skar dokusu gelişme riskinin 9 kat arttığı bulunmuştur (36).

Henoch Schönlein Vaskülitli olan hastalarda yapılan bir çalışmada; ACE DD genotipini taşıyan vakalarda persistan proteinüri miktarı diğer genotiplere göre beş kat daha fazla bulunmuştur (52).

Literatürde PSAGN ve MPGN'li hastalarda, ACE gen polimorfizmi ile ilgili bir yayına rastlanılmamıştır. Hem bu hastalık gruplarında ACE gen polimorfizmini araştırmak, hem de her iki gruptaki dağılımı ve birbirine etyopatogenez, patoloji, klinik ve laboratuvar bulguları açısından benzerlik gösteren bu iki grubu karşılaştırmak için yapılan ilk araştırmadır.

Her iki grup arasında ACE polimorfizmi açısından büyük benzerlik görülmüştür. Bu durum her iki hastalığın, aynı hastalığın değişik prezantasyonları olma olasılığını akla getirmektedir. Her iki hastalık da immün komplekslerin glomerüllere yerleşmesi ile meydana gelen immün kompleks nefritleridir. Her iki hastalıkta da elektron mikroskopuyla mezangiumda depozitlerin varlığı, immün floresan yöntemiyle de C3 depolanması tipiktir (21). Klinik olarak daha ağır

seyreden MPGN olguları ile, genellikle sekel bırakmadan iyileşen PSAGN olguları arasında ACE gen polimorfizminde fark olmaması, RAS sisteminin MPGN olgularında, prognozun daha ağır seyretmesinde olumsuz etkisi olmadığını göstermektedir.

Her iki grup arasında ACE gen polimorfizmi açısından bir fark olmaması, ACE gen polimorfizminin, bu hastalıkların ayırıcı tanısı için yararlı olamayacağını, biyopsi gibi invazif girişimlerin yerini alamayacağını göstermektedir.

Her iki grubun, hastalık geçirmeyenler ile karşılaştırılmasında ise, istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. DD dışındaki kişilerin, PSAGN ve MPGN geçirme riskinin daha düşük olabileceği söylenebilir. İnfeksiyon sonrası gelişen ve etyolojisi tam olarak anlaşılmamakla birlikte, infeksiyonların sorumlu tutulduğu MPGN'de, hastanın ACE polimorfizmine göre farklı renal yanıt verebileceğini göstermektedir. Bu yönde yapılacak değişik araştırmalarla, DD genotipine ait özelliklerin ortaya konulması ile desteklenecektir.

Çalışmamızda;

- 1) ACE gen polimorfizmi, PSAGN ve MPGN ayırıcı tanısında yardımcı olabilecek bir yöntem değildir. Her iki hasta grubunda benzer değerler saptanmıştır.
- 2) Her iki hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubu arasında istatistiksel çok anlamlı fark belirlenmiştir. Sağlıklı kontrol grubuna göre DD genotipine bu hastalarda daha sık rastlanması; PSAGN ve MPGN hastalıklarına bu genotipi taşıyan kişilerde daha fazla eğilim olabileceğini ve bu renal patolojilerde de ACE'nin prognoz ve tanı koymada yol gösterici bir parametre olduğunu düşündürmektedir.
- 3) DD genotipli hastalarda PSAGN ve MPGN oluşumuna yatkınlık olasılığı, yapılacak başka çalışmalarla araştırılmalıdır.

6. ÖZET

PSAGN ve MPGN, iki farklı hastalık olmalarına rağmen, hematüri, hipertansiyon, ödem ve serum C3 konsantrasyonunda düşüklük gibi klinik ve laboratuvar bulgularıyla benzerlik gösterirler. ACE gen polimorfizminin farklı nefropatilerin seyirlerine etkileri halen araştırılmaktadır. DD genotipli hastalarda renal fonksiyonlarda daha hızlı bozulma olduğu birçok çalışma ile bildirilmiştir. Bunun üzerine, ACE gen polimorfizmini sağlıklı çocuklarda, MPGN'li ve PSAGN'li hasta grubunda inceledik.

ACE geni 16. intronda, insersiyon(I) ve delesyon(D) polimorfizmi göstermektedir. Bu PCR yöntemi ile saptanabilmektedir. Biz 25 sağlıklı, tanısı biyopsiyle konmuş 25 MPGN'li ve 25 PSAGN'li hasta grubunda periferik kanda PCR yöntemiyle DNA analizi yaparak ACE gen polimorfizmini çalıştık.

Gruplar arasında yaş ve cins dağılımı açısından istatistiksel fark saptanmadı. Hematüri sıklığı; PSAGN'li grupta, MPGN'li gruba göre; proteinüri sıklığı ise; MPGN'li grupta, PSAGN'li gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu.

MPGN ve PSAGN'li gruplarda, ACE gen polimorfizminin ID ve DD genotipinin dağılımı istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı bir fark tesbit edilmedi. MPGN'li grupta 10 DD, 15 ID; PSAGN'li grupta 9 DD, 14 ID ve 2 II değerleri mevcuttu. Ancak her iki grubun da sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmasında istatistiksel çok anlamlı sonuçlar elde edildi. Belirgin olarak DD genotipi her iki hasta grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre belirgin derecede yüksek değerler saptandı ($P<0.01$). Sağlıklı kontrol grubunda 1 DD, 24 ID genotip dağılımı mevcuttu.

Sonuç olarak çalışmamızda; ACE gen polimorfizminin MPGN ve PSAGN hastalıklarının ayırıcı tanısında yardımcı olamayacağı belirlendi. Ancak sağlıklı kontrol grubuna göre bu hastalıklarda DD genotipine daha sık rastlanması; PSAGN ve MPGN hastalıklarına bu genotipi taşıyan bireylerde daha fazla eğilim olabileceğini ve renal patolojilerde de ACE'nin prognoz ve tanı koymada yol gösterici bir parametre olduğunu düşündürmektedir. Fakat bu hipotezimizi destekleyecek başka çalışmalara da ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Babaolal K, Ravine D, Daniles J, et al. Association of the ACE gene deletion polymorphism with early onset of ESRF in PKD1 adult polycystic kidney disease. **Kidney Int** 1997; 52:607-613
2. Barocci S, Ginevri F, Valente U, et al. Correlation between angiotensin converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and kidney graft long term outcome in pediatric recipients **Transplantation** 1999; 67:534-538
3. Bergstein J: Glomerular Diseases. Nelson E, Behrman E, et al (eds). **Textbook of Pediatrics**. Philadelphia, WB Saunders Comp.1996.p.1483-1485.
4. Braam B, Koomans H. Renal responses to antagonism of the renin angiotensin system. **Curr Opin Nephrol Hypertens** 1996; 5:89-96
5. Brock J, Adams M, Hunley T, et al. Potential risk factors associated with progressive renal damage in childhood urological diseases: The role of ACE gene polymorphism. **J Urol** 1997; 158:1308-1311
6. Burg M, Menne J, Ostenborf T, et al. Gene polymorphisms of angiotensin converting enzyme and endothelial nitric oxide synthase in patients with primary glomerulonephritis. **Clin Nephrol** 1997; 48:205-211
7. Cambien F , Poirier O, Lecer L, et al. Deletion polymorphism in the gene for ACE is a potent risk factor for myocardial infarction. **Nature** 1992; 359:641-644
8. Conte D, Meroni J, Baddini K. Molecular genetic investigations in autosomal dominant polycystic kidney disease. **Contrib Nephrol** 1997; 122:53-57
9. Earle K, Walker K, Hill C, et al. Familial clustering of cardiovascular disease in patients with insulin dependent diabetes and nephropathy. **N Engl J Med** 1992; 326:673-677
10. Essen G, Rensma P, Zeeuw D, et al. Association between angiotensin converting enzyme gene polymorphism and failure of renoprotective therapy. **Lancet** 1996; 347:94-95
11. Frishberg Y, Becker-Cohen R, Halle D, et al. Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin system and the outcome of focal segmental glomerulosclerosis in children. **Kidney Int** 1998; 54:1843-1849
12. Gonzalo A, Telleria D, Millan J, et al. ACE gene polymorphism and antiproteinuric response to renoprotective therapy. **Nephrol Dial Transplant** 1998; 13:1050-1051
13. Hans H. P, Effect of deletion polymorphism of angiotensin converitng enzyme gene on progression of diabetic nephropathy. **BMJ** 1996; 313:591-594

14. Harden P. ACE genotype and progression of IgA nephropathy. **Lancet** 1995; 346:570
15. Harden P, Geddes C, Rowe P, et al. Polymorphisms in angiotensin, converting-enzyme gene and progression of IgA nephropathy. **Lancet** 1995; 345:1540-1542
16. Hunley T, Julian B, Philips J, et al. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism: Potential silencer motif and impact on progression in IgA nephropathy. **Kidney Int** 1996; 49:571-577
17. Jacobsen P, Rossing K, Tarnow L, et al. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism and ACE inhibition in diabetic nephropathy. **Int Soc Nephrol** 1998; 53:1002-1006
18. Jardine A, Padmanabhan N, Connell J. Angiotensin converting enzyme gene polymorphisms and renal disease. **Curr Opin Nephrol Hypertens** 1998; 7:259-264
19. Keavney B, Dudley CRK, Stratton IM, et al. Relationship of renin-angiotensin gene polymorphism with microalbuminuria in NIDDM. **Kidney Int** 1995; 48:1907-1911
20. Kevin J, McLaughlin KJ, Harden P, et al. The role of genetic polymorphisms of angiotensin converting enzyme in the progression of renal diseases. **Hypertension** 1996; 28:912-915
21. Kher K, Makker S: Membranoproliferative Glomerulonephritis, Acute poststreptococcal glomerulonephritis. Kher K et al (eds). **Clinic Pediatric Nephrology**. Washington, WB Saunders Comp., 1992.p. 200-218.
22. Kleij F, Navis G, Gansevoort R, et al. ACE polymorphism does not determine short term renal response to ACE inhibition in proteinuric patients. **Nephrol Dial Transplant** 1997; 12:42-46
23. Lee D, Kim W, Kang S, et al. ACE gene polymorphism in patients with minimal change nephrotic syndrome and focal segmental glomerulosclerosis. **Nephron** 1997; 77:471-473
24. Lindpaintner K, Pfeffer M, Reinhold K, et al. A prospective evaluation of an angiotensin converting enzyme gene polymorphism and the risk of ischemic heart disease. **N Engl J Med** 1995; 332:706-711
25. Ludwig C, Corneli D, Andersen A, et al. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism is associated with myocardial infarction but not with development of coronary stenosis. **Circulation** 1997; 91:2120-2124
26. Marre M, Jeunomaitre X, Gallois Y, et al. Contribution of genetic polymorphism in the renin-angiotensin system to the development or renal complications in insulin-dependent diabetes. **Am Soc Clin Invest** 1997; 99:1585-1595

27. Mattu R, Needham E, Galton D, et al. A DNA variant at the ACE gene locus associates with coronary artery disease in the caerphilly heart study. **Circulation** 1995; 91:270-274
28. Miller J, Scholley J, Thai K, et al. ACE gene polymorphism and renal hemodynamic function in early diabetes. **Int Soc Nephrol** 1996; 51:119-123
29. Missouris C, Barley J, Jeffery S, et al. Genetic risk of renal artery stenosis: Association with deletion polymorphism in ACE gene. **Kidney Int** 1996; 49:534-537
30. Mizuiri S, Hemmi H, Takano M, et al. Renal hemodynamic change induced by captopril and angiotensin converting enzyme gene polymorphism. **Nephron** 1997; 75:310-314
31. Murray R, Mayes P, Granner D: Angiotensin Converting Enzyme. Granner D (eds). **Harper's Biochemistry**. WB Saunders Comp., 1993.p.632-634
32. Nakai K, Itoh C, Miura Y, et al. Deletion polymorphism of the ACE gene is associated with serum ACE concentration and increased risk for CAD in the Japanese. **Circulation** 1994; 90:2199-2202
33. Navis G, Jong P, Zeeuw D. I/D polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene: a clue to the heterogeneity in the progression of the renal disease and in the renal response to therapy? **Nephrol Dial Transplant** 1997; 12:1097-1100
34. Nomura H, Koni I, Michishita Y, et al. ACE gene polymorphism in haemodialysis patients. **Lancet** 1994; 343:482-483
35. Osono E, Kurihara S, Hayama N, et al. Insertion/deletion polymorphism in Intron 16 of the ACE gene and left ventricular hypertrophy in patients with end stage renal diseases. **Am J Kidney Dis** 1998; 32:725-730
36. Ozen S, Alikasifoglu M, Tuncbilek E, Ark. Polymorphism in angiotensin converitng enzyme gene and reflux nephropathy: a genetic disposition to scar formation. **Nephrol Dial Transplant** 1997; 12:2033-2034
37. Paolo S, Schena A, Stallone G, et al. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism in renal transplant patients with IgA nephropathy: Relations with graft function and prevalance of hypertension. **Transplant Proc** 1999; 31:1357-1358
38. Parving H, Jacobsen P, Tarnow L, et al. Effect of deletion polymorphism of angiotensin converting enzyme gene on progression of diabetic nephropathy. **BMJ** 1996; 313:591-594
39. Pei Y, Scholey J, Thai K, et al. Association of Angiotensin gene T235 variant with progression of immunoglobulin A nephropathy in caucasian patients. **Am Soc Clin Invest** 1997; 100:814-820

40. Rigat B, Hubert C, Corvol P, et al. PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCPI) (dipeptylcarboxypeptidase I). **Nucleic Acids Res** 1992; 20:1433
41. Schmidt S, Ritz E. Genetics of the renin-angiotensin system and renal disease: a progress report. **Curr Opin Nephrol Hypertens** 1997; 6:146-151
42. Schmidt S, Ritz E. The role of angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism in renal disease. **Curr Opin Nephrol Hypertens** 1996; 5:552-555
43. Schunkert H. Controversial association of left ventricular hypertrophy and the ACE I/D polymorphism-is the mist clearing up? **Nephrol Dial Transplant** 1998; 13:1109-1112
44. Schunkert H, Hense M, Holmer S, et al. Association between a deletion polymorphism of ACE gene and left ventricular hypertrophy. **N Engl J Med** 1994; 330:1634-1638
45. Soubrier F. Blood pressure gene at the ACE Locus. **Circulation** 1998; 97:1763-1765
46. Tanaka R, Lijima K, Murakami R, et al. ACE gene polymorphism in childhood IgA nephropathy, Association with clinicopathologic findings. **Am J Kidney Dis** 1998; 31:774-779
47. Tarnow L, Gluud C, Parving H. Diabetic nephropathy and the insertion/deletion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene. **Nephrol Dial Transplant.** 1998; 13:1125-1130
48. Turco A, Bresin E, Rossetti S, et al. Molecular genetic investigations in autosomal dominant polycystic kidney disease. **Contrib Nephrol** 1997; 122:53-57
49. Wolf G. Molecular mechanisms of angiotensin II in the kidney: emerging role in the progression of renal disease:beyond haemodynamics. **Nephrol Dial Transplant** 1998; 13:1131-1142
50. Yoshida H, Ichikawa I, Sakai O. Role of angiotensin converting enzyme gene polymorphism in progressive loss of renal function in chronic renal diseases. **Contrib Nephrol** 1996; 118:249- 253
51. Yoshida H, Mitarai T, Kawamura T, et al. Role of the deletion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene in the progression and therapeutic responsiveness of IgA nephropathy. **J Clin Invest** 1995; 96:2162-2169
52. Yoshioka T, Xu Y, Yoshida H, et al. Deletion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene predicts persistent proteinuria in Henoch-Schönlein purpura nephritis **Arch Dis Child** 1998; 79:394-399

8.EKLER

EK 1

PSAGN'li hastalarda ilk geliş şikayeti.

No	İsim	Başlangıç Tarihi	Yaş	Cins	Gözde şişlik	El-ayak şişliği	İdrarda azalma	Kanlı idrar	Karn ağrısı	Öksürük balgam	Vücutta şişlik
1	G.Ş	1998	4	K	-	-	-	+	-	-	-
2	T.D	1995	10	E	+	-	-	+	-	-	-
3	E.T	1995	10	E	+	-	-	+	+	-	-
4	S.K	1996	6	E	+	-	-	+	-	-	-
5	M.Ş	1998	6.5	E	+	-	-	+	-	-	-
6	A.S	1994	6	E	-	-	-	+	-	-	-
7	N.Ş	1995	13	K	+	-	-	+	-	-	-
8	B.Ö	1993	6	K	-	-	-	+	+	-	-
9	Y.K	1997	7	E	+	+	-	+	-	-	-
10	E.Y	1997	10.5	E	+	-	-	+	-	-	-
11	E.A	1995	10	E	+	-	-	-	+	-	-
12	A.B	1994	10	K	-	-	+	+	-	-	-
13	V.Ö	1995	12	E	+	-	-	+	-	-	-
14	S.G	1997	9	E	+	-	-	+	-	-	-
15	M.C.Ö	1994	6	E	-	-	+	+	-	-	-
16	C.Ş	1990	7	E	+	-	+	+	-	-	-
17	C.D	1995	7	E	-	-	-	+	-	-	-
18	H.Ö	1995	6	K	+	-	+	+	-	-	-
19	A.G	1995	2.5	K	-	-	-	+	-	-	-
20	Ü.Ç	1997	3.5	K	+	-	-	+	-	-	-
21	O.S	1994	7	E	+	-	-	+	-	-	-
22	A.Ö	1998	10	E	-	-	+	+	-	-	-
23	B.Ç	1998	7	E	+	-	-	+	-	-	-
24	T.Ş	1995	7	K	+	+	-	-	-	-	-
25	A.Ö	1998	8	E	+	+	-	-	-	-	-
% dağılım	-	-	7.64± 2.58	%36K %64E	%68	%12	%20	%88	%12	%0	%0

Yaş dağılımı ortalama-standart sapma olarak verilmiştir.

EK 2

MPGN'li hastalarda ilk geliş şikayetleri.

No	İsim	Başlangıç Tarihi	Yaş	Cins	Gözde şişlik	El-ayak şişliği	İdrarda azalma	Kanlı idrar	Karın ağrısı	Öksürük balgam	Vücutta şişlik
1	A.B	1995	13	K	+	-	-	-	-	-	-
2	M.S	1998	14	E	+	+	-	-	-	-	-
3	Y.A	1990	15	E	+	-	-	+	-	-	-
4	Y.Ç	1995	15	E	+	+	-	-	-	-	-
5	Ü.T	1997	12	E	+	+	-	-	-	-	-
6	P.T	1998	12	K	+	+	-	-	-	-	-
7	U.A	1994	3	E	-	+	-	+	-	-	-
8	S.T	1997	12	K	+	-	-	-	-	-	-
9	E.A	1997	14	K	-	-	-	+	-	-	-
10	M.A	1990	10	K	+	+	-	+	+	-	-
11	Ç.T	1996	10	E	+	+	-	-	-	-	-
12	A.G	1997	10	E	+	+	-	-	-	-	-
13	S.S	1994	7	E	-	-	-	+	-	-	-
14	M.O.Ö	1997	9	E	-	-	-	-	-	-	-
15	M.B	1990	13	K	+	+	-	-	-	-	+
16	Z.G	1998	14	K	+	+	-	-	-	-	-
17	S.B	1995	12	E	+	+	-	-	-	-	+
18	M.A	1995	13	E	-	-	-	+	-	+	-
19	A.Ş	1997	9	E	+	-	-	-	-	-	-
20	S.G	1996	11	K	+	+	-	-	-	-	+
21	F.A	1998	15	E	+	+	-	-	-	-	+
22	B.D	1997	9	E	+	-	-	-	-	-	-
23	S.C	1998	10	K	+	+	-	-	-	-	-
24	G.Ü	1998	8	E	+	+	-	-	-	-	+
25	A.F	1990	5	E	+	+	-	-	-	-	-
% dağılım	-	-	11±3.1	%28K %72E	%80	%64	%0	%24	%4	%4	%20

Yaş dağılımı ortalama-standart sapma olarak verilmiştir.

EK 3
PSAGN'li hastalarda ilk geliş tablosu.

No	İsim	Tansiyon	Mik. Hematüri	Mak. Hematüri	24 h 'lik Proteinüri	Bifissür ödem	Pretibial ödem	Skrotal ödem	Asit	Krepitan Raller
1	G.Ş	120/70	+	+	-	-	-	-	-	-
2	T.D	110/70	+	+	-	+	-	-	-	-
3	E.T	100/70	+	+	-	+	-	-	-	-
4	S.K	100/70	+	+	-	-	-	-	-	-
5	M.Ş	130/100	+	+	-	+	-	-	-	-
6	A.S	140/90	+	+	-	+	-	-	-	-
7	N.Ş	125/75	+	+	-	+	+	-	-	-
8	B.Ö	110/50	+	-	-	-	-	-	-	-
9	Ö.K	110/70	-	-	-	-	-	-	-	-
10	E.Y	100/80	+	-	-	+	-	-	-	-
11	E.A	130/90	+	-	-	+	-	-	-	-
12	A.B	100/60	+	-	-	-	-	-	-	-
13	V.Ö	140/85	+	-	-	+	+	-	-	-
14	S.G	150/110	+	+	-	+	-	-	-	-
15	M.C.	115/70	+	+	-	-	-	-	-	-
16	C.D.Ş	110/85	-	-	-	-	-	-	-	-
17	C.D	90/55	+	-	-	-	-	-	-	-
18	H.Ö	100/70	-	+	-	-	+	-	-	-
19	A.G	90/60	+	+	-	-	-	-	-	-
20	Ü.Ç	90/60	-	+	-	+	-	-	-	-
21	O.S	100/50	+	+	-	+	-	+	-	-
22	A.Ö	95/70	+	+	-	+	-	-	-	-
23	B.K.Ç	160/120	+	+	-	-	-	-	-	-
24	T.Ş	110/70	+	-	-	+	+	-	-	-
25	A.B.Ö	130/70	+	-	-	+	+	-	-	-
% dağılım	-	Sis: 113±19.3 Dia:75.2±17.2	%92	%60	%0	%56	%20	%4	%0	%0

Tansiyon ortalama-standart sapma olarak verilmiştir.

EK 4
MPGN'li hastalarda ilk geliş tablosu.

No	İsim	Tansiyon	Mik. Hematüri	Mak. Hematüri	24 h 'lik Proteinüri	Bifissür ödem	Pretibial ödem	Skrotal ödem	Asit	Krepitan Raller
1	A.B	130/80	+	-	1.7 gr/gün	+	+	-	-	-
2	M.S	120/80	-	-	4 gr/gün	+	+	-	-	-
3	Ö.A	100/70	+	+	1.6gr/gün	+	+	-	-	-
4	S.Ç	110/80	+	-	3 gr/gün	+	+	-	-	-
5	Ü.T	160/90	+	-	8.8gr/gün	+	+	+	-	-
6	P.T	110/90	+	-	3.6gr/gün	+	+	-	-	-
7	U.A	110/70	+	+	1.5gr/gün	+	-	-	-	-
8	S.T	100/70	-	-	4.5gr/gün	+	+	-	-	-
9	E.A	150/90	+	+	-	-	-	-	-	-
10	M.A	110/80	+	-	4 gr/gün	+	+	-	-	-
11	Ç.T	110/90	+	-	1.6gr/gün	+	-	-	-	-
12	A.G	100/60	+	-	4.4gr/gün	+	+	-	-	-
13	S.S	110/70	+	+	8.8gr/gün	+	+	-	+	-
14	M.O.	110/70	+	+	1.2gr/gün	-	-	-	-	-
15	M.B	150/90	-	-	3.9gr/gün	+	+	-	-	-
16	Z.G	130/90	-	-	3.5gr/gün	+	+	-	-	-
17	S.B	120/70	+	-	6.5gr/gün	+	+	-	-	-
18	M.A	120/70	+	+	5 gr/gün	+	+	-	-	+
19	A.Ş	110/90	-	-	1.9gr/gün	-	-	-	-	-
20	S.G	120/80	+	-	-	+	+	-	+	-
21	F.A	130/100	+	-	6.3gr/gün	+	+	-	+	-
22	B.D	120/90	+	-	4gr/gün	+	+	-	+	-
23	S.C	120/85	+	-	1.5gr/gün	+	+	-	-	-
24	G.Ü	110/70	+	-	5.7gr/gün	+	+	-	+	-
25	A.F	100/80	-	-	-	-	-	-	-	-
% dağılım	-	Sis:118.4±15.9 Dia:80.2±10	%76	%24	(-) :%12 1-3gr/g:%28 >3gr/g :%60	%84	%76	%4	%20	%4

Tansiyon ortalama-standart sapma olarak verilmiştir.

EK 5

PSAGN'li hastalarda laboratuvar, tedavi ve sonuç.

No	İsim	Albumin	Htc	C3	C4	Üre	Kreatinin	ASO	CRP	ACE	Sonuç
1	G.Ş	3.5	31	43.2	8.4	25.4	0.4	260ü	(++)	DD	şifa
2	T.D	3.4	35	118	-	25	0.8			DD	şifa
3	E.T	4.1	38	21	42	32	0.8	600ü	(+)	ID	şifa
4	S.K	4	35.8	130	13	33	0.6	(+)	(-)	ID	şifa
5	M.Ş	3.3	29.5	33	27	76	0.6	160ü	(-)	ID	şifa
6	A.S	2.7	27.3	20	40.4	50	1.2	800ü	(-)	DD	şifa
7	N.Ş	3.2	38	0.05	22	27	0.5	(+++)	(-)	DD	şifa
8	B.Ö	4	29	24	21	29	0.8			DD	şifa
9	İ.K	4.3	26	86	35	54	0.6			ID	şifa
10	E.Y	4.4	35	20	14	45	0.4	200ü	(-)	ID	şifa
11	E.A	3.7	34	31	20	62	0.9	(+)		DD	şifa
12	A.B	4.2	38	61	27	28	0.5			DD	şifa
13	V.Ö	2.9	38.6	30	10	40	1			ID	şifa
14	S.G	4	34	49	27	58	0.7			ID	şifa
15	M.C.İ	4.9	42	36	18	52	0.6	400ü		ID	şifa
16	C.Ş	4.6	32	75.4	21.5	25	0.6	1600		II	şifa
17	C.D	4	33	1.1	49	20	0.6			DD	şifa
18	H.Ö	4	35	37	-	35	0.4	(+)		ID	şifa
19	A.G	3.9	31	42	36	32	0.6	200ü	3	ID	şifa
20	Ü.Ç	3.3	36.4	13	18	37	0.6	(+)		ID	şifa
21	O.S	3.8	32	27	40	25	0.7	800ü		DD	şifa
22	A.İ	3.8	28.6	20	7.2	56	0.5	(+)	(-)	ID	şifa
23	B.Ç	4.2	30	10.6	18.8	44	0.8			II	şifa
24	T.Ş	3.4	30	19	22	44	0.5		(+)	ID	şifa
25	A.Ö	3.6	35	12	24	30	0.2			ID	şifa
Ort-sd	-	3,80±0,51	33,36± 3,97	38,37± 33,03	24,40 ±11,3	39,37± 14,26	0.60±021	-	-	DD%36 ID %56 II %8	%100

ACE genotip dağılımı % olarak verilmiştir.

EK 6 MPGN'li hastalarda laboratuvar, tedavi ve sonuç.

No	İsim	Albumin gr/dl	Htc %	C3	C4	Üre gr/dl	Kreatinin gr/dl	ACE	Pulse Steroid	Günaşırı steroid	Enalapril	Sonuç
1	A.B	2.8	34	40	16	25	0.8	DD	5 kez	9 ay	-	şifa
2	M.S	0.9	41	0.2	0.3	87	1.3	DD	5 kez	devam	-	1.5gr/gün
3	I.A	3	38	165	40	26	0.6	ID	-	-	-	şifa
4	I.Ç	2.4	35	65	55	17	0.4	ID	5 kez	2 yıl	-	şifa
5	Ü.T	1.2	38	32.5	26	33	0.6	DD	5 kez	2yıl	1yıl	şifa
6	P.T	1.9	34	91	24	29	0.8	ID	5 kez	1 yıl	-	şifa
7	U.A	3.2	33	35.4	9.6	16	0.6	ID	5 kez	4 yıl	-	şifa
8	S.T	4.5	42	96.4	13.9	14	0.7	DD	5 kez	1 yıl	-	şifa
9	E.A	4.6	33	81	16	29	0.8	ID	-	-	-	şifa
10	M.A	2.9	35	16.4	27	12	0.2	DD	5 kez	2 yıl	-	şifa
11	Ç.T	4.5	35.8	70.2	20	21	0.5	DD	5 kez	1 yıl	-	şifa
12	A.G	2.8	30	129	33	37.6	0.3	DD	10 kez	1 yıl	-	şifa
13	S.S	4.1	33	0.16	62	45	0.9	ID	5 kez	3 yıl	1 yıl	şifa
14	M.O.	4.4	35.7	120	124	19	0.4	DD	-	-	-	şifa
15	M.B	2.9	36	120	25.5	41	0.3	ID	5 kez	5 yıl	5 yıl	şifa
16	Z.G	1.8	28.7	30	10	52	0.6	ID	5 kez	devam	-	1.5gr/gün
17	S.B	2.9	29	53	12	64	0.6	ID	5 kez	3 yıl	-	şifa
18	M.A	4.9	31	0.16	0.5	29	0.7	ID	5 kez	1 yıl	-	şifa
19	A.Ş	1.8	38	20	4.5	45	0.6	ID	5 kez	devam	-	2.2gr/gün
20	S.G	2.5	34	21.8	-	42	0.8	ID	15 kez	4 yıl	1 yıl	şifa
21	F.A	1.4	27	95	20	78	2	ID	10 kez	1 yıl	-	şifa
22	M.A	3.6	34	51	34	188	1.7	DD	5 kez	2 yıl	-	şifa
23	S.C	3.5	24	0.17	0.13	78	0.9	ID	5 kez	devam	-	1gr/gün
24	G.Ü	2.8	28.9	21.8	67.5	41	0.7	DD	5 kez	devam	-	1.5gr/gün
25	A.F	2.1	36	12	10	26.8	0.3	ID	5 kez	2 yıl	-	şifa
Ort- sd		2,93± 1,12	33,76± 4,24	54,68± 46,63	27,12± 27,65	43,81± 36,39	0,72± 0,41	DD%40 ID %60				%80 Şifa %20 *pr.ürü

*=proteinüri

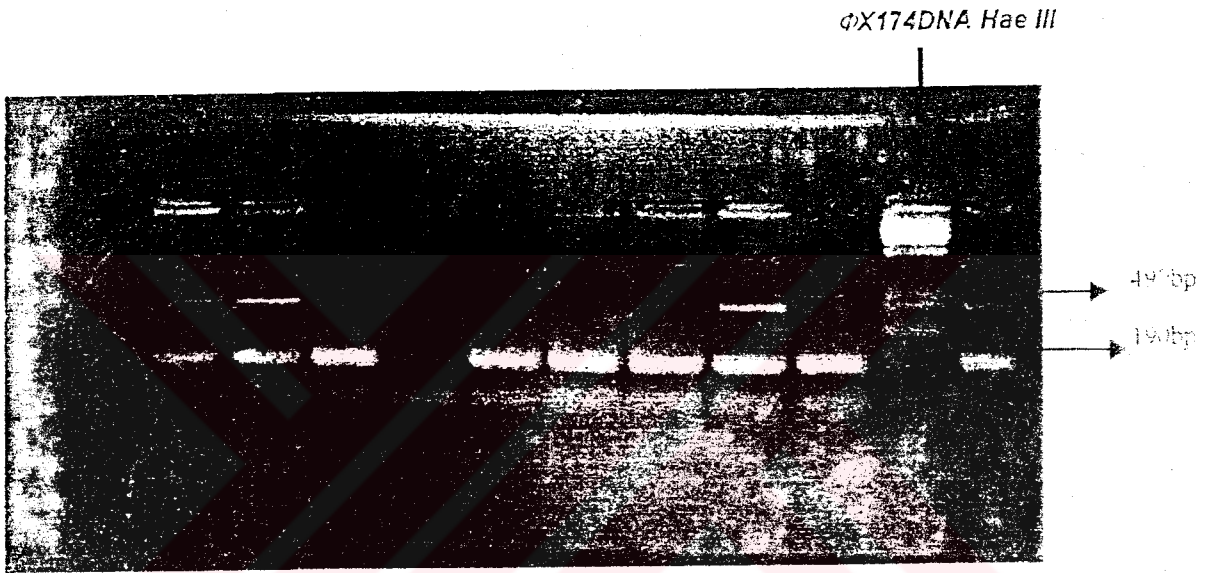
ACE genotipi % olarak verilmiştir.

EK 7

Sağlıklı kontrol grubu verileri.

No	İsim	Cins	Yaş	İdrar	Albumin	Htc	C3	C4	Üre	Kreatinin	ACE	Sonuç
1	U.Y.	E	12	N	5	41	101	21	30	0.5	ID	Sağlıklı
2	Z.Y.	K	5	N	4.9	37	107	18	24	0.3	ID	Sağlıklı
3	T.G.	K	10	N	4	34	65	55	26	0.5	ID	Sağlıklı
4	N.M.	K	6	N	4.6	38	70	50	18	0.5	ID	HBs(+)
5	H.K.	E	15	N	4	40	70	50	26	0.5	ID	Sağlıklı
6	E.B.	K	5.5	N	4.6	37	88	15	28	0.5	ID	Sağlıklı
7	S.Y.	E	6	N	5.3	38	150	23	39	0.5	ID	Sağlıklı
8	A.K.	K	16	N	4	28	60	40	30	0.6	ID	Anemi
9	İ.E.	E	6	N	4	39	80	150	20	0.5	ID	Sağlıklı
10	A.B.	E	13	N	4.4	35	109	22	28	0.6	ID	Sağlıklı
11	M.Ö.	E	8	N	4	33	65	55	22	0.5	ID	Sağlıklı
12	N.E.	E	14	N	4.5	45	73	15	22	0.6	ID	Sinüzit
13	F.E.	K	14	N	5	40	138	17	26	0.4	ID	Sinüzit
14	F.Ü.	E	10.5	N	4.8	38	100	21	29	0.4	ID	ÜSYE
15	M.Y.	E	14	N	4.8	40	120	28	21	0.5	ID	Sağlıklı
16	E.Y.	E	11	N	4.7	38	82	21	17	0.6	ID	Sağlıklı
17	B.B.	E	14	N	3.2	37	65	50	22	0.4	DD	Dermatit
18	M.S.	K	14	N	4.8	35	140	28	22	0.5	ID	Sağlıklı
19	N.Ö.	E	15	N	3.5	31	70	40	23	0.5	ID	Anemi
20	Ö.G.	E	9	N	4.5	38	86	50	26	0.3	ID	Sağlıklı
21	F.Ç.	K	8	N	3.8	42	82	65	28	0.4	ID	Sağlıklı
22	A.G.	K	13	N	4.2	39	76	48	30	0.2	ID	Sağlıklı
23	İ.G.	E	7	N	3.9	38	87	45	28	0.5	ID	Sağlıklı
24	M.G	K	11	N	4.3	40	86	52	30	0.6	ID	Sağlıklı
25	Z.G.	K	5	N	5	36	90	60	28	0.4	ID	Sağlıklı

Ek 8



Anjiotensin Konverting Enzim genotiplemesine ait bir örnek