

T.C
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**NEFROTİK SENDROMLU ÇOCUKLARDA MANGANEZ
SÜPEROKSİT DİSMUTAZ GEN POLİMORFİZMİ**

Dr. Özlem ÖZSOY

**ÇOCUK SAĞLIĞI ve HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

DANIŞMANLAR

Doç. Dr. Faruk ÖKTEM

Doç. Dr. Bumin Nuri DÜNDAR

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi tarafından 1952-TU-09 proje numarası ile desteklenmiştir.**

ISPARTA – 2011

ÖNSÖZ

Üyesi olmaktan her zaman onur duyduğum Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri A.B.D’da ihtisas çalışmalarımı yürüttüğüm için mutlu ve gururluyum. Çalışma sürem içerisinde göstermiş oldukları destek ve hoşgöründen dolayı başta Anabilim Dalı Başkanlığı görevini yürüten, varlığıyla her zaman güç bulduğum, her konuda en büyük destekçim, çok sevdiğim manevi babam Sayın Prof. Dr. Ahmet Rıfat Örmeci’ye, yardım ve bilgilerini esirgmeden, bilimsel çalışmaların gereklerini öğreten, değerli tez hocam Sayın Doç. Dr. Faruk Öktem’e, meslek yaşantımda kendisini her zaman, her yönüyle örnek alacağım, çok değerli hocam Sayın Doç. Dr. Bumin Nuri DüNDAR’a, hoca olmaktan öte bizlere arkadaş sıcaklığını gösteren, gülyüzünü hiç eksik etmeyen Sayın Doç. Dr. Mustafa Akçam’a, sosyal yönümüzü geliştiren Sayın Doç. Dr. Metehan Özen’e, başarılı bir bayan hekim olmasının yanında hastalarına olan bağlılığıyla bizlere örnek olan, keyifli sohbetlerini özleyeceğim ablam Sayın Yrd. Doç. Dr. Nihal DüNDAR’a, çalışmamıza olan desteğinden dolayı Sayın Doç. Dr. Harun Peru’ya teşekkürlerimi sunarım.

Aile gibi olduğum, uzmanlık eğitimim süresince birlikte olmaktan çok büyük keyif aldığım, çok sevdiğim, her daim özleyeceğim ve gülümseyerek hatırlayacağım bütün asistan arkadaşlarıma, özellikle asistanlık eğitimine beraber başladığım, en zor dönemlerimde beni yalnız bırakmayan, varlığıyla huzur bulduğum can dostum Dr. Gürol Güleçol’a, gerçek dost Dr. Harun Tepeli’ye, kardeşim Dr. Özgen Soyöz’e ayrıca desteklerini bizlerden esirgemeyen başta sorumlu hemşirelerimiz Meryem Gülşah Köroğlu, Serap Açıkgöz, Derya Demir olmak üzere bütün klinik hemşire ve personeline tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Her türlü fedakarlığı yapan ve beni yetiştirerek bu günlere gelmemi sağlayan canım babam Şerif Özsoy ve ona sahip olduğum için kendimi hep şanslı hissettiğim, en kıymetli varlığım annem Hatice Özsoy’a sonsuz şükran borçluyum. Bu onurlu mesleğe sahip olma yolunda ilerleyen, hayatıma neşe ve mutluluk katan, sevgili kardeşlerim, genç meslektaşlarım Dr. Özge Özsoy ve Dr. Işıl Özsoy’a sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Özlem Özsoy

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR DİZİNİ	v
TABLO DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Nefrotik Sendrom	4
2.1.1. Epidemiyoloji	4
2.1.2. Etyoloji	4
2.1.3. Sınıflandırma	5
2.1.3.1. Klinik Sınıflama	5
2.1.3.2. Tedaviye Yanıtı Göre Sınıflama.....	6
2.1.3.3. Histopatolojik Sınıflama	7
2.1.3.3.1. Minimal Lezyon Hastalığı (MLH).....	7
2.1.3.3.2. Fokal Segmental Glomerüloskleroz (FSGS).....	9
2.1.3.3.3. Mezengial Proliferatif Glomerülonefrit (MezPGN).....	10
2.1.4. Nefrotik Sendromun Patofizyolojisi	11
2.1.5. İlerleyici Nefropatilerde Fizyopatoloji	13
2.2. Oksidatif Hasar ve Antioksidanlar	16
2.3. Serbest Oksijen Radikalleri	18
2.3.1. Serbest Oksijen Radikalleri-Oksidatif Stres	20
2.3.2. Serbest Radikallerin Hücreler Üzerinde Etkileri	20
2.3.2.1. Lipidlerde Meydana Gelen Yapısal Değişiklikler.....	20
2.3.2.2. Proteinlerde Meydana Gelen Yapısal Değişiklikler.....	21
2.3.2.3. DNA Üzerine Etki.....	21
2.4. Antioksidan Savunma Sistemleri	22
2.4.1. Serbest Oksijen Radikalleri ve Böbrek.....	22
2.4.2. Nefrotik Sendromda Oksidatif Stres.....	23
2.4.3. Süperoksit Dismutaz	27
2.4.3.1. Manganez Süperoksit Dismutaz Enzimi (MnSOD).....	28
2.4.3.2. Manganez Süperoksit Dismutaz Geni.....	29

2.4.3.3. MnSOD Gen Polimorfizmi ve Böbrek Hastalıkları	32
2.4.3.4. MnSOD Gen Polimorfizmi ve Diğer Hastalıklar	34
3. MATERYAL ve METOT	36
3.1. Çalışma Grubu Özellikleri	37
3.1.1. Steroide Dirençli Nefrotik Sendrom (SDNS) Olguları	38
3.1.1.1. İyi Seyirli SDNS Olguları	39
3.1.1.2. Kötü Seyirli SDNS Olguları	40
3.1.2. Steroide Yanıtlı Nefrotik Sendrom (SYNS) Olguları	40
3.1.2.1. Az Relaps Yapan SYNS Olguları	41
3.1.2.2. Çok Relaps Yapan SYNS Olguları	42
3.1.3. Kontrol Grubu	42
3.2. SOD Gen Polimorfizmi Belirleme Yöntemi	50
3.2.1. Kullanılan Cihazlar	50
3.2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	51
3.3. DNA İzolasyonu	52
3.3.1. PCR İşlemi	52
3.3.2. RFLP Yöntemi	52
3.4. Sonuçların Değerlendirilmesi	53
4. BULGULAR	54
4.1. SDNS Olgularında MnSOD Gen Polimorfizminin Değerlendirilmesi	56
4.2. SDNS Olgularında Hastalığın Gidişi ve MnSOD Gen Polimorfizminin İlişkisi	57
4.3. SYNS Grubunda MnSOD Gen Polimorfizminin Değerlendirilmesi	59
4.4. SYNS Olgularında Relaps Sıklığı ve MnSOD Gen Polimorfizmi Arasındaki İlişki	61
4.5. SYNS ve SDNS Olguları Arasında MnSOD Gen Polimorfizminin Karşılaştırılması	63
5. TARTIŞMA	64
ÖZET	72
SUMMARY	73
KAYNAKLAR	74

KISALTMALAR DİZİNİ

A	: Alanin
A⁰	: Angström
ANA	: Antinükleer Antikor
AP	: Aktivatör Protein
BUN	: Kan Üre Azotu
CAT	: Katalaz
CI	: Güvenirlilik Aralığı
Cu-Zn SOD	: Bakır ve Çinko İçeren Süperoksit Dismutaz
CP	: Seruloplazmin
dak.	: Dakika
dL	: Desilitre
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetikasit
EC-SOD	: Ekstraselüler Süperoksit Dismutaz
EMK	: Eritrosit Membran Kolesterol
FGS	: Fokal Global Skleroz
FGGS	: Fokal Global Glomerüloskleroz
FSGS	: Fokal Segmental Glomerüloskleroz
GBM	: Glomerüler Bazal Membran
GFR	: Glomerüler Filtrasyon Hızı
GPX	: Glutasyon Peroksidaz
gr	: Gram
GSH	: Redükte Glutasyon
GST	: Glutasyon S-Transferaz
G6PD	: Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz
HDL	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein
HLA	: Human Lökosit Antijenleri
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
ISKDC	: Uluslararası Çocukluk Çağı Böbrek Hastalığı Çalışması
İNS	: İdiyopatik Nefrotik Sendrom
kg	: Kilogram
KNS	: Konjenital Nefrotik Sendrom

LDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
MDA	: Malondialdehit
MezPGN	: Mezengialproliferatif Glomerülonefrit
MGN	: Membranöz Glomerülonefrit
MLH	: Minimal Lezyon Hastalığı
MnSOD	: Manganez Süperoksit Dismutaz
MPGN	: Membranoproliferatif Glomerülonefrit
MTS	: Mitokondrial Hedefleme Motifi
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
m²	: Metrekare
µg	: Mikrogram
µL	: Mikrolitre
ng	: Nanogram
NO	: Nitrik Oksit
NOS	: Nitrikoksit Sentaz
NS	: Nefrotik Sendrom
OH	: Hidroksil Radikali
O₂⁻	: Süperoksit Radikali
OR	: Odds oranı
ORAK	: Oksijen Radikal Absorbe Kapasitesi
RNA	: Ribonükleik Asit
ROT	: Reaktif Oksijen Türevleri
SBNS	: Steroid Bağımlı Nefrotik Sendrom
SDNS	: Steroid Dirençli Nefrotik Sendrom
SLE	: Sistemik Lupus Eritematozus
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SP	: Selektif Promotör Faktör
SYNS	: Steroid Yanıtlı Nefrotik Sendrom
TAK	: Total Antioksidan Kapasite
TNF	: Tümör Nekroz Faktör
V	: Valin
VLDL	: Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein

TABLO DİZİNİ

Tablo 1. Nefrotik sendromun klinik sınıflaması	5
Tablo 2. Primer nefrotik sendroma yol açan glomerüler lezyonların sınıflaması.....	7
Tablo 3. Serbest oksijen radikalleri.....	19
Tablo 4. Serbest oksijen radikal kaynakları	20
Tablo 5. Patogenezinde serbest oksijen radikallerinin rolü olduğu düşünülen böbrek hastalıkları	23
Tablo 6. Hasta ve kontrol gruplarının genel özellikleri	37
Tablo 7. Steroid dirençli nefrotik sendrom (SDNS) olgularının genel klinik ve demografik özellikleri	39
Tablo 8. Steroid yanıtı nefrotik sendrom (SYNS) olgularının genel klinik ve demografik özellikleri	41
Tablo 9. Steroid dirençli nefrotik sendrom (SDNS) hastalarının özellikleri	43
Tablo 10. Steroid yanıtı nefrotik sendrom (SYNS) hastalarının özellikleri	45
Tablo 11. Sağlıklı kontrol grubu verileri.....	49
Tablo 12. PCR koşulları.....	52
Tablo 13. İNS ve sağlıklı kontrol olgularının MnSOD gen polimorfizmi dağılımı... 54	
Tablo 14. Farklı cins İNS olgularının MnSOD gen polimorfizmi dağılımı.....	55
Tablo 15. İNS ve kontrol grubu erkeklerde MnSOD gen polimorfizmi dağılımı.....	55
Tablo 16. İNS ve kontrol grubu kızlarda MnSOD gen polimorfizmi dağılımı.....	56
Tablo 17. SDNS ve sağlıklı kontrol MnSOD gen polimorfizmi sonuçlarının karşılaştırılması	57
Tablo 18. Steroid dirençli nefrotik sendrom (SDNS) gruplarındaki hastaların karakteristiklerinin karşılaştırılması.....	58
Tablo 19. Hastalığın şiddetine göre oluşturulan SDNS alt grupları ile kontrol grubu MnSOD gen polimorfizminin karşılaştırılması.....	59
Tablo 20. SYNS ve kontrol grubu MnSOD gen polimorfizmi sonuçlarının karşılaştırılması	60
Tablo 21. Steroide yanıtı nefrotik sendrom (SYNS) gruplarındaki hasta özellikleri	61
Tablo 22. SYNS alt grupları ile kontrol grubu arasında MnSOD gen polimorfizmi ilişkisi	62
Tablo 23. SYNS ve SDNS MnSOD gen polimorfizmi sonuçlarının karşılaştırılması	63

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. İlerleyici böbrek hasarı ve proteinlere karşı glomerüler geçirgenliğin artması.....	15
Şekil 2. Oksidan ve antioksidan sistemlerin şematik sunumu	17
Şekil 3. Moleküler oksijenden reaktif ara ürünlerin oluşumu.....	19
Şekil 4. Manganez süperoksid dismutaz geninin şematik görünümü	29
Şekil 5. Manganez süperoksid dismutaz geninin promotör bölgesi.....	29
Şekil 6. MnSOD'un alt ünitesinin zincir yapısı	30
Şekil 7. MnSOD'un tetramer yapısı.....	30

1. GİRİŞ

Nefrotik sendrom, çocukluk yaş grubunda sık görülen böbrek hastalıklarından biri olup ödem, proteinüri, hipoalbuminemi ve hiperlipidemi ile karakterizedir. Çocukluk çağı nefrotik sendrom (NS) nedenlerinin yaklaşık %90'ını, idiyopatik nefrotik sendrom (İNS) grubunda yer alan steroide yanıtı (SYNS) ve steroide dirençli nefrotik sendrom (SDNS) oluşturur. SYNS ve SDNS hasta gruplarında histopatolojik olarak minimal lezyon hastalığı (MLH), fokal segmental glomerüloskleroz (FSGS) ve diffüz mezangial proliferasyon (DMP) olgularına rastlanır (1). SYNS ve SDNS hastalarında her üç patolojiye de rastlanabilmekte ancak SYNS hastalarının önemli bir bölümünü MLH, SDNS hastalarının ise FSGS oluşturur. Ancak 1-8 yaşları arasında steroide duyarlı olan nefrotik sendrom hastalarına böbrek biyopsisi yapılmadığı için, bu grup hastaların gerçekte histopatolojik tanıların ne olduğu kesin olarak bilinmez.

SYNS ve SDNS steroid tedavisine verdikleri yanıt yanında, klinik seyir ve son dönem böbrek yetmezliğine (SDBY) ilerleme yönünden de farklıdır. Kendi içinde farklı hastalık ve klinik tablolara yol açabilir. SYNS hastaları arasında steroide kısa sürede yanıt verip az relaps yapanların yanında, steroide bağımlı ya da sık relaps yapanlar da olabilir. FSGS, SDNS'ye en sık neden olan histopatolojik lezyondur. Steroid tedavisine yanıt verebileceği gibi hiçbir tedaviye yanıt vermeyerek yıllar içinde böbrek yetmezliğine yol açabilir (2).

İNS etyolojisi ve patogenezi kesin olarak aydınlatılamamıştır. SDNS'li hastaların klinik seyri ve prognozu açısından literatüre bakıldığında kesin veriler bulunmamaktadır (1). Klinik olarak en iyi bilinen prognostik kriter "remisyonda kalma" olmasına rağmen remisyon döneminde bile bazı hastaların böbrek fonksiyonlarında azalmaya rastlanabilir (3). SYNS için de benzer durum söz konusu olup elimizde belirleyici kriter bulunmamaktadır. Seyri çok değişken olup bazen uzun yıllar sık relapslarla gidebileceği gibi bazen de birkaç relaps sonrasında tamamen remisyonda seyredebilir.

DeneySEL ve klinik çalışmalarda NS'de böbreklerde artmış oksidan stres gösterilmiştir. Renal oksidan stresin artışı reaktif oksijen türevlerinin artışına ya da lokal antioksidanların azalmasına bağlı meydana gelir (4-7). En önemli hücre içi

antioksidan enzim süperoksit dismutazdır. Manganez süperoksit dismutaz (MnSOD) ise mitokondrial izomeri olarak bilinir ve renal dokuda ya da periferik mononükleer hücrelerde antioksidan enzim olarak görev yapar. Mitokondri dahilindeki süperoksit radikallerini temizleyen tek enzimdir ve oksidatif strese karşı esas savunmayı sağlar. Hücre içinde yer alan enzim konsantrasyonu MnSOD gen polimorfizmi ile belirlenir (8).

Gen polimorfizmi, belirli gruplarda belli sayıdaki allel varyasyonlarının olabilmesi şeklinde tanımlanır. MnSOD geni kromozom 6q25.3'de lokalizedir. Beş ekson ve 4 introndan oluşur. Polimorfiktir ve insanda iki fonksiyonel varyantı bulunmaktadır. İlk varyant olan ve bizim de çalışmamızda incelediğimiz Ala-9 Val ekson-2' de yer almaktadır. Bir baz çiftinin (C→T) transisyonu ile oluşmakta ve 9. pozisyondaki alaninin(GCT)-valine (GTT) dönüşümünü içermektedir. Sitozinin timin ile yer değişimi intrasellüler trafiği hatalı yönlendirir. Bu değişim proteinin ikincil yapısını α -sarmal yapıdan β -plaka şekline dönüştürebilir. Alfa heliks yapısı prekürsör proteinlerin mitokondri içine etkin transportu için önemlidir. Dokuzuncu aminoasitteki bu değişim (Ala/Val) ile mitokondri iç membranındaki reseptörün bu protein ile daha az etkileşime girmesine, mitokondriye transportunun yavaşlamasına neden olabilir. Dolayısıyla MnSOD aktivitesi değişerek mitokondriyal elektron transport zincirinde üretilen reaktif oksijen türlerine karşı etkin mücadele sağlanamaz (8).

MnSOD gen polimorfizmi ile böbrek hastalıkları arasındaki ilişki birçok çalışmaya konu olmuştur. Diyabetli hastalarda nefropati gelişimi ile VV genotip arasında anlamlı ilişki olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (9-12.). Ayrıca VV genotipinin ürolityazis gelişimine katkı sağladığını vurgulayan çalışmalar da bulunmaktadır (13). VV genotipte olan sistemik lupus eritematozus olgularında da renal tutulumun arttığı bildirilmiştir (14,15).

SDNS'nin bazı etnik gruplarda prevalansının yüksek olması, klinik seyrinin değişkenlik göstermesi ve ailevi formlarının olması hastalığın sıklık ve seyrini etkileyen genetik faktörlerin olabileceği düşüncesini doğurmaktadır. Oksidatif hasarı belirleyen faktörlerin genetik olarak belirlenmesi, bireyler arasında polimorfizm göstermesi SDNS olgularının sıklık ve klinik seyrindeki farklılıkların bir nedeni

olabilir. SYNS ve SDNS'nin sıklığı, şiddeti ve farklı klinik tablolara yol açması ile MnSOD gen polimorfizmi arasındaki ilişkinin değerlendirildiği çalışmalara literatürde rastlanmamıştır.

Bu çalışma da, SYNS ve SDNS hastalarında MnSOD A/V gen dağılımını belirlemek ve sağlıklı kontroller ile karşılaştırmak, MnSOD gen polimorfizmi ile hastalığın klinik bulguları ve prognozu arasındaki ilişkiyi değerlendirmek amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Nefrotik Sendrom

Nefrotik sendrom (NS), çocukluk çağının en sık görülen böbrek hastalıklarından biridir (1,16). Glomerüler filtrasyon bariyerindeki yapısal ve fonksiyonel anormallikler sonucunda gelişen masif proteinüri (>40 mg/m²/saat), ödem, hipoalbuminemi ($<2,5$ g/dL) ve hiperlipidemi ile karakterize bir klinik tablodur (17-19).

2.1.1. Epidemiyoloji

NS'nin tahmini yıllık insidansı 100 000 çocukta 2-7 vaka aralığındadır (17,20-23). Prevelansı ise her 100 000 çocukta yaklaşık 16 vakadır veya bir başka deyişle 6000 çocukta 1'dir (17,20). Çocukluk çağında erkek kız oranı 2/1 iken adölesan ve erişkin yaş gruplarında kız ve erkeklerde hastalık eşit oranda bildirilmektedir (17,20). Görülme sıklığı coğrafi bölgeler ve ırka göre de farklılık göstermektedir.

Sıklıkla 2-6 yaş arasında başlar ve pik yaptığı yaş 2 yıldır (17,20). Ayrıca başlangıç yaşı NS'ye neden olan histolojik lezyonun tahmini açısından da önemlidir. Minimal lezyon hastalığı (MLH)'nin %80'i 6 yaş öncesinde başlamaktadır. MLH'nin bulunuş medyan yaşı 3, FSGS'nin 6, MPGN'nin 10'dur (24). Bu bulgular, MLH'nin başlangıcının artan yaşla düştüğünü, daha az görülen FSGS ve MPGN tanı yaşlarının olası artışlarını göstermektedir (24,25).

2.1.2. Etyoloji

Çocukluk yaş grubu NS'nin büyük çoğunluğunu İNS oluşturmaktadır. Ancak, NS etyolojisi yaş bağımlı olarak da tanımlanır. Yaşamın ilk 3 ayında görülen NS, konjenital NS (KNS) olarak adlandırılır ve çoğunlukla genetik kökenlidir. 3-12 ay arasında gözlenen NS ise infantil NS olarak adlandırılır ve etyolojisinde %40 genetik nedenler söz konusudur (19,26).

İNS yaşamın birinci yılından sonra artarken, sekonder NS olgularına 10 yaş sonrasında rastlanır.

Ayrıca İNS'nin ailesel kalıtımı oldukça iyi bilinen bir fenomendir. Hasta çocukların %2-8 kadarında aile bireylerinde en sık da kardeşlerde NS öyküsü vardır. (16). Bozukluk aynı yaş grubundaki kardeşlerde benzer biyopsi bulgularıyla ve klinik sonuçlarla oluşma eğilimindedir (27). NS'nin, HLA-DR7, HLA-B8 doku gruplarıyla da ilişkisi vardır. Atopisi olan çocuklarda HLA-B12 doku grubu birlikteliği olduğunda NS riski 13 kat artmaktadır (28).

2.1.3. Sınıflandırma

NS klinik görünüm, morfolojik ve tedaviye verdiği cevaba göre sınıflara ayrılabilir (29).

2.1.3.1. Klinik Sınıflama

Birçok farklı böbrek hastalıkları NS'ye neden olabilir. Bu hastalıklar primer ve sekonder olarak 2 sınıfa ayrılırlar.

Tablo 1. Nefrotik sendromun klinik sınıflaması (30,31)

<p>I-Primer NS</p> <p>1- İdiyopatik NS</p> <ul style="list-style-type: none"> • Minimal lezyon hastalığı (MLH) • Mezengial Proliferatif glomerulonefrit (MezPGN) • Fokal segmental glomerulonefrit (FSGS) <p>2-İmmünkompleks glomerulonefrit</p> <ul style="list-style-type: none"> • Membranöz glomerulonefrit (MGN) • Menbranoproliferatif glomerulonefrit (MPGN) • Akut poststreptokoksik glomerulonefrit (APSGN) <p>3-Konjenital NS</p> <p>II- Sekonder NS</p> <p>1- Sistemik hastalıklar: Henoch-Schönlein purpurası, sistemik lupus eritematozis (SLE), vaskülitler, Goodpasture sendromu, dermatomyozit, amiloidoz, sarkoidoz, romatoid artrit.</p> <p>2- Sistemik enfeksiyonlar: Hepatit B, konjenital ve sekonder sifiliz, şant enfeksiyonu, bakteriyel endokardit, sıtma, varisella, AIDS, poststreptokoksik glomerulonefrit, lepra, şistozomiazis, enfeksiyöz mononükleoz</p> <p>3- Heredofamilyal hastalıklar: Orak hücreli anemi, diyabetes mellitus, Alport sendromu, nail patella sendromu</p> <p>4- İlaçlar: Altın tuzları, nonsteroid antiinflamatuar ilaçlar (NSAID), tridion, kaptopril, eroin, d-penisilamin, civa bileşikleri</p> <p>5- Neoplaziler: Hodgkin hastalığı, lenfomalar, lösemiler, karsinomalar, melanomlar, Wilms tümörü</p> <p>6- Diğerler: Arı sokması, aşılama, tiroidit, miksödem, malign obezite</p>

Primer NS, sistemik bir hastalıkla birlikte olmayıp etyolojisinin belli olmadığı durumdur. Çocuklarda görülen NS'nin yaklaşık %90'ının nedeni primer glomerüler hastalıklardır. Çocukluk çağındaki en sık primer NS nedeni İNS'dir ve bu gruptaki NS'lerin %85'ini oluşturmaktadır (20,32). İNS hastalarının %85'i MLH olup steroide iyi yanıt verip relapslarla seyrederken, %10'u FSGS, %5'i mezengial proliferasyondur (1,33-35), steroide yanıt oranları düşüktür (29,36,37). Sekonder NS ise daha az sıklıkta görülmekte olup sistemik bir hastalık, kalıtsal böbrek hastalıkları, ilaç ya da toksinlere bağlı olarak gelişebilir (20).

İNS'de hastalığın ortaya çıkması veya tekrarlaması bir üst solunum yolu enfeksiyonu, idrar yolu enfeksiyonu ya da allerjenle karşılaşmayı takiben meydana gelir (38). Hastaların %30'unda aşırı inek sütü tüketimi, canlı aşilar ile aşılama, polen-toz alerjisi, arı sokması gibi allerjenlerle karşılaşma öyküsü mevcuttur (39).

2.1.3.2. Tedaviye Yanıtı Göre Sınıflama

Hastalığın erken evresinde benzer histopatolojik değişiklikler gözleendiği için İNS'nin sınıflamasında steroid tedavisine verilen yanıtı göre yapılan sınıflama pratikte daha kabul görmüştür.

Uluslararası Çocukluk Çağı Böbrek Hastalığı Çalışması'nda (ISKDC), NS'yi steroide verdiği yanıtı göre steroid yanıtı NS (SYNS), steroid dirençli NS (SDNS) ve steroid bağımlı NS (SBNS) olmak üzere üç sınıfa ayırmıştır (33). SDNS yaklaşık %10 oranında bildirilse de (40,41) günümüzde İNS'li çocukların %27'si SDNS olarak tanımlanmaktadır (42).

NS'un steroid tedavisine olan yanıtına göre hastanın klinik durumunu değerlendirmek için bilinmesi gereken bazı tanımlamalar vardır(19).

Steroid Dirençli Nefrotik Sendrom (SDNS): ISKDC'ye göre (41), dört hafta boyunca 60 mg/m²/gün (2 mg/kg/gün) prednizolon tedavisine rağmen remisyon olmamasıdır (43).

Steroid Yanıtı Nefrotik Sendrom (SYNS): 60 mg/m²/gün prednisolon tedavisinin 4 hafta kullanılması ile idrar proteininin ardışık 3 gün ya da 1 hafta içinde bakılan 3 ayı idrar tetkikinde ≤ 4 mg/m²/saat olması veya dipstik ile negatif veya eser olmasıdır.

ISKDC verilerine göre NS'li hastaların %78'inin steroide yanıt verdiği ve bunların da %92'sinin MLH olduğu bildirilmiştir (16,17,20). En sık görülen İNS nedeni olan MLH steroide %85-90 oranında yanıt verirken, FSGS'de %30, MPGN'de %5 civarında steroid yanıtı mevcuttur (2,29,37,44).

2.1.3.3. Histopatolojik Sınıflama

Glomerüler hastalıklar ışık mikroskopundaki bulgulara göre sınıflara ayrılırlar (45). Bu bulgular daha sonra immünofloresan ve elektron mikroskopik incelemeler ile desteklenmektedir.

NS'un histopatolojik sınıflaması Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Primer nefrotik sendroma yol açan glomerüler lezyonların sınıflaması (45)

1- Minimal Lezyon Hastalığı (MLH)
2- Fokal Glomeruloskleroz (FGS)
• Fokal Segmental Glomerulosklerozis (FSGS)
• Fokal Global Glomerulosklerozis (FGGS)
3- Mezengial Proliferasyon (MezPGN)
• Pür Diffuz Mezengial Proliferasyon
• Sklerozan Glomerulonefritis
4- Membranoproliferatif Glomerulonefrit (MPGN)
• Tip-I MPGN; Subendotelyal depolanma
• Tip-II MPGN; İntramembranöz dens depozitler
• Tip-III MPGN; Transmembranöz depolanma
5- Membranöz Glomerulonefrit (MGN)
6- Kronik glomerulonefrit

2.1.3.3.1. Minimal Lezyon Hastalığı (MLH)

Çocukluk çağı İNS'lerin %85'ini oluşturur (1). MLH' li çocukların %60'ının 2-6 yaş arasında olduğu gösterilmiş olup ortalama görülme yaşı 2,5 yıldır (16,17,20). Steroide %85-90 oranında yanıt verir (2,29,37,44). Bu nedenle steroide yanıtı nefrotik sendromla (SYNS) eşdeğer anlamda kullanılmaktadır. Az sayıda da olsa bazı MLH olguları steroide cevap vermezken bir grup steroide duyarlı olgu da MLH dışında histopatolojik özellikler göstermektedir. ISKDC verilerine göre SYNS

olgularının %95'inin, SDNS'lerin ise %45'inin MLH histolojisinde olduğu belirtilmiştir (33).

Işık mikroskopisinde histolojik olarak belirgin glomerüler ya da tübüler anormallik yoktur ya da minimal değişiklik mevcuttur. Erkeklerde kızlara oranla 2 kat daha sıktır. İmmüno Floresan mikroskopta IgG, IgM ve C3 görülebilir. Elektron mikroskopuyla bakıldığında epitelyal hücrelerin ayakları çıkıntılarında (podosit) silinme olduğu görülmüştür (17,46,47).

Patogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır. Temel değişiklik glomerüler bazal membranın negatif elektrik yükünün kaybolması ile idrara albumin geçişi olmaktadır. Bazı yayınlarda MLH'de humoral ve hücreli immün sisteme ait kalitatif ve kantitatif anormalliklere işaret edilmiştir. MLH'de düşmüş immünglobulin G (IgG) ve normal ya da artmış immünglobulin M (IgM) belgelenmiştir (48). Serum IgG düzeyinin düşüklüğünü sadece idrardan kayıp ile açıklamak mümkün olmamıştır. Nitekim uzun süreli remisyonlarda da IgG düzeyi normale göre hafif düşük kalmaktadır. Ayrıca relaps sırasında IgG alt sınıflarında asimetrik değişiklikler gösterilmiştir (49). MLH'de serum kompleman düzeylerini normal bulan çalışmalar olduğu gibi relaps sırasında C3 ve C4'ün yükseldiğini öne sürenler de vardır (50). Ek olarak relaps dönemlerinde faktör B ve faktör D seviyelerinde düşüş saptanmıştır (51). Bu düşüş idrardan kayıplar ile ilişkilidir ve sonuçta kapsüllü mikroorganizmaların opsonizasyonunda bozukluklara ve enfeksiyona eğilime yol açar (52). B hücre fonksiyonlarında anormalliklerin gösterilmesine rağmen patogenezi rollerinin büyüklüğü kesin değildir (48).

Klinik görünümün immüno-supresif tedavi ile tam olarak iyileşebilmesi nedeniyle patogenezi immünolojik bir nedenin sorumlu olduğu düşünülmüştür. Daha çok hücreli immünite ile ilişkili olan immün disfonksiyon tanımlanmaktadır (53-55). Shalhaub 1974'de ilk defa T lenfosit fonksiyon bozukluğunun İNS'ye neden olabileceğini düşünmüştür. Shalhaub'un hipotezine göre, klonal T hücre popülasyonunun glomerüler filtrasyon bariyerinin geçirgenliğini artıran çözünebilir mediyatörler üretmektedir.

Potansiyel olarak, NS'de hücre aracılı immün sistemin önemli bir rolü relaps sırasında baskılanmış hücre aracılı immünite ile daha fazla desteklenmiş

olup (56), yine relapslar sırasında T hücre alt kümelerindeki değişiklikler (57,58) ve hücre yüzeyindeki interlökin 12 (IL-12) reseptörlerin artışının gösterilmesi ile T hücre aktivasyonuna ayna tutulmuştur (57). NS'de T lenfosit köklerindeki sayısız sitokindeki değişimler de bildirilmiştir. Humoral immünite ile ilişkili olan ve T lenfositlere antijen sunulması sonucu salınan interlökin-4 (IL-4), interlökin-10 (IL-10) ve interlökin-13 (IL-13)'ün MLH' de daha çok salındığını ve bunların glomerüler geçirgenliği etkilediği belirtilmiş ancak net olarak gösterilememiştir (59-61). T lenfositlerdeki bu fonksiyonel anormalliklerin çoğu spesifik değildir ve bir neden olmasından daha çok hastalığın etkisi neticesinde de oluşabileceği unutulmamalıdır (62).

MLH, teşhisin başlangıcında renal biyopsi yapılan çocuklarda en sık rastlanan histolojik lezyondur (63). Bazı durumlarda FSGS'nin, sklerotik lezyonundan önce gerçekleşebilir. Bu vakaların MLH'nin FSGS'ye transformasyonunun gerçek bir göstergesi mi olduğu, yoksa erken FSGS biyopsilerinde renal dokunun etkilenmemiş bölümünü mü temsil ettiği tartışılır. Bu risk 10 glomerülün alındığı biyopside %35 iken 20 glomerüllü bir biyopside %12'ye düşer (63,64).

2.1.3.3.2. Fokal Segmental Glomerüloskleroz (FSGS)

İNS'li hastaların %10'unu oluşturur (1). En sık okul öncesi dönemde görülür. Ortalama görülme yaşı 6 yıldır (16,17,20). Erkeklerde daha sık rastlanır (16,17). Steroid tedavisine direnç oldukça yüksektir (65).

Glomerüler hastalık düzensiz dağılım gösterir. Renal biyopsilerde birçok glomerül normalken, bazı glomerüllerde skleroz saptanır (fokal). Skleroz ilgili glomerülün yalnızca bir bölümünde görülür (segmental). Etkilenen glomerüller daha çok jukstamedüller bölgededir (66,67).

FSGS glomerülofritinin patogenezi dört kategoriye bölünebilir,

- Podosit yaralanması
- Genetik mutasyonlar
- Çözünbilir mediatörler
- Hemodinamik faktörler (16)

Podosit yaralanması immünolojik, toksik ya da inflamatuvar nedenlerle oluşur. Tipik olarak glomerüler bazal membran boyunca podositik hiperplazi meydana gelir (68,69). Çok sayıda podositin ya da podosit ilişkili proteinlerin mutasyonlarının FSGS gelişiminde önemli role sahip olduğu gösterilmiştir.

Çözünbilir mediatörlerin FSGS'li hastaların bazı formlarında önemli olduğu görülmüştür. Yapılan bazı çalışmalarda immün yüzeye tutunan protein A'nın kullanımıyla proteinürinin azaldığı gösterilmiştir (70). Transplantasyondan sonra tekrarlayan nefrotik sendromun gelişimi, sirkülasyondaki faktörlerin silinmesiyle immün yüzeye tutunan protein A'ya cevaptır (71).

Hemodinamik faktörlere bakıldığında FSGS'de oluşan glomerüler hipertansiyonun kapiller geçirgenlik ve artmış transglomerüler basıncıda içeren podosit üzerindeki mekanik strese bağlı olarak ortaya çıktığı öne sürülmüştür (72,73). Bu mekanik gerginliğin podosit hipertrofini uyardığı güncel olarak gösterilmiştir (74).

Fokal global glomerüloskleroz (FGGS), tutulan glomerüllerin total sklerozu ile karakterize olup MLH ile FSGS arasında yer alır. Progresif olup FSGS'ye göre daha iyi huyludur (75,76). FSGS'nin kollapsing varyantı ya da kollapsing glomerülopatinin patogenezi ise tam olarak bilinmemektedir. Genellikle epitelyal kresent formasyonunu taklit eden glomerüllerin kompresyonuyla birlikte görülen belirgin podosit hiperplazisi ile karakterizedir (16).

2.1.3.3.3. Mezengial Proliferatif Glomerülofrit (MezPGN)

İNS' nin %5'ini oluşturur (24,65). Çocuklarda mikroskopik hematüri (%100) ve hipertansiyon (%25) görülür (77). MezPGN hastalarının %70'inde steroide direnç vardır. Mezengial hücre dansitelerinde orta ve belirgin bir artış (mezengial proliferasyon), kapiller luplarda obliterasyonla beraber artmış mezengial matriks (skleroz), lökosit infiltrasyonu (eksudasyon) ve fibroepitelyal proliferasyon (kresent ve adezyon) birlikte bulunur. İmmünofloresan mikroskopu ile inceleme genellikle negatiftir ancak mezengial IgM birikimi gözlenebilir (16,29,45).

2.1.4. Nefrotik Sendromun Patofizyolojisi

Proteinüri: Glomerüler filtrasyon bariyerinin geçirgenliğinin artması sonucu oluşan proteinüri NS'nin primer bozukluğudur (29). Glomerüler kapiller lümeninden plazma proteinlerinin geçişi glomerüler filtrasyon bariyerinin anatomik ve elektrostatik mekanizmaları ile önlenir (16).

Glomerüler filtrasyon bariyeri, endotelial hücre, glomerüler bazal membran ve epitelyal hücre olmak üzere 3 tabakadan oluşur. Çapı 20 Å'den küçük olan moleküller bu bariyerlerdeki fonksiyonel porlardan serbestçe geçebilir ancak 20-40 Å arası olan moleküller için kısıtlı bir geçiş söz konusudur. Çapı 42 Å'den büyük olan moleküller glomerül bazal membran bariyerinden geçemezler (16).

Filtrasyon bariyeri, özellikle glomerüler bazal membran ve epitel hücrenin içerdiği sialoglikoprotein ve proteoglikanların varlığına bağlı olarak anyonik elektrostatik yüke sahiptir. Bu durum plazma proteinleri ve diğer makromoleküllerin kapiller lümeninden kaçışını önleyen önemli bir faktördür. Heparan sülfat proteoglikanların ortadan kalkmasıyla albumin gibi negatif yüklü moleküllerin geçişi kolaylaşır ve albuminüri ortaya çıkar (20). Bazı moleküller heparan sülfatı hasara uğratarak glomerüler filtrasyon bariyerinin geçirgenliğinin bozulmasına neden olur. Bu hasar kısmen de olsa serbest oksijen radikalleri tarafından olmaktadır (40,78).

Ayaksı çıkıntılardaki (podosit) visseral epitelyal hücrelerin organizasyonunda rolü olan glomerüler sialoprotein de glomerüler filtrasyon bariyerinin negatif yükünden sorumludur (16,17). NS'de görülen ödem hipoalbuminemi ve albuminüri sonucunda oluşur (79).

İdrarla albumin kaybının yanısıra immünglobulinler gibi plazma proteinleri, antitrombin III, plazminojen, antiplazmin gibi çeşitli koagülasyon faktörleri, vit-D bağlayıcı protein, transkörtin, tiroksin bağlayıcı globulin ve metalloproteinler de idrarla kaybedilirler (2,29).

Sağlıklı çocuklarda 24 saatte idrarla protein atılımı 100 mg/gün'ü geçmez. NS' de ise glomerüler filtrasyon bariyerinin bozulması sonucu gelişen proteinüri oldukça şiddetli olup çocuklarda 40 mg/m²/saat'in, yetişkenlerde 3,5 gr/gün'ün üzerindedir (2,29).

Hipoalbuminemi: NS'de masif proteinüriye sekonder olarak hipoalbuminemi oldukça sık rastlanan laboratuvar bulgusudur (29,36,79). Hipoalbumineminin şiddeti hastadan hastaya farklılık gösterir. NS'li hastalarda karaciğerden albumin sentezi normal hatta artmıştır. Ancak albumin katabolizmasında artış vardır. Bunun nedeni, filtre olan büyük miktardaki albuminin tübüler reabsorbsiyonuna ve aminoasitlere katabolizma olmasından kaynaklanmaktadır (16,80). Tedaviye uzun süre cevap vermeyen proteinürili çocuklarda protein ekskresyon hızında değişiklik olmaksızın serum albumin seviyesi normal ya da normale yakındır (16,45). Bunun dışında serum albumin düzeyi 0,5-2,5 gr/dL arasında değişmektedir. Plazmada diğer protein içeriklerinde de çeşitli düzeylerde değişiklik saptanır. Azalmış γ -globülin, normal ya da düşük α 1-globülin, α 2 ve β -globülin ile fibrinojen seviyesinde artış olmaktadır (16,80).

Ödem: Ödem, çocuklarda ve yetişkinlerde NS'nin temel klinik bulgusudur (16,29,36,45). Hipoalbuminemi sonucu damar onkotik basıncın azalması, kapiller damarlardaki su ve solütlerin derialtı doku içine geçmesiyle gelişir. İntravasküler volüm azalması, renin-anjiotensin-aldosteron sistemini aktive ederek su ve tuz tutulumuna katkıda bulunur (underfilling teorisi) (16,80). Bazı nefrotik sendrom olgularında intravasküler volümün normal ya da artmış olması ve plazma renin aktivitesinde artış olmaması NS'de görülen ödemin gelişiminde başka faktörlerin de rolü olabileceğini düşündürmektedir. Bu olaylarda sodyum tutulumunun intrarenal mekanizmalarla meydana geldiği düşünülmektedir (overfilling teorisi) (16,45).

Hiperlipidemi ve Hiperlipoproteinemi: NS'de kolesterol, trigliserid, fosfolipid ve yağ asitlerinin plazma konsantrasyonu artmıştır (16,81). Serum albumin ile serum kolesterol düzeyleri arasında ters ilişki vardır (16). Trigliseridlerin seviyesi değişken olup, hafif hipoalbuminemide normal aralıkta bulunabilir (82,83). Hipoalbuminemi sonucunda onkotik basınç azalır ve karaciğerde lipid ve lipoprotein sentezini tetikler (16,20). Konjenital hipoalbuminemide de hiperlipidemi gelişir. Bu durum renal hastalığın tek başına hiperlipidemiden sorumlu olmadığını akla getirir. NS'de görülen lipid ve lipoprotein değişiklikleri temel olarak karaciğerdeki artmış sentezden ve azalmış lipid katabolizmasından kaynaklanmaktadır (16). Artmış sentez genellikle albumin sentezinin artışıyla birlikte. Çünkü lipoproteinler ve albumin birbirine çok yakın metabolik yollarla karaciğerde sentezlenmektedir. Serum albumin

seviyesi, albumin infüzyonuyla ya da spontan olarak düzeldiği zaman lipid anormallikleri de düzelmektedir (79).

2.1.5. İlerleyici Nefropatilerde Fizyopatoloji

Proteinüri ile seyreden böbrek hastalıklarında ilerleyici glomerüloskleroz ve tübülointerstisyel hasara bağlı glomerüler filtrasyon oranı azalır (84). Böbrek kitlesi veya fonksiyone nefron azaldığı zaman, kalan nefronlar hipertrofiye uğrarlar. Arteriolar direnç düşürülerek böbrek plazma akımı artırılmaya çalışılır. Afferent arteriyolar tonus efferent arteriyolar tonusa oranla daha çok azalır ve sonuç olarak glomerüler kapillerler de hidrostatik basınç artar ve her bir nefron başına düşen glomerüler filtrat miktarı artırılır (hiperfiltrasyon). Bu değişiklikler ile geriye kalan nefron, kaybın fonksiyonel sonuçlarını karşılamaya ve gidermeye çalışır. Ancak bu mekanizmalar bir noktadan sonra zararlı hale gelir ve bu yeni duruma uyum sağlamak amacıyla oluşan değişiklikleri önleyen, azaltan tedaviler glomerüler filtrasyon hızındaki (GFR) artışı sınırlar ve parankimal hasarı ve nefron kaybını azaltır (85,86).

NS'li hastalarda, reaktif oksijen türevlerinin (ROT), proteinüri ile ilişkisi birçok çalışmada kanıtlanmıştır (5,87). Ancak proteinüri ile ROT arasındaki sebep sonuç ilişkisi henüz tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Klinik ortamda ROT'nin proteinüri üzerine olan etkisini direkt olarak gösterme olanağı olmasa da kanda doğal antioksidanların varlığı, insanda serbest radikal reaksiyonlarının mevcudiyeti hakkında indirekt bilgi sağlayabilir (88).

Deneysel çalışmalarda filtre olan proteinlerin proksimal tübülus hücreleri tarafından reabsorbe edilerek sitoplazmada biriktiği, bu hücrelere ait bazal membranlarda kırılmalar olduğu, içeriğin interstisyuma ekstravazyonu ile inflamatuvar bir reaksiyon geliştiği ve sonucunda böbrek hasarının olduğu gösterilmiştir (89). Proksimal tübülus hücreler, süzülen proteinleri endositoz yoluyla tutar. Bu durum da nefrotoksik etki oluşturan karmaşık bir sürecin başlamasına yol açar (90).

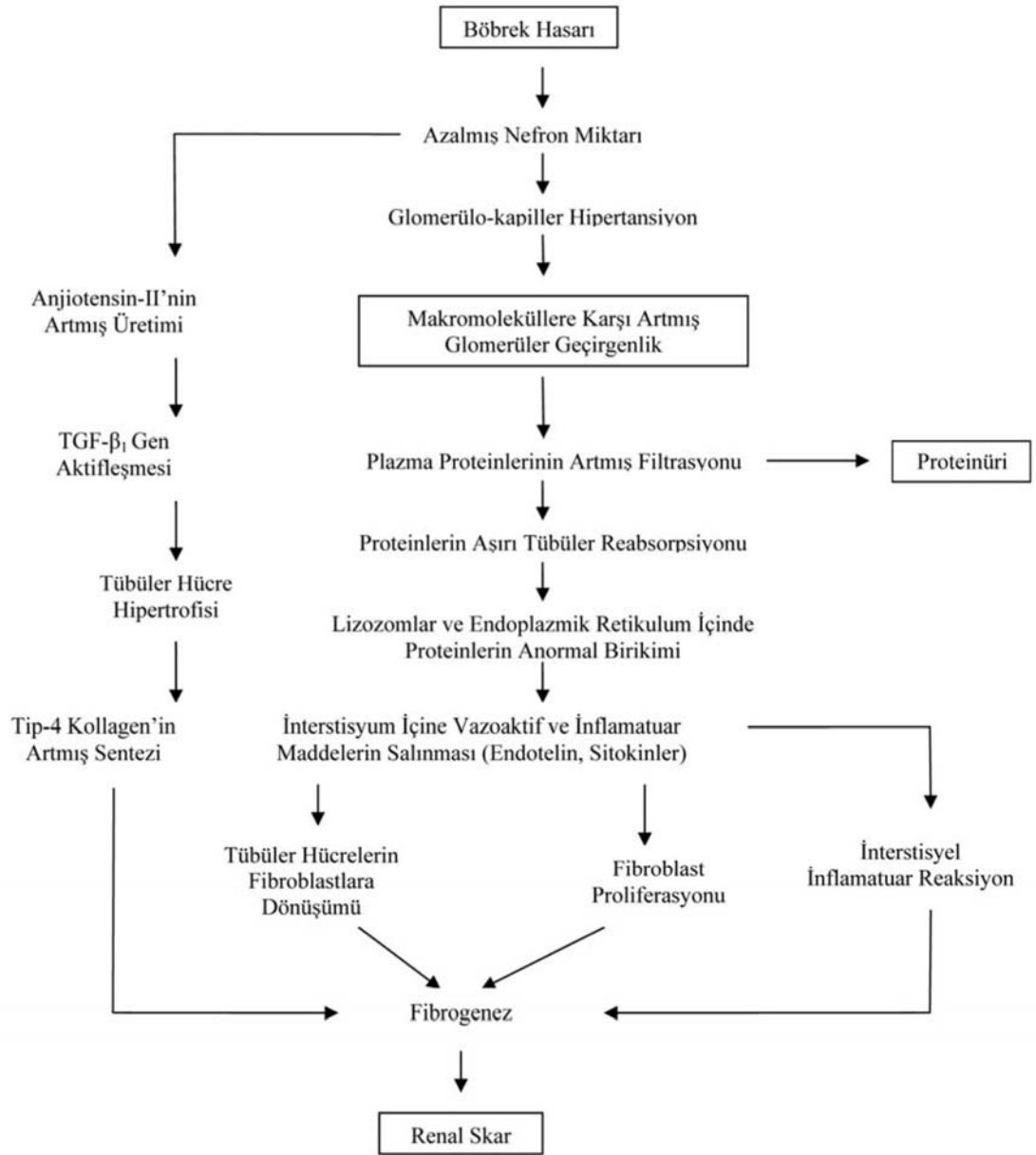
Sonuç olarak nefron kaybına bağlı ortaya çıkan hemodinamik değişiklikler önce proteinüriye, proteinüri de daha fazla nefron kaybına yol açar ve kısır döngü

oluşur. Glomerülopatilerde artmış protein atılımı, monosit ve lenfositlerin interstisyel infiltrasyonuna neden olmaktadır. Glomerüller tarafından filtre edilen proteinler, belli bir süreç sonunda tübülointerstisyumda hasara yol açarak renal skar oluşumuna yol açmaktadır. Masif proteinüri ile seyreden ve tedaviye yanıt vermeyen FSGS'li hastalarda prognozun kötü olmasının nedeni proteinürinin yol açtığı ilerleyici nefron hasarı olabilir. Nondiyabetik proteinürik böbrek hastalıkları arasında, protein atılımının en fazla olduğu olgularda, primer hastalıktan bağımsız olarak böbrek hastalığının hızla ilerlediği gösterilmiştir (91).

MLH'li olgularda proteinürinin steroid tedavisi ile hızla düzeltilmesi interstisyel inflamasyonu ve böbrek fonksiyonlarındaki bozulmayı önler. Yine bu hastalarda relaps sayısı az olduğu için ilerleyici böbrek hasarına karşı korunurlar. Ancak FSGS hastalarına bakıldığında steroid ve sitotoksik ilaçlara yeterli cevap vermediğinden ve sık relaps olması nedeniyle ilerleyici böbrek hasarının gelişme riski oldukça yüksektir (92).

Bunun yanında tedaviye dirençli ve proteinürinin devam ettiği MLH'de de belli bir süre sonra böbrek hasarı gelişmesi ve böbrek fonksiyonlarında azalma olması kaçınılmazdır (80,84). Bazı hastalarda tekrarlanan biyopsiler ile zaman içinde glomerüloskleroz, interstisyel enflamasyon ve fibrozisin geliştiği ve arttığı görülmektedir. MLH olguları, "proteinürinin kaybolması ile böbrek hasarından korunma" ve "devam eden proteinüri ile böbrek hasarı oluşma" arası ilişki için iyi bir örnektir (84).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda nefrotik sendromun oksidan ve antioksidan aktivite arasında dengesizlik sonucu da gelişebileceği ileri sürülmektedir. Bu durum NS'li hastalarda proteinüri ve diğer komplikasyonların gelişimine katkı sağlamaktadır (78). Böbrek hücreleri, nötrofiller ve dolaşımdaki diğer hücreler ROT'lerin kaynağı olabilir (93). Tübüler epitelyal hücrelerin yapısal bütünlüğünü bozan ROT'ler GBM'de lipid peroksidasyonuna neden olup hücre hasarını tetikler ve glomerüler hemodinamiği bozarak proteinüriye neden olabilir (94).



Şekil 1. İlerleyici böbrek hasarı ve proteinlere karşı glomerüler geçirgenliğin artması

Lipidlerde meydana gelen az miktarda oksidasyon dahi protein oksidasyonunu teşvik eder sonuçta hücre ve doku hasarı gelişir. Bu nedenle lipid peroksidasyonu NS'nin prognozunda önemli bir role sahiptir (78,95). GBM permeabilitesinin bozulması sonucu albumin kaybı gerçekleşir. Serum albumini, bir metal bağlayıcı protein rolü nedeniyle önde gelen koruyucu antioksidan olup hipoalbuminemi hastalığın seyrini önemli derecede etkiler (78,94). Daha önce yapılan çalışmalarda SYNS'li hastalarda ilk ataktaki proteinürik fazda ve relapslarda antioksidan kapasitenin düşük olduğu rapor edilmiştir (94,96,97). Bu nedenle

oksidan ve antioksidanlar arasındaki denge nefrotik sendromlu hastalarda oldukça önemlidir. Antioksidanların, oksidatif hasarı engellemeleriyle proteinürüyü sınırlarlar. Proteinüri miktarı hastalığın ilerlemesini gösteren önemli bir göstergedir.

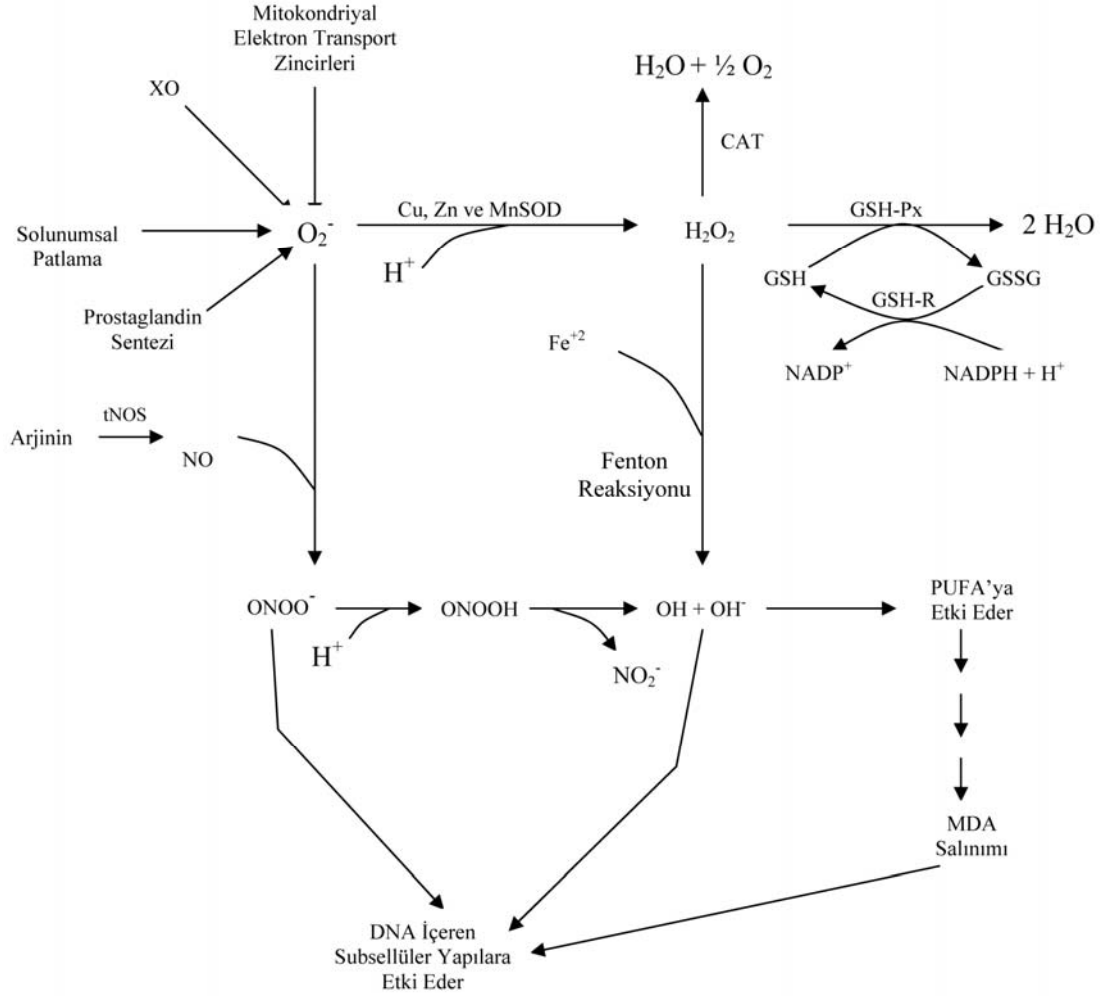
2.2. Oksidatif Hasar ve Antioksidanlar

Serbest radikaller, en dış yörüngelerinde tek sayıda elektron bulunan atom veya moleküllerdir. Organik ve inorganik moleküller halinde bulunurlar. Eğer elektron çiftleşmemiş ise molekül daha reaktif duruma gelir ve kararsızlaşır (98-100).

Organizmada normal fizyolojik şartlarda veya patolojik bir olay sonucunda oluşan serbest radikaller ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin serbest radikaller lehine kayması oksidatif stresi gösterir. Oksidatif stres, vücudun antioksidan savunması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengenin bozulması sonucu oluşur (101). Canlılar oksidatif hasara karşı enzimatik ve nonenzimatik antioksidan sistem ve moleküllerle korunur (102,103).

Serbest radikaller yapıları, fiziksel ve kimyasal özellikleri, hücresel kaynakları, rol oynadıkları tepkimeler ve etkileri ile çeşitli klinik durumların patogeneğinde rol oynarlar. Hücre membranlarındaki doymamış yağ asitlerinden hidrojen atomunun uzaklaşması ile başlayan lipid peroksidasyonu oksidan stresin en tipik göstergesidir (98-100,104,105).

Oksijen türevi radikaller biyolojik sistemin en iyi bilinen serbest radikalleridir. Canlı hücrelerde normal süreçte fizyolojik miktarlarda üretilirler. Aşırı oluştuklarında hücre ve doku hasarına neden olurlar (106,107). Serbest radikaller ile antioksidan savunma sistemi arasındaki hassas dengenin, prooksidan ve oksidan maddelerin lehine kayması sonucu oksidatif stres gelişir (108-112) ve sonuç olarak lipidlerin, proteinlerin, polisakkaritlerin oksidasyonuna ve DNA hasarına yol açar (113-115).



Şekil 2. Oksidan ve antioksidan sistemlerin şematik sunumu

Serbest radikallerin en etkili olanları reaktif oksijen türleri olarak bilinen oksijen kaynaklı serbest radikaller olan tekli oksijen, hidroperoksitler ve süperoksit anyonlardır. Serbest radikallere karşı doğal antioksidan savunma sistemleri arasında süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz ve melatonin vardır. Ayrıca E vitamini (α tokoferol), C vitamini, beta karoten, flavanoidler, koenzim Q ve A vitamini de antioksidanlar arasında yer alır. Transferrin, laktoferrin ve seruloplazmin vücut sıvılarında demir ve bakırı bağlayarak oksidatif hasarı önlerler (101,108,116). Oksidatif strese, organizmanın antioksidan savunma sistemini oluşturan enzimlerin adaptif cevap ile uyarıldıkları bilinmektedir. Ayrıca oksidatif stres karşısında enzim inaktivasyonunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (109-112).

2.3. Serbest Oksijen Radikalleri

Kimyasal bileşikler iki veya daha çok elementin kimyasal bağ yapmasıyla oluşur. Kimyasal bağlar aynı yörüngede birbirine zıt yönde dönen bir çift elektrondan oluşan kararlı yapılar olup negatif yüklü elektronlarla sarılmıştır. Elektronların düzeni bileşiğe kararlılık sağlar. Serbest radikaller dış yörüngesinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük, çok etkin element veya bileşiklere denir. Biyolojik sistemdeki en önemli serbest radikaller oksijenden türeyenlerdir. Oksijen atomu toplam sekiz elektron içerir ve bunların dış yörüngede bulunan iki tanesi eşleşmemiştir. Oksijenin bu özelliği onun diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini kolaylaştırır (101,117-119).

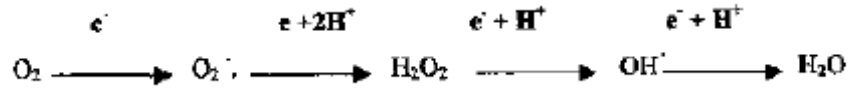
Çok reaktif olan bu yapılar, kararlı duruma geçme eğilimindedirler. Tek elektronlarını çiftlemek üzere başka moleküllerle reaksiyona girdiklerinde, onların yapılarında değişikliğe neden olurlar. Bir serbest radikal çiftlenmemiş elektronunu radikal olmayan bir moleküle verebilir veya tek elektronunu çiftlemek üzere, diğer molekülden bir elektron alabilir. Böylece bu bileşik yeni bir serbest radikal haline dönüşebilir. Bu durum, bir zincir reaksiyon olarak, radikalın diğer bir radikalle birleşmesi veya antioksidanlar tarafından kırılmasına kadar devam eder (117).

Serbest oksijen radikallerine ek olarak, serbest elektronları olmadığı halde reaksiyonlarda bu şekilde davranabilen maddeler de bulunmaktadır. Kimyasal reaksiyonlar sırasında serbest radikalleri serbestleştirir (hidrojen peroksit (H_2O_2) ya da hipoklorik asit) ya da doğrudan sitotoksik etki (hipoklorik asit ya da kloramin R-NHCl) gösterirler. Tablo 3’de radikal olan ve olmayan ROT’ler yer almaktadır.

Tablo 3. Serbest oksijen radikalleri

Radikaller	Radikal olmayanlar
Süperoksit radikali	Hidrojen peroksit
Hidroksil radikali	Lipidhidroperoksit
Alkoksil radikali	Hipoklorik asit
Peroksil radikali	R-NH2

Süperoksit radikali oksijenin kendisine bir elektron transferiyle redüksiyonu sonucu oluşur. Süperoksit radikali doğada genellikle redüktiftir ve belirgin özelliği H_2O_2 kaynağı olmasıdır. Süperoksit dismutaz enzimi tarafından katalitik olarak H_2O_2 'e indirgenir. H_2O_2 düşük toksisiteye sahip, oksidan ancak reaktif olmayan bir üründür fakat kolayca hücrel membranlara penetre olabilir. Özellikle geçiş metal iyonlarının (demir, bakır) varlığında O^{2-} ve H_2O_2 ferrik demiri ferröz hale getirerek, serbest oksijen radikallerinden en reaktif ve hasar verici özelliğe sahip olan OH radikalini oluşturmak için kolayca parçalanabilir. Bu reaksiyon "Fenton Reaksiyonu" olarak bilinir (120).

**Şekil 3.** Moleküler oksijenden reaktif ara ürünlerin oluşumu

Redükte glutatyon (GSH), organik sistemlerde antioksidan fonksiyonları etkileyen en önemli biyolojik moleküllerden birisidir. Glutatyonla birlikte glutatyon bağımlı sistem olan glutatyon peroksidaz (GPX), glutatyon-S-transferaz (GST), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) toksik serbest radikalleri etkin bir şekilde toplarlar (121). Organizmada serbest radikaller hem normal metabolizmanın yan ürünü olarak hem de radyasyon, ilaçlar ve diğer zararlı kimyasal maddelerin etkisi ile endojen ve ekzojen kaynaklardan oluşabilmektedir. Tablo 4'de serbest oksijen radikallerinin endojen ve ekzojen kaynaklarından bazıları sıralanmıştır (101).

Tablo 4. Serbest oksijen radikal kaynakları

Endojen kaynaklar	Eksojen kaynaklar
Mitokondriler (solunum zinciri)	Radyasyon
Hücre zarı (prostoglandin sentezi)	İlaçlar
Sitokrom P-450	Sigara, alkol, uyuşturucu maddeler
Aktive lökositler (fagositoz)	Metal iyonlar
Mikrozomal elektron taşıma zinciri	
Oksidan enzimler	

2.3.1. Serbest Oksijen Radikalleri-Oksidatif Stres

Serbest oksijen radikalleri yapısal özellikleri nedeni ile lipid, protein ve nükleik asit gibi hücre bileşenlerini okside etme kapasitesine sahiptir. Özellikle hücre membran yapısında bulunan doymamış yağ asitleri oksidasyona duyarlıdır ve bunların oksidasyonu lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarının başlamasına neden olur. Bunun sonucunda yaygın peroksidasyon, membran lipid tabakasının yapısal bütünlüğünde bozulma, membran geçirgenliğinde artma, iyon transportunda bozulma ve son olarak lizis ortaya çıkar. Hücre ölümüne kadar giden bir süreç bu şekilde tamamlanır. Fizyolojik koşullarda serbest oksijen radikalleri dolaşımında bulunmakta ve hücrel redoks sistemleri ve antioksidanlar aracılığı ile yüksek oranda kontrol altında tutulabilmektedirler. Buna rağmen dolaşımında oksiradikallerin artması ve hücrel redoks homeostazın zayıflaması ile oksidatif stres oluşmakta bu da tümörögenezise neden olmaktadır. ROT bileşiklerinin neden olduğu oksidan stresin diyabet, kanser, ateroskleroz, ilaçlara bağlı nefrotoksisite gibi birçok olayın patogenezinde ve komplikasyonların gelişmesinde önemli rol oynadığı kabul edilmektedir (122).

2.3.2. Serbest Radikallerin Hücreler Üzerinde Etkileri

2.3.2.1. Lipidlerde Meydana Gelen Yapısal Değişiklikler

Hücre membranında bulunan yağ asitleri ve kolesterolün doymamış bağları serbest radikallerle reaksiyona girip peroksidasyona neden olabilir. İlk önce yağ asidi hidrojen ve kendi üzerinde birer elektron kalacak şekilde parçalanır ve lipid radikalini oluşturur. Lipid radikali de oksijenle reaksiyona girerek lipid peroksil

radikalini oluşturur. Lipid peroksil radikali de diğer doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girer. Böylece zincirleme bir reaksiyon başlamış olur. Ayrıca lipid peroksiller ortamdaki hidrojen atomları ile de reaksiyona girerek lipid hidroperoksitlerini oluştururlar (123). Lipid peroksitler daha sonra malondialdehid (MDA) ve 4-hidroksi nonenal gibi yıkım ürünlerine dönüşürler. Bu yıkım ürünleri de DNA veya proteinlerle reaksiyona girebilirler ve mutajeniktirler. Üç veya daha fazla çift bağına sahip yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu MDA oluşmaktadır. Bu da tiyobarbutirik asid gibi reaktif maddeler olarak ölçülmektedir. MDA lipid peroksidasyonunun şiddetiyle orantılı olarak artar, ancak spesifik değildir. Aynı zamanda membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmasına neden olabilir (124,125).

2.3.2.2. Proteinlerde Meydana Gelen Yapısal Değişiklikler

Doymamış ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksek olduğu için triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin, sistein gibi aminoasitleri içeren proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Papain ve gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz gibi aktiviteleri için yukardaki aminoasitlere bağımlı olan enzimler, serbest radikallere maruz kaldıklarında inhibe edilirler (126,127).

2.3.2.3. DNA Üzerine Etki

Serbest radikaller deoksiribonükleik asiti (DNA) etkileyerek hücrede mutasyona yol açarlar. Hidroksil gibi serbest radikal bileşikleri DNA bazları üzerine de geri dönüşümsüz değişikliklere neden olurlar. Bunlardan en önemlileri timin ile hidroksil radikalının oluşturduğu ürün olan timin glikol ve guanin ile hidroksil radikalının oluşturduğu ürün olan 8-hidroksi guanindir. Bu DNA ürünleri onarım enzimleri ile elimine edilir ve idrarla atılır. Direkt etkinin yanında DNA'da tamir defektleri oluşturarak da hasara yol açabilirler. Oluşan bu serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyonlara ve ölüme yol açarlar. Sitotoksisite büyük oranda ya nükleik asit baz modifikasyonlarından doğan kromozomal değişikliklere, ya da DNA'daki diğer bozukluklara bağlıdır (128,129).

2.4. Antioksidan Savunma Sistemleri

Reaktif oksijen türevlerinin düzeylerini ve bunların meydana getirdiği hasarı sınırlandırmak için vücutta birçok savunma mekanizması gelişmiştir. Bunlar “antioksidan savunma sistemleri” veya kısaca “antioksidanlar” olarak bilinirler. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler. Antioksidanlar hem direkt, hem de dolaylı olarak ksenobiyotiklerin, ilaçların, karsinojenlerin ve toksik radikal reaksiyonların istenmeyen etkilerine karşı hücreleri koruyan maddelerdir (101,130). Kontrol mekanizmasının temel amacı serbest radikallerin aşırı yapılmasını önlemek, aynı zamanda da sağlam olan komşu hücreleri korumaktır. Antioksidanlar endojen ve ekzojen kaynaklı antioksidanlar olmak üzere başlıca iki ana gruba ayrılabilirdiği gibi serbest radikalın meydana gelişini engelleyenler ve mevcut olanları etkisiz hale getirenler şeklinde de ayrılabilirler. Ayrıca enzim olanlar ve olmayanlar şeklinde de sınıflandırılabilirler. Hücrelerin hem sıvı hem de membran kısımlarında bulunabilirler (131).

Enzim olan endojen antioksidanlar, SOD, GPX, GST, CAT, mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi, hidroperoksidaz olarak sınıflanabilir.

Enzim olmayan endojen antioksidanlar ise melatonin, serüloplazmin, transferrin, miyogloblin, hemogloblin, ferritin, bilirubin, glutatyon, sistein, metiyonin, urat, laktoferrin, albumin olarak sıralanabilir.

2.4.1. Serbest Oksijen Radikalleri ve Böbrek

Son yıllarda yapılan hayvan çalışmalarında serbest oksijen radikallerinin akut-kronik ve/veya immün ve immün olmayan böbrek hastalarında patofizyolojik önemi saptanmıştır. Tablo 5’de patogeneizde serbest oksijen radikallerinin rolü gösterilmiş böbrek hastalıkları yer almaktadır (132).

Tablo 5. Patogenezinde serbest oksijen radikallerinin rolü olduğu düşünölen böbrek hastalıkları

<p>Glomeröler hastalık</p> <ul style="list-style-type: none"> • Minimal lezyon hastalığı • Membranöz glomerülopati • Nötrofil bağımlı hasar, antiglomeröler bazal membran nefriti <p>Akut böbrek yetmezliğı</p> <ul style="list-style-type: none"> • Postiskemik • Toksik: Sisplatin, gentamisin, vankomisin, amikasin • Kontrast nefropati, miyoglobininüri/hemoglobininüri, radyasyon <p>Obstruktif nefropati</p> <p>Pyelonefrit</p> <p>İlerleyici böbrek yetmezliğı</p>

Önceki çalışmalarda böbrek dokusu veya idrarda artmış oksidan hasar ürünlerinin saptanması ve/veya serbest oksijen radikalleri inhibitörleri verilmesi ile koruyuculuğun deneysel olarak gösterilmesi ile serbest oksijen radikallerinin nefropati patogenezinde rolü olduğu gösterilmiştir. Çesitli iskemi ve inflamasyon modellerinde reaktif oksijen partiküllerinin glomeröler hasara neden olduğu bilinmektedir (132).

2.4.2. Nefrotik Sendromda Oksidatif Stres

Serbest radikallere bağı oksidatif hasar, nefrotik sendrom dahil pek çok böbrek hastalığının etyopatogenezinde önemli rol oynamaktadır (94,133). Bu durumun ortaya çıkmasından bu yana nefrotik sendromun patogenezinde serbest radikallerin rolüne yönelik çalışmalar giderek artmaktadır. Geçmiş yıllarda primer NS'li hastalarda oksidan ve antioksidan sistemler arasındaki denge ile ilgili yapılmış çok sayıda hayvan (134,135) ve insan (136-138) çalışmaları vardır. Ayrıca NS'de kullanılan tedavi yöntemleri ve oksidatif stres arasındaki ilişki de çeşitli çalışmalara konu olmuştur (95,96,139-142). Terapötik modellerin oksidatif hasar üzerine yararlı etkileri olduğu bildirilmiş ve ne kadar önemli bir süreç olduğu vurgulanmıştır (134,143-147). Oksidatif hasar tedaviye olan cevabı da etkilediğı için antioksidan sistem NS için önemli bir role sahiptir. NS'li hastalarda ROT'lerin özellikle

proteinüri ile olan ilişkisi birçok çalışmada kanıtlanmıştır (6,87). Ancak proteinüri ile ROT arasındaki sebep-sonuç ilişkisi henüz açıklığa kavuşmamıştır. Klinik olarak ROT'nin proteinüri üzerine olan etkisini direkt olarak gösterme imkanı yoktur. Ancak kanda doğal antioksidanların varlığı, insanda serbest radikal reaksiyonlarının varlığını indirekt olarak göstererek bilgi sağlayabilir (88).

Fydryk ve ark. (88), SYNS'li hastalarda serum selenyum ve glutatyon peroksidaz düzeylerini, hastaları 4 klinik gruba ayırarak araştırmışlardır. Tedaviden önceki atak dönem (I), proteinürinin düzeldiği dönem (yüksek doz prednizolon tedavisi-60 mg/m²/gün) (II), prednizolon tedavisi sonrası (40 mg/m²/gün) (III) ve prednizolon tedavisinden en az 4 hafta sonraki iyileşme dönemi (IV) olmak üzere, hastalar klinik olarak 4 grupta incelenmiştir. Selenyum, glutatyon peroksidazın temel elementidir. Serum selenyum seviyeleri, I,III ve IV. gruplarda kontrol grubu ile aynı iken, yüksek doz prednizolon verildikten sonra (II), istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükseldiği gösterilmiştir. Glutatyon peroksidaz düzeyi ise grup I, III ve IV'de kontrol grubuna oranla azalırken, selenyuma paralel olarak yüksek doz steroid sonrası yükselmiştir. Sonuç olarak bu çalışmada yüksek doz prednizolon tedavisinin NS' li hastalarda geçici olarak oksidatif stresi azalttığı gösterilmiştir.

Kamireddy ve ark. (94), relaps ve remisyon dönemindeki NS'li çocuklarla, sağlıklı çocuklardan oluşan kontrol grubundaki GSH, SOD ve MDA konsantrasyonlarının yanı sıra plazma seruloplazmin (CP) ve vitamin E konsantrasyonlarını analiz etmişlerdir. Eritrosit süperoksit dismutaz konsantrasyonunun remisyon ve relapstaki hastalarda, kontrol grubuna göre arttığını saptamışlardır. Oksidatif hasarla başa çıkmak için antioksidan savunma mekanizmalarının arttığı öne sürülmüştür.

Total antioksidan kapasite (TAK), antioksidan sistemin performansını gösterir. Geçmiş yıllarda yapılan insan çalışmaları genellikle SYNS'li hastalar üzerinde yapılmış olması nedeniyle Bakr ve ark. (148), remisyon ve relaps dönemindeki SYNS, SDNS ve kontrol grubundan oluşan çalışma grubuyla oksidatif hasarı ve kortikosteroidlerin etkilerini incelemişlerdir. SYNS olgularında ilk ataktaki proteinürik fazda ve relapsta TAK düzeyini düşük bulmuşlardır. Bu durumu önde gelen antioksidanlardan olan albuminin idrarla kaybına bağlamışlardır. Remisyon

dönemindeki olguların TAK düzeyi relapstaki olgulara oranla yüksek olmasına rağmen yine de kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. Bu çalışmada kortikosteroid kullanımı ile primer NS'li olguların serum TAK düzeyinin arttığı gösterilmiştir. Çalışmanın sonucunda primer NS'li hastalarda remisyonda olsalar bile oksidan stresin var olduğu ve bu stresin kortikosteroid yanıtına göre değişebileceği ortaya konmuştur. Tanı esnasında serum TAK düzeyine bakılarak kortikosteroidlere verilecek yanıtın tahmin edilebileceği vurgulanmıştır. Ayrıca kortikosteroid kullanımı sonrası bakılan TAK düzeyi ile hastaların relapsa uğrayıp uğramayacağı hakkında fikir sahibi olunabileceği öne sürülmüştür.

Alış ve ark. (93) yaptıkları deneysel çalışmada, adriamisin ile oluşturulan deneysel sıçan nefrotik sendromunda plazma ve böbrek dokusunda oksidatif sistemin durumunu araştırmışlardır. Plazma GPX aktivitesi ve MDA düzeyleri ve böbrek homojenatlarında MDA düzeyleri, GPX ve SOD aktiviteleri çalışılmıştır. Plazma MDA düzeyleri ve doku SOD aktiviteleri kontroller ile karşılaştırıldığında nefrotik sıçanlarda belirgin olarak daha yüksek saptanmıştır.

Van den Branden ve ark. (149) yapmış olduğu çalışmada, rat adriamisin modelinin böbrek korteksinde, antioksidan enzim durumu ile fibrozis ilişkili protein belirteçleri incelenmiş ve CAT, Cu-Zn-SOD ve GPX düzeylerinin adriamisin enjeksiyonundan 20 hafta sonra %50 oranında azaldığı tespit edilmiştir.

Dogra ve ark. (150), NS'li hastalarda plazma oksijen radikal absorbe kapasitesi (ORAK) ve F(2)-izoprosdan ölçerek oksidan strese olan etkilerini değerlendirmişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda plazma ORAK kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, NS'li hastalarda anlamlı oranda düşük saptanmıştır. Bunun yanında plazma albumininin anlamlı ölçüde plazma ORAK ile pozitif korelasyon içinde olduğu gösterilmiştir. Plazma ve idrar F(2) isoprosdanlar kontrol grubu ile NS' li hastalar arasında anlamlı fark bulunamamıştır.

Bulucu ve ark. (141), NS'li yetişkin hastalarda oksidatif stresi, plazma selenyum düzeyini, eritrosit ve plazma GPX aktivitesini, eritrosit Cu-Zn-SOD aktivitesini, eritrosit ve plazma MDA seviyelerini tespit ederek incelemişler. GPX'in eritrosit ve plazmada, Cu-Zn-SOD aktivitesini eritrositte ve selenyumun plazmadaki düzeyi, kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı olarak azaldığı, plazma MDA

seviyesinin ise arttığını göstererek NS'li olguların antioksidan sisteminde bir anormallik olduğunu ortaya koymuşlardır.

Ghodake ve ark. (78), NS'li 30 erişkin hasta ile 30 kontrol grubunda MDA, nitrik oksit (NO), eritrosit SOD aktivitesi, vitamin E ve C düzeyi, albumin, kolesterol, ürik asit seviyesi ve TAK'yi karşılaştırmışlardır. Eritrositlerdeki SOD aktivitesi ve TAK, NS'li grupta kontrol grubuna göre düşük saptanmıştır. SOD aktivitesindeki azalmanın aşırı tüketime ya da atılımın artmasına bağlı olabileceği belirtilmiştir. Hipertansiyon, tübüler disfonksiyon, ya da oksidatif strese cevap olarak ürik asit klirensinin azaldığı öne sürülmüştür.

Kinra ve ark. (95), SYNS olgularında lipid peroksidasyonunun miktarını indirekt olarak incelemişler. Oksijen serbest radikallerinin bu hastalarda aşırı protein geçirgenliğine neden olduğuna yönelik hipotezi değerlendirmişler. Plazma vitamin E, GSH, G6PD ve MDA ölçülmüş. Çalışmanın sonucunda MDA, G6PD ve vitamin E konsantrasyonlarındaki değişikliklerin SYNS'de oksidatif stresin artmış miktarı ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir.

Mocan ve ark. (142), steroid duyarlı MLH olan çocuklarda MDA, eritrosit membran kolesterol (EMK) ölçerek eritrosit membran oksidatif hasarını değerlendirmeleri sonucunda böbrek yetmezliği ve anemi gelişmeden SYNS'li hastalarda lipid peroksidasyonuna karşı eritrositlerde artmış bir duyarlılığın var olduğunu göstermişlerdir.

Rajbala ve ark. (139), NS'li çocuklarda serum MDA, SOD, vitamin C ve E düzeylerini ölçerek oksidatif stres durumunu değerlendirmişlerdir. Anlamlı olarak yükselmiş MDA, düşük SOD, vitamin C ve E seviyelerini saptanmıştır. Hastaların düzenli olarak vitamin C ve E almalarının uygun olacağını vurgulamaya çalışmışlardır.

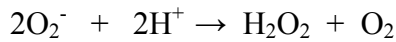
Turi ve ark. (96), glomerüler hastalıklarda oksidatif stres ve antioksidan sistemi, eritrositlerde lipid peroksidasyonundaki değişiklikleri, MDA, GSH, hemoglobin oksidasyonu ve antioksidan SOD, CAT, GPX enzim aktivitelerini remisyon ve atak dönemlerinde ölçerek değerlendirmişlerdir. Periferik eritrositlerde ölçülen çeşitli parametrelerde oksidatif değişikliklerin kanıtı ile aktif glomerüler hastalıkların varlığı arasında bir ilişki olduğu ortaya konmuştur.

Yoshioka ve ark. (4), İNS'li hastalar ve kontrol grubunda MnSOD gen ekspresyonunu değerlendirmişlerdir. MnSOD gen ekspresyonunun hipoproteinemi ve serum komponentlerinin üriner kaybı ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür. 10 SYNS ve 2 SDNS'li çocuk ile 12 kontrol grubu çalışmaya alınmıştır. Kanlar, MnSOD gen transkripsiyonunu etkileyebileceğinden kortikosteroid tedavisinden önce alınmıştır. Kontrol grubu yaşları eşleşen, hematürisi ve/veya proteinürisi olan fakat nefrozisi olmayan çocuklardan seçilmiştir. NS'li hastalarda serum total protein konsantrasyonu beklendiği gibi düşük bulunmuştur. MnSOD aktivitesinin kontrol grubu ile kıyaslandığında azaldığı görülmüştür. Ancak remisyonadaki hastalarda MnSOD aktivitesi normal aralıkta bulunmuştur. NS'li hastalarda MnSOD mRNA salınımının kontrol grubuna göre daha az olduğu saptanmıştır. Bu çalışma ile aktif NS'li hastalarda antioksidan enzim ekspresyonunda düşüş olduğu vurgulanmaya çalışılmıştır. Ayrıca daha önce yapılan diğer çalışmalarda olduğu gibi antioksidan sistem etkilerinin yararlı olduğu bir kez daha görülmüştür. NS'nin patofizyolojisinde indüklenen ROT'lere bağlı yapısal ve fonksiyonel hücre hasarının tedaviye antioksidan eklenmesiyle azalabileceği belirtilmiştir.

2.4.3. Süperoksit Dismutaz

Antioksidan enzimler, organizmanın savunmasında oksidatif strese karşı yaşamsal öneme sahiptirler. Süperoksit radikalının (O_2^-) hidrojen perokside dismutasyonunu katalizleyen enzim sisteminin en önemlisi süperoksit dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1) enzimidir (8). İlk olarak 1968 yılında Mc Cord ve Fridovich tarafından tanımlanan SOD yapısında bakır, çinko ve manganez içerdiğinden metalloenzim olarak adlandırılır.

Katalizlediği reaksiyon şu şekildedir:

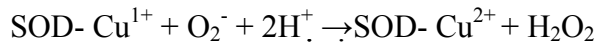
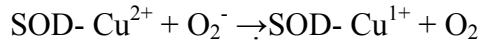


Bu reaksiyon spontan olarak meydana gelebilir. Fakat SOD aracılığı ile reaksiyon hızı 4000 kat artar (151). Aktif bölgede ihtiyaç duyulan metal türlerine göre iki tip SOD bildirilmiştir. Sitoplazmada dimerik, bakır ve çinko içeren SOD (Cu-Zn-SOD veya SOD1, sitoplazmik) ve mitokondride tetramerik, manganez içeren SOD (MnSOD veya SOD2, mitokondriyal) iki tip izomeri mevcuttur. Bakır ve çinko

içeren diğer form ayrıca ekstrasellüler (EC-SOD veya SOD3) lokasyona sahiptir. Bu form en son keşfedilen ve en az bilinen SOD üyesidir (152). Cu-Zn-SOD enzimini kodlayan gen 21 no'lu kromozomda, MnSOD enzimini kodlayan gen ise 6 no'lu kromozomda lokalizedir (151). Her iki SOD'un katalizlediği reaksiyon aynıdır (153).

Enzimin fizyolojik fonksiyonu, oksijeni katabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalının zararlı etkilerine karşı korumaktadır. Böylece lipid peroksidasyonunu inhibe eder (154). SOD aktivitesi yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır ve doku pO₂ artışı ile artar. Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda süperoksit üretimi olmasına rağmen, intraselüler süperoksit düzeyleri düşük tutulur. SOD'un ekstraselüler aktivitesi çok düşüktür (155,156).

SOD'un süperoksit anyonuna etkisi şu şekilde olmaktadır, süperoksit anyonu, Cu²⁺ ve bir arginin rezidüsünün guanido grubuna bağlanır. Bu bağlanma sonucunda süperoksitten bir elektron Cu²⁺'ye transfer olurken Cu¹⁺ ve moleküler oksijen meydana gelir. İkinci bir süperoksit anyonu Cu¹⁺'den bir elektron, bağlanma ortağından ise iki proton alarak H₂O₂ oluştururken, enzim tekrar Cu²⁺ formuna dönmüş olur (157).



SOD, fagosite edilmiş bakterilerin intraselüler öldürülmesinde de rol oynar. Bu nedenle granülosit fonksiyonu için çok önemlidir. Lenfositlerde de granülositlerden daha fazla miktarda SOD bulunmaktadır (158).

2.4.3.1. Manganez Süperoksit Dismutaz Enzimi (MnSOD)

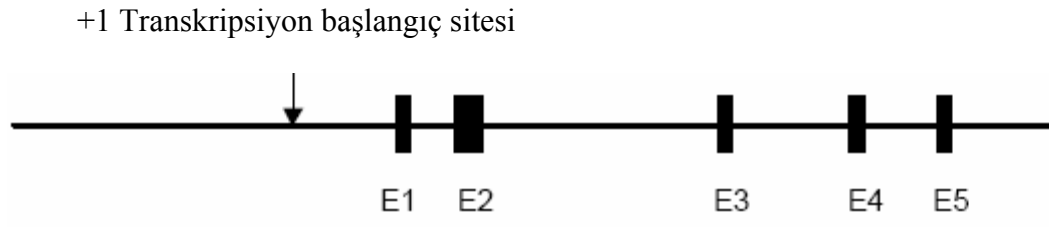
İstirahatteki bir hücrede ROT'lerin ana kaynağı mitokondridir. Eğer antioksidan koruyuculuk yetersiz ise bu durum oksidatif stresle sonuçlanır ve mitokondriyal disfonksiyon meydana gelir (159).

Manganez süperoksit dismutaz (MnSOD, SOD2, EC 1.15.1.1) mitokondri dahilindeki süperoksit radikallerini temizleyebilen tek enzimdir ve oksidatif strese karşı esas savunmayı sağlar (160,161). MnSOD süperoksitlerin temizlenmesi için en

ideal yer olan mitokondriyal matrikste lokalizedir (162). MnSOD sentezi oksidatif stres, hipoksi, TNF α , IL-1 ve lipopolisakkarit (LPS) ile indüklenir (163,164).

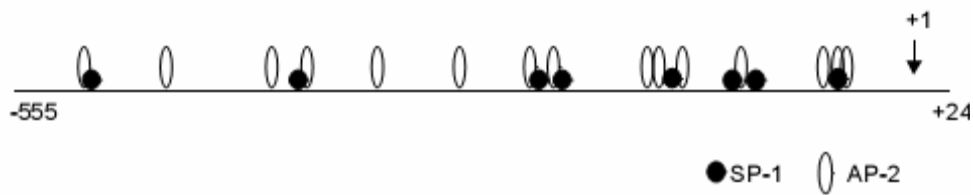
2.4.3.2. Manganez Süperoksit Dismutaz Geni

MnSOD, kromozom 6q25.3'de lokalize bir gen tarafından kodlanır. Ayrılabilir bir N- terminal mitokondriyal hedefleme motifi (MTS) ile birlikte sitoplazmada prekürsör protein olarak sentezlenir. Dış ve iç membrandaki translokaz aracılığı ile MTS, MnSOD prekürsörünün mitokondriyal yerleşimine rehberlik eder. Mitokondriyal matriksin içinde MTS, mitokondriyal işleyici peptidaz tarafından ayrılır. Matür MnSOD proteininin 4 monomeri, aktif MnSOD homotetrameri ile birleşir (165,166). MnSOD geni 5 ekson ve 4 introndan oluşur (Şekil 4) (167).



Şekil 4. Manganez süperoksit dismutaz geninin şematik görünümü (168)

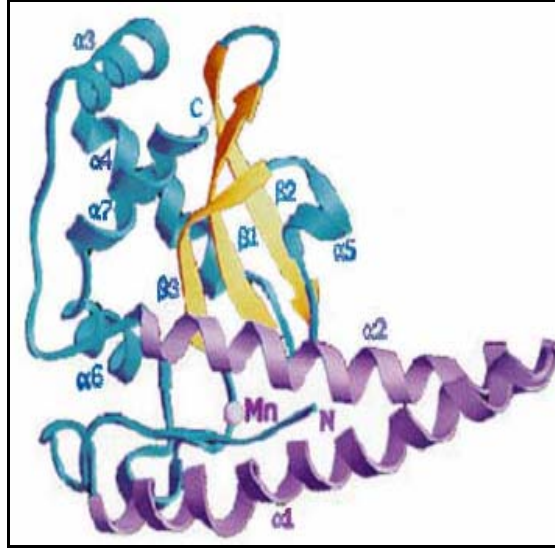
MnSOD'un promoter bölgesi multipl selektif promoter faktör-1 (SP-1) ve aktivatör protein-2 (AP-2) bağlayıcı bölgeden oluşur. SP-1 ve AP-2 bölgeleri üst üste gelir (Şekil 5) (168).



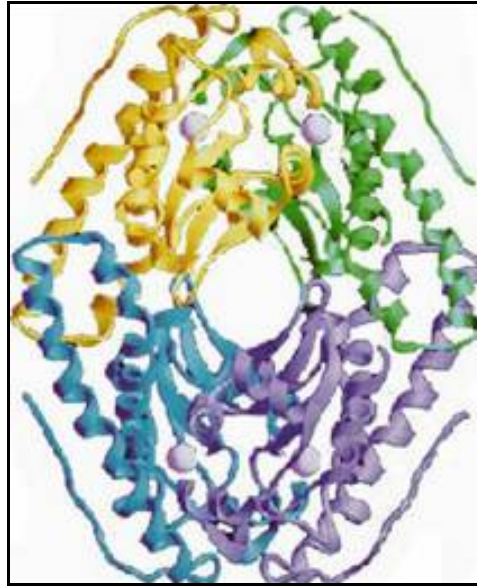
Şekil 5. Manganez süperoksit dismutaz geninin promoter bölgesi (168)

SP-1 ve AP-2 bağlayıcı bölgeleri, DNAaz I footprinting analizleri ile promoter bölge (-555/+24)'de saptanmıştır. SP-1 transkripsiyon oluşumunda pozitif rol oynarken AP-2 negatif rol oynar. AP-2 proteinleri promoter aktiviteyi baskılar. MnSOD geni oksidatif stresin neden olduğu çeşitli ajanlar ve koşullar ile aşırı aktive olur (168). İntron 2'de 1741-2083 arasındaki bir bölge, MnSOD geninin TNF ve IL-1 ile indüksiyonu ile ilgilidir (169).

İnsan MnSOD proteini 96 kDa'lık bir homotetramer yapıdadır (170). İnsan MnSOD proteininde her bir alt ünite 198 aminoasit içerir (160). Her alt ünitenin bölümlerini N-terminal ve C-terminal bölge oluşturur. N-terminal bölge, N-terminal loop, $\alpha 1$ ve $\alpha 2$ sarmaldan oluşur. C-terminal bölge ise beş α -sarmal ($\alpha 3$ - $\alpha 7$) ve üç β -sarmaldan ($\beta 1$ - $\beta 3$) oluşur (Şekil 6 ve Şekil 7) (170).



Şekil 6. MnSOD'un alt ünitesinin zincir yapısı (171)



Şekil 7. MnSOD'un tetramer yapısı (171)

Hücrelerin manganı yalnızca MnSOD proteinlerinin aktif bölgelerinin katalizinde değil ayrıca MnSOD ekspresyonunun düzenlenmesinde de kullandığı gösterilmiştir (101,172). Toplam intrasellüler SOD aktivitesinin yaklaşık %15'i

MnSOD'dan oluşmaktadır. Ökaryotik hücrelerde MnSOD gen regülasyonu kompleks bir olaydır. Hücrelerin oksidatif strese durumu MnSOD ekspresyonunun regülasyonunda esastır. Bazı MnSOD gen indüksiyonu çalışmalarında hiperoksiye direnç, oksidan stresi takiben oksidan hasardan korumak için enzimin etkilemesi şeklinde açıklanmıştır. Kalp, beyin, karaciğer ve böbreklerde yüksek oranlarda bulunur (173).

MnSOD geni polimorfiktir ve insanda iki fonksiyonel varyantı bulunmaktadır (174). Bizim de çalışmış olduğumuz ilk varyant olan Ala-9Val ekson-2'de yer almaktadır. Bir baz çiftinin (C→T) transisyonu ile oluşmakta ve 9. pozisyondaki alaninin (GCT)-valine (GTT) dönüşümünü içermektedir. Sitozinin timin ile yer değişimi intrasellüler trafiği hatalı yönlendirir. Bu değişim proteinin ikincil yapısını α -sarmal yapıdan β -plaka şekline dönüştürebilir. Alfa heliks yapısı prekürsör proteinlerin mitokondri içine etkin transportu için önemlidir. Dokuzuncu aminoasitteki bu değişimi (Ala/Val) sonucunda mitokondri iç membranındaki reseptör bu protein ile daha az etkileşime girer. Dolayısıyla mitokondriye transportunun yavaşlamasına neden olabilir. MnSOD aktivitesi değişerek mitokondriyal elektron transport zincirinde üretilen ROT'ye karşı etkin mücadele sağlanamaz (8,167,175,176). Mitokondri dahilinde SOD2, ATP sentez sürecinde mitokondriyal elektron transport zincirinden kaynaklanan ROT'ye bağlı oksidatif hasara karşı önemli bir savunma sistemi sağlar. Böylece SOD2 genindeki polimorfizm düşük ya da yüksek aktiviteye sahip olma bakımından çok önemlidir (8).

Polimorfizm, bir toplumda sadece tekrarlayan mutasyonlarla sürdürülemeyecek oranlarda var olan, nadir sıklıktaki, devamlılık göstermeyen iki veya daha fazla genetik özelliğin bir arada olması olarak tanımlanmaktadır. Eğer toplumun %2 veya daha fazlası nadir bir alleli taşıyorsa bu durum polimorfiktir (177). MnSOD gen polimorfizminde genotiplendirme, Ala/Val, Ala/Ala ve Val/Val şeklinde yapılmaktadır. Ayrıca çalışmalarda karşılaştırmalarda Val alleli ve de Ala alleli kullanılmaktadır.

Van Landeghem ve ark. (178), 1999 yılında oligonükleotid ligasyon tahlili ile MnSOD geninde MTS' deki polimorfizmi (Ala-9Val) farklı etnik gruplarda araştırmışlardır. Finlilerde VV, AV, AA genotip dağılımını sırasıyla %28, %49, %23,

İsveçlilerde %34, %50, %16, Litvanyalılarda %14, %60, %26 ve Çinlilerde %42, %55, %3 olarak belirlemişlerdir. SOD2 genetik polimorfizmi henüz yeni tanımlanmıştır. Akyol ve ark. (8), 2004 yılında yapmış oldukları çalışma ile Türk popülasyonunda SOD2 polimorfizminin prevalansı ilk kez değerlendirilmiştir. Sonuç olarak Türklerdeki dağılım AA genotipi %23,5, AV genotipi %42,3, VV genotipi %34,2 olarak bulunmuştur (8).

2.4.3.3. MnSOD Gen Polimorfizmi ve Böbrek Hastalıkları

Renal hastalıkların klinik seyri açısından özellikle tip 1 ve tip 2 diyabetik hastalarda nefropati gelişimi ile MnSOD gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi inceleyen yayınlar mevcuttur. Möllsten ve ark. (9), İsveç ve Finlandiyalı tip 1 diyabetes mellituslu hastalarda 2007 yılında yapmış oldukları çalışmada VV genotipinin diyabetik nefropati riskini artırdığı ortaya konmuştur. Benzer çalışma Nomiyama ve ark. (10) tarafından 2003 yılında tip 2 diyabetes mellituslu hastalarda yapılmış olup benzer bulgular elde edilmiştir. Sonuç olarak MnSOD V allelinin diyabetli hastalarda oksidatif stresi önleyemediği ve nefropati gelişimine katkı sağladığı öne sürülmüştür.

Liu ve ark. (11), 2009 yılında Çin’de tip 2 diyabetes mellituslu hastalarda MnSOD Val16-Ala polimorfizmine baktıklarında diyabetik nefropatili hastalarda AA ve AV genotiplerinin diyabetik nefropati gelişimine karşı koruyucu olabileceğini öne sürmüşlerdir. Dolayısıyla VV genotipinin tip 2 diyabetli hastalarda nefropati gelişimi için kötü prognoz olabileceği belirtilmiştir.

Lee ve ark. (12), tip 2 diyabetik hastalarda albuminüri derecesi ve MnSOD gen Val16-Ala polimorfizmi arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Nondiyabetik 178, tip 2 diyabetik 371 olgu çalışmaya alınmıştır. Diyabetik olgular normoalbuminürik, mikroalbuminürik ve makroalbuminürik olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu ile tip 2 diyabetik olgularda MnSOD genotip dağılımında (AA, AV, VV) ve A allel frekansında farklılık saptanmamıştır. Ancak hipertansiyonun eşlik ettiği, albumin/kreatinin oranının düşük olduğu olgularda A alleli düşük saptanmıştır. A allelinin albuminüri derecesiyle ilişkili olduğu öne sürülmüştür. MnSOD gen Val16-Ala polimorfizminin diyabetin patogenezi etkilemediği ancak albuminüri derecesi ile yakın ilişkide olduğu belirtilmiştir.

Tüm bunların dışında aksini iddia eden çalışmalar da mevcuttur. Tarek ve ark. (179), 2005 yılında Mısır'daki tip 2 diyabetes mellituslu hastalarda MnSOD gen polimorfizmine baktıklarında diyabetik nöropati gelişen hastalarda, V alleli ve VV genotipini nöropati gelişmeyenlere göre daha yüksek bulmuşlardır. Ancak nefropati gelişen hastalarla nefropatisi olmayan hastalar kıyaslandığında V alleli ve VV genotipinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır.

Tuğcu ve ark. (13), ürolityazisli hastalarda MnSOD gen polimorfizmini araştırmışlardır. Kontrol grubu ile ürolityazisli hastalar karşılaştırıldığında kontrol grubunda AA genotipini anlamlı oranda daha yüksek bulmuşlardır. Buna karşılık ürolityazisli olgularda VV ve AV genotipi yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak MnSOD gen dağılımına bakılması yoluyla ürolityazis gelişme riskinin önceden belirlenebileceğini ileri sürmüşlerdir.

Yen ve ark. (14), SLE'li olgularda sitokrom P450 ve MnSOD gen polimorfizmini incelemişlerdir. Hasta ve kontrol grubunda MnSOD gen polimorfizmine bakıldığında genotip, fenotip ve allel frekansları arasında anlamlı fark bulunamamıştır. SLE'li olguların renal tutulumu ile MnSOD gen polimorfizmi arasında bağlantıya rastlanmamıştır. Ancak VV genotipinin, renal tutulum için sinerjistik etki gösterdiği ileri sürülmüştür.

Sobkowiak ve ark. (15), Polonyalı SLE olgularında MnSOD Ala-9Val gen polimorfizmini araştırmışlar ve MnSOD VV genotipinin SLE'li olguların çeşitli klinik manifestasyonlarını indükleyebileceğini öne sürmüşlerdir.

Çocukluk dönemi NS'li hastalarda MnSOD gen polimorfizmi ile ilgili çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Oksidatif stres ve antioksidanlar arasındaki dengenin bozulmasının, NS patogenezinde önemli rol oynadığı bilinen bir gerçektir. Biz bu çalışma ile diğer ROT ilişkili polimorfizmlerle birlikte Ala-9Val polimorfizminin fonksiyonunun ve analizinin daha iyi anlaşılması, bu genin NS' nin gelişimine olan katkısını aydınlatmayı amaçladık. ROT defans genlerinde ve ROT üreten genlerdeki genetik varyasyon, NS ile MnSOD arasındaki ilişki açısından önemli etkiye sahip olabilir. Sadece bireylerde ve çeşitli hastalıklarda bu enzimlerin değişkenliğinin anlaşılmasının yanında terapötik yaklaşımlardaki potansiyel rolü için de daha fazla girişim yapılabilir.

2.4.3.4. MnSOD Gen Polimorfizmi ve Diğer Hastalıklar

Yukarıda sözü edilen çalışmalar haricinde literatürde, etyopatogenezi henüz tam olarak aydınlatılamamış çok sayıda hastalık ile MnSOD gen polimorfizmi arasındaki ilişkinin araştırıldığı birçok çalışma mevcuttur. Türkiye’de 2004 yılında Akyol ve ark. (176), şizofren hastalar ile yapmış oldukları çalışmada kontrol grubunda şizofreni grubuna göre AV genotipinin daha düşük ve AA genotipinin daha yüksek bulunmuştur. AV genotipinin şizofreniye yatkınlık gösterdiğini ve AA genotipinin şizofreniye karşı koruyucu olduğunu belirtmişlerdir. Daha önce de benzer çalışmalar yapılmış olup, Japon ve Çin populasyonlarında AV genotipi ile şizofreni arasında anlamlı ilişki saptanmazken, tardif diskinezi arasında anlamlı ilişki gösterdiği ileri sürülmüştür (175,180,181). Zhang ve ark. yapmış olduğu çalışmada (175), tardif diskinezili hastalarda ortalama MnSOD aktivitesine bakılmıştır. VV genotipinde, AV genotipli tardif diskinezi hastalarına göre aktivite yüksek olmasına rağmen tüm şizofreni hastaları (tardif diskinezi dahil) arasında anlamlı fark bulunamamıştır.

Nakao ve ark. (182), Behçet hastalarında NO sentaz (NOS) ve SOD gen polimorfizmlerini incelemişlerdir. Behçet hastalarında belirgin HLA-B51 pozitifliği mevcuttur. Sonuç olarak, MnSOD VV genotipi ile HLA-B51 arasında sinerjistik etki olduğu ortaya konmuştur.

Yılmaz ve ark. (183), Behçet hastalarında MnSOD gen polimorfizmini incelemişlerdir. Çalışmaya 93 Behçet hastası ve 125 kontrol alınmıştır. Behçet hastalarında AA, AV ve VV genotipi sırasıyla %14, %45,2, %40,9 oranında rastlanmıştır. Sonuç olarak Türk toplumundaki Behçet hastalığının ortaya çıkma riskini göstermek için VV genotipinin genetik marker olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür.

Mattey ve ark. (184), romatoid artritli olgularda, Yen ve arkadaşları (185) ise ankilozan spondilitli hastalarda MnSOD gen polimorfizmlerini araştırmışlardır. Ancak MnSOD genotip, allel ve fenotip sıklığında iki grup arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Duarte ve ark. (186), hiperkolesterolemide oksidatif stres ve MnSOD gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi değerlendirmişlerdir. Amaçları hiperkolesterolemide

oksidatif stres ve antioksidan sistemin MnSOD Ala-16Val polimorfizmine olan etkilerini göstermektedir. Sonuç olarak bu olgularda polimorfizme bağı MnSOD aktivisinde azalma olduğu ortaya konmuştur.

Bunların yanında MnSOD gen polimorfizmi ile kanser ilişkisini araştıran çalışmalar da yapılmış olup sonuçlarda çelişkiler mevcuttur. Meme kanseri ile MnSOD ilişkisini ve Elazığ ili örnekleme için Akyol ve ark. yapmış olduğu çalışmada (8), meme kanserli hastalarda VV genotipinin artışı ve AV genotipinin düşmesinin meme kanserine yakalanma oranını artırdığı ileri sürülmüştür. Bunun yanında Ankara ili örnekleme için Kocabaş ve ark. yapmış olduğu çalışmada (187) ise vaka ve kontrol grubunda farklılık olmadığı bildirilmiştir. MnSOD Ala-9Val polimorfizminin genotipi olan VV artışının, Wang ve ark. (188) akciğer kanseri ile birliktelik gösterdiğini saptamışlardır.

Ayrıca VV genotipinin, Montano ve ark. (189) obezite, Hiroi ve ark. (190) kardiyomyopati ile birliktelik gösterdiğini öne sürmüşlerdir. Ayrıca Türk toplumundaki juvenil astımlı olgularda MnSOD gen polimorfizmi incelendiğinde kontrol grubu ile anlamlı fark saptanmamıştır (191).

3. MATERYAL ve METOT

Bu çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Nefroloji Bilim Dalı'nda 2009-2010 yılları arasında yapıldı. Çalışma Helsinki Deklarasyonu kurallarına uygun olarak yapılmış ve öncesinde etik kurul onayı alınmıştır. Çalışmaya katılan tüm hastalar çalışma hakkında bilgilendirilerek yazılı onayları alınmıştır. Çalışma tipi, prospektif ve kontrollü idi. Çalışma grubu, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Nefrolojisi Bilim Dalı ve Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Çocuk Nefrolojisi Bilim Dalı polikliniklerinde nefrotik sendrom tanısı ile izlenen hastalar arasında SDNS ve SYNS tanısı almış çocuklardan oluşturuldu.

Çalışmaya alınma kriterleri:

- Hastalık başlangıcında nefrotik sendrom varlığı
- Sistemik hastalık bulgusu olmaması
- Hastalık başlangıç yaşının 1-15 yıl arası olması
- Kliniğimizde en az 12 aylık izlem kayıtlarının olması
- Steroid tedavisine dirençli NS olgularında biyopsi ile kanıtlanmış FSGS veya MLH tanısı olması
- Aile ve hastanın çalışma için onayının alınması olarak belirlendi.

Tüm vakalar başlangıçta klinik ve laboratuvar olarak değerlendirildi. Ödem ve hipertansiyon varlığı, albumin, kolesterol, trigliserid, kreatinin düzeyleri ve glomerüler filtrasyon hızı (GFR) belirlendi. Çalışmamız boyunca, 24 saatlik idrar protein atılımının $>300 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$ olması "proteinüri", $>1000 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$ olması "masif proteinüri", serum albumin düzeyinin $<2,5 \text{ g/dL}$ olması "hipoalbuminemi", normal serum kolesterol ve trigliserid değerlerinin en az 1,5 kat artması "hiperlipidemi", ödem, hipoalbuminemi, proteinüri ve hiperlipidemi varlığı "nefrotik sendrom" şeklinde tanımlandı.

NS'li hastalardan, idrar protein atılımının $<100 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$ olması "tam remisyon", $100-1000 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$ arasında olması ve/veya klinik düzelme olması "kısmi remisyon", $>1000 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$ ve klinik düzelme olmaması "tedaviye dirençli" kabul edildi. Bir yıl içinde üçten fazla sayıda relaps olma "sık relaps", steroid

tedavisi kesildikten veya azaltıldıktan sonra 15 gün içinde tekrar relaps olma “steroid bağımlı” olarak kabul edildi. Olgularda böbrek fonksiyonları Schwartz formülü kullanılarak hesaplanan GFR ile değerlendirildi (192). GFR değeri >80 mL/dak/1,73m² olan olgularda böbrek fonksiyonları normal kabul edilirken, GFR <10 mL/dak/1,73m² olan olgular son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) grubunda değerlendirildi.

Çalışmaya toplam 63 hasta, 72 sağlıklı kontrol alınmıştır. SYNS, 1-9 yaş arasında olup 6-8 haftalık 2 mg/kg/gün steroid tedavisine yanıt verme veya prednisolon tedavisine bağımlı, sık relaps olan fakat histopatolojik incelemede minimal mezangial proliferasyon dışında patolojik değişikliğin saptanmaması şeklinde tanımlandı. SDNS tanısı için ise steroid yanıtı olmayan nefrotik sendrom olgularında histopatoloji ile en az bir glomerülde segmental veya global skleroz olması, mezangial proliferasyon, tübülointerstisyel değişiklikler ve immünoflorasan mikroskopik incelemede IgM ve C3 birikimi olması kriter olarak alındı.

3.1. Çalışma Grubu Özellikleri

Tüm çalışma grubunda yer alan 63 olgunun (40 erkek, 23 kız) hastalık başladığındaki yaş ortalaması $4,3\pm 2,5$ (dağılım: 1-11) yıl ve kliniğimizdeki toplam izlem süresi $6,4\pm 3,8$ (dağılım: 1-15) yıl idi. Tüm olgular kendi içinde SYNS ve SDNS olmak üzere 2 ana grupta değerlendirildi. Tablo 6’da tüm hasta ve sağlıklı kontrol grubunun genel özellikleri gösterilmiştir.

Tablo 6. Hasta ve kontrol gruplarının genel özellikleri

Demografik Özellikler	GRUPLAR		
	SDNS*	SYNS**	KONTROL
Olgu Sayısı Sayı-(%)	12/63-(8,9)	51/63-(37,8)	72-(53,3)
Çalışma Sırasında Yaş (yıl) (Ortalama±Standart Sapma)	12,8±5,9	10,2±3,7	10,8±4,5
Cinsiyet Erkek Sayı-(%) Kadın	7/12-(8,8) 5/12-(9,1)	33-(41,2) 18-(32,7)	40-(50,0) 32-(58,2)
Hastalığın Başlama Yaşı (yıl) (Ortalama±Standart Sapma)	5,3±2,8	4,0±2,4	-
İzlem Süresi (yıl) (Ortalama±Standart Sapma)	6,7±3,4	6,3±3,9	-

* Steroide dirençli nefrotik sendrom.

** Steroide yanıtı olmayan nefrotik sendrom.

3.1.1. Steroide Dirençli Nefrotik Sendrom (SDNS) Olguları

Çalışma grubuna histopatolojik olarak SDNS tanısı konmuş olan toplam 12 olgu (7 erkek, 5 kız) alındı. Erkek/kız oranı 1,4 ve olguların yaş ortalaması $12,8 \pm 5,9$ (3-24) yıl idi. SDNS olgularında nefrotik sendrom başlangıç yaş ortalaması $5,3 \pm 2,8$ (2-11) yıl ve kliniğimizde izlem süreleri $6,7 \pm 3,4$ (1-15) yıl idi.

SDNS olgularının tümüne ultrasonografi eşliğinde perkütan böbrek biyopsisi yapıldı. Alınan böbrek dokusunun ışık ve immünofloresan mikroskopu ile histopatolojik olarak değerlendirilmesi ve tüm olgularda dört hafta boyunca $60 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$ (2 mg/kg/gün) prednisolon tedavisine rağmen remisyon olmaması sonucu 12 hastanın 10'unda (%83,3) histopatolojik tanı FSGS iken, 2'sinde (%16,7) MLH idi..

NS başlangıcındaki yaşı >8 yıl olan 1 olguya (Tablo 9, olgu no: 3) oral steroid tedavisi verilmeden, 1-8 yaş arasında olan toplam 11 olgudan 7'sine 6-8 haftalık oral steroid tedavisine yanıtız olmaları nedeniyle (Tablo 9, olgu no: 1, 4, 5, 6, 7, 9, 12), 4 olguya (Tablo 9, olgu no: 2, 8, 10, 11) steroid bağımlılığı ve/veya sık relaps yapmaları nedeniyle böbrek biyopsisi yapılmıştı. SDNS olgularında, NS başlanıcından biyopsi yapılarak SDNS tanısı almalarına kadar geçen süre ortalama $0,9 \pm 3,4$ (0-24) ay olarak belirlendi.

SDNS'de yer alan olgularda, biyopsi sonrası tedavide pulse metilprednisolon (günaşırı, 30 mg/kg/doz intravenöz, maksimum 1 gr, 5-10 doz), oral siklosporin A, diğer sitotoksik ajanlarla veya "uzun süreli pulse metilprednisolon \pm sitotoksik ajan" tedavi protokolü uygulandı (193). SDNS'de yer alan olguların genel klinik özellikleri ve olguların tek tek verileri Tablo 7 ve Tablo 9'da gösterilmektedir. Tablo 7'de görüldüğü gibi çalışmaya alındıkları sırada 12 olgudan 7'sinin (%58,3) böbrek fonksiyonları normal, 5'inin (%41,7) ise bozuktu. KBY gelişmiş 5 olgudan 3'ü (Tablo 9, olgu no: 5, 7, 12) transplantasyona gitmiş, 1'i diyaliz tedavisi ile (Tablo 9, olgu no: 7), 1'i (Tablo 9, olgu no: 6) prediyaliz döneminde KBY olarak izlenmekteydi.

SDNS'de yer alan olgular hastalığın şiddet ve seyrine göre "iyi seyirli" ve "kötü seyirli" olarak iki gruba ayrıldı.

Tablo 7. Steroid dirençli nefrotik sendrom (SDNS) olgularının genel klinik ve demografik özellikleri

ÖZELLİKLER	SDNS**	İyi Seyirli SDNS	Kötü Seyirli SDNS
Olgu Sayısı	12/63	7/12	5/12
Cinsiyet Erkek	7/12	4/7	3/5
Kadın	5/12	3/7	2/5
Hastalık Başlama Yaşı (yıl) (Ortalama±Standart Sapma)	5,3±2,8	5,0±3,4	5,8±1,9
İzlem Süresi (yıl) (Ortalama±Standart Sapma)	6,7±3,4	5,4±2,9	8,4±3,7
Tanı Alma Yaşı (yıl) (Ortalama±Standart Sapma)	6,5±3,6	5,7±3,4	7,6±3,8
Serum Albumin (gr/dL) (Ortalama±Standart Sapma)	2,0±0,4	2,1±0,4	1,8±0,3
Serum Kreatinin (mg/dL) (Ortalama±Standart Sapma)	1,3±2,2	0,4±0,2	2,6±3,0
Serum Kolesterol (mg/dL) (Ortalama±Standart Sapma)	369,8±215,8	277,1±58,6	499,6±294,6
GFR* Düzeyi (mL/dak) (Ortalama±Standart Sapma)	82,7±26,5	99,7±13,2	58,8±21,1
Böbrek Fonksiyonu Normal	7/12	7/7	-
Azalmış (Sayı)	5/12	-	5/5
Son Dönem Böbrek Yetmezliği Var	5/12	-	5/7
Yok	7/12	7/7	-
Tedaviye Yanıt Yok	8/12	3/7	5/5
Kısmi Remisyon	1/12	1/7	-
Tam Remisyon	3/12	3/7	-

* Glomerüler filtrasyon hızı

** Steroid dirençli nefrotik sendrom

3.1.1.1. İyi Seyirli SDNS Olguları

Uygulanan tedavi girişimleri ile tam veya kısmi remisyonunda kalabilen ve/veya böbrek fonksiyonları normal olan grup olarak sınıflandırıldı. Dördü erkek, üçü kız toplam 7 olgu (%5,2) bu grupta yer aldı. Grup içinde yer alan 3 olgu remisyonunda, 3'ü (Tablo 7, olgu no: 1, 4, 11) ise tedaviye yanıt alınmamış olup klinik olarak ödem ve/veya proteinüri $>1 \text{ g/m}^2/\text{gün}$ olup böbrek fonksiyonları normal aralıkta seyretmekteydi. Bir olgu (Tablo 9, olgu no: 2) ise parsiyel remisyonunda olup (klinik olarak ödem yok ve/veya proteinüri $<1 \text{ g/m}^2/\text{gün}$) oral steroid tedavisine bağımlı pulse metilprednisolon tedavisine kısmi yanıt vermiş.

İyi seyirli SDNS olgularının Tablo 7’de görüldüğü gibi NS başlangıcındaki yaş ortalaması $5,0\pm 3,4$ (2-11) yıl, izlem süresi $5,4\pm 2,9$ (1-8) yıl idi. Bu grupta yer alan 2 olgunun (Tablo 9, olgu no: 2, 4) histopatolojik inceleme sonucunda MLH, diğer 5 olgunun (Tablo 9, olgu no: 1, 3, 8, 10, 11) ise FSGS olduğu belirlendi. Gruptaki tüm olgular Tablo 9’da bireysel özellikleri ile birlikte gösterilmiştir.

3.1.1.2. Kötü Seyirli SDNS Olguları

Yapılan tüm tedavi girişimlerine karşın hiçbir dönem remisyon sağlanamayarak böbrek fonksiyonları bozulan SDNS olguları bu gruba alındı. Grup içinde yer alan 5 olgudan 3’ü düzenli diyaliz gereksinimi göstermiş olup bunlardan ikisine transplantasyon yapılmıştır. Bir olguya son dönem böbrek yetmezliğine girdikten sonra diyaliz tedavisine girmeden transplantasyon yapılmış, bir olgu ise halen prediyaliz dönemde KBY olarak izlenmekte idi.

Tablo 7’de görüldüğü gibi kötü seyirli SDNS grubunda yer alan 5 olgunun NS başlangıcındaki yaş ortalaması $5,8\pm 1,9$ (3-8) yıl, izlem süresi $8,4\pm 3,7$ (6-15) yıl idi. Gruptaki tüm olgular Tablo 9’da bireysel özellikleri ile birlikte gösterilmiştir.

3.1.2. Steroide Yanıtlı Nefrotik Sendrom (SYNS) Olguları

Yaşları NS başlangıcında 1-9 yıl arasında olan ve steroid tedavisine yanıt veren veya oral steroid tedavisine bağımlı ve histopatolojik olarak MLH tanısı almış toplam 51 (33 erkek, 18 kız) olgu SYNS içinde yer aldı. Bu grupta erkek/kız oranı 1,83, olguların NS başlangıcındaki yaş ortalaması $4,0\pm 2,4$ (1-9) yıl ve kliniğimizde izlem süresi $6,3\pm 3,9$ (1-14) yıl idi. İzlem süresinde hastaların tümünde toplam 163, ortalama $3,2\pm 3,3$ (0-12) defa relaps oldu. Hastalardan birine (Tablo 10, olgu no: 30) prednisolon tedavisine bağımlı olması, pulse metilprednisolon tedavisine kısmi yanıt göstermesi ve relapslarla seyretmesi nedeniyle perkütan böbrek biyopsisi yapıldı ve MLH ile uyumlu bulundu.

Hastaların 36’sında (%70) standart 4 haftalık, bölünmüş dozlarda günlük oral prednisolon tedavisi ile ilk ve relaps tedavilerde remisyon sağlanabildi. Geriye kalan 15 hasta (%30) steroid tedavisine bağımlı veya sık relaps idi. Onbeş hastaya (Tablo 10, olgu no: 29, 30, 36, 37, 38, 40, 41, 42, 44, 45, 47, 48, 49, 50, 51) siklofosfamid

tedavisi başlanmış olup bu olgulardan 10'u (Tablo 10, olgu no: 29, 30, 41, 44, 45, 47, 48, 49, 50, 51) steroid bağımlıydı. Geriye kalan 5 olgu (Tablo 10, olgu no: 36, 37, 38, 40, 42) ise oral steroid tedavisine yanıt alınmış olup sık relapslarla seyreden hastalardı.

Tablo 8. Steroid yanıtı nefrotik sendrom (SYNS) olgularının genel klinik ve demografik özellikleri

ÖZELLİKLER	SYNS**	Az Relaps SYNS	Çok Relaps SYNS
Olgu Sayısı	51/63	26/51	25/51
Cinsiyet Erkek	33/51	17/26	16/25
Kadın	18/51	9/26	9/25
Hastalık Başlama Yaşı (yıl) (Ortalama±Standart Sapma)	4,0±2,4	4,3±2,4	3,8±2,4
İzlem Süresi (yıl) (Ortalama±Standart Sapma)	6,3±3,9	4,8±3,6	7,9±3,7
Tanı Alma Yaşı (yıl) (Ortalama±Standart Sapma)	4,0±2,4	4,3±2,4	3,8±2,4
Serum Albumin (gr/dL) (Ortalama±Standart Sapma)	2,1±0,7	2,2±0,6	2,0±0,8
Serum Kreatinin (mg/dL) (Ortalama±Standart Sapma)	0,5±0,2	0,5±0,2	0,5±0,2
Serum Kolesterol (mg/dL) (Ortalama±Standart Sapma)	370,5±122,7	384,8±131,0	355,8±114,2
GFR* Düzeyi (mL/dakika) (Ortalama±Standart Sapma)	121,4±10,2,0	125,4±9,3	117,3±9,6
Relaps Sayısı (Ortalama±Standart Sapma)	3,2±3,3	0,8±0,8	5,7±2,9

* Glomeruler filtrasyon hızı

** Steroid yanıtı nefrotik sendrom

3.1.2.1. Az Relaps Yapan SYNS Olguları

En az 3 yıl süre ile kliniğimizde izlenmiş olan ve bu sürede 2 veya daha az sayıda relaps yapmış, standart 6-8 haftalık oral steroid tedavisine devamlı yanıt vermiş olan SYNS olguları bu grupta değerlendirildi. Tablo 8'de görüldüğü gibi bu grupta toplam 26 olgu (%19,3) (17 erkek, 9 kız) yer aldı. Olgularda NS'nin başlama yaşı 4,3±2,4 (1-10) yıl, izlem süresi 4,8±3,6 (1-14) yıl idi. Yirmialtı olguda izlem sırasında toplam 20, ortalama 0,8±0,8 (0-2) relaps gelişmişti. Bu gruba dahil olgular Tablo 10'da no: 1-26 arasında tüm bireysel özellikleri ile birlikte gösterilmiştir.

Az relaps yapan SYNS grubunda yer alan olguların tümü ilk atak ve relapslarda oral steroid tedavisine yanıt vermiş, hiçbir hastada başka bir tedavi ve böbrek biyopsisi yapılması gerekmemiştir. İzlem sırasında 12 olguda hiç relaps olmazken 8 hastada 1, geriye kalan 6 hastada 2’şer relaps olmuştu.

3.1.2.2. Çok Relaps Yapan SYNS Olguları

En az 3 yıl süre ile kliniğimizde izlenmiş olan ve bu sürede 3 veya daha fazla sayıda relaps olmuş ve standart 6-8 haftalık oral steroid tedavisine yanıt vermiş veya steroid tedavisine bağımlılık veya sık relaps nedeniyle sitotoksik ilaç kullanılmış ve eğer böbrek biyopsisi yapılmış ise MLH dışı bulgu saptanmamış olguların tümü bu grupta yer aldı.

Tablo 8’de görüldüğü gibi bu grupta 16 erkek, 9 kız toplam 25 olgu (%18,5) yer aldı. NS’ nin başlama yaşı $3,8 \pm 2,4$ (1-9), izlem süresi $7,9 \pm 3,7$ (3-14) yıl idi. İzlem boyunca 25 olguda toplam 143, ortalama $5,7 \pm 2,9$ (3-12) relaps olmuştur. En çok sayıda relaps 11 yıllık izleminde 12 relapsı olan olguda gözlenmiştir (Tablo 10, no: 44).

3.1.3. Kontrol Grubu

Ailesi veya kendisine çalışma hakkında bilgi verilerek, yapılacak tetkik ve muayene için onayları alınan, fizik muayene ve tetkiklerinde herhangi bir sorunu olmayan 40 erkek, 32 kız (erkek/kız oranı: 1,25) toplam 72 olgu kontrol grubu olarak seçildi, yaş ortalaması $10,8 \pm 4,5$ (1-24) yıl idi. Kontrol grubu, benzer coğrafik çevreden genel pediatri polikliniğine böbrek hastalığı dışı bir nedenle başvurmuş, kronik hastalığı, obezite ve hipertansiyonu olmayan olgulardı. Bu grupta yer alan 40 olgu Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, 32 olgu ise Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi genel pediatri polikliniğine başvuran olgulardan seçildi.

Kontrol grubunu oluşturan olguların tümünde kendisi ve yakın akrabasında böbrek hastalığı öyküsü yoktu. Fizik muayene, rutin idrar, tam kan tetkikleri, böbrek fonksiyon testleri ve böbrek ultrasonografileri yapıldı, normal olarak değerlendirildi. Kontrol grubuna ait genel bilgiler Tablo 6’da, bireysel özellikler ise Tablo 11’de gösterilmiştir.

Tablo 9. Steroid dirençli nefrotik sendrom (SDNS) hastalarının özellikleri

No	Grup	İsim	Cins	Hastalık başlama yaşı (yıl)	İzlem süresi (yıl)	SDNS tanısı aldığı yaşı	NS-biyopsi arasında geçen süre (ay)	NS-dializ arası geçen süre (yıl)	Oral steroid tedavisine yanıt	Pulse MTP tedavisine yanıt	Mendoza tedavi protokolüne yanıt	Son renal durum (GFR mL/dak)	Histopatoloji
1	Kötü seyirli SDNS	F.B	K	8	8	8	1	-	Yok	Yok	Yok	88	FSGS
2	Kötü seyirli SDNS	M.K	E	5	7	5	24	-	Bağımlı	Kısmi	-	110	MLH
3	Kötü seyirli SDNS	G.B	K	11	7	11	1	-	Bağımlı	Yok	Yok	90	FSGS
4	Kötü seyirli SDNS	N.U	E	2	1	2	2	-	Yok	Yok	Yok	92	MLH
5	İyi seyirli SDNS	Ş.G	K	8	7	8	2	10	Yok	Yok	Yok	30	FSGS
6	İyi seyirli SDNS	M.G	E	7	7	13	3	-	Yok	Yok	Yok	88	FSGS
7	İyi seyirli SDNS	M.E	E	3	15	3	1	7	Yok	Yok	Yok	51	FSGS
8	Kötü seyirli SDNS	M.A	E	3	8	8	12	-	Var	Kısmi	-	88	FSGS
9	İyi seyirli SDNS	E.S	E	6	7	9	5	5	Yok	Yok	Yok	65	FSGS

No	Grup	İsim	Cins	Hastalık başlama yaşı (yıl)	İzlem süresi (yıl)	SDNS tanısı aldığı yaşı	NS-biyopsi arasında geçen süre (ay)	NS-dializ arası geçen süre (yıl)	Oral steroid tedavisine yanıt	Pulse MTP tedavisine yanıt	Mendoza tedavi protokolüne yanıt	Son renal durum (GFR mL/dak)	Histopatoloji
10	Kötü seyirli SDNS	H.K	E	4	5	4	1	-	Bağımlı	Kısmi	Kısmi	110	FSGS
11	Kötü seyirli SDNS	M.B	K	2	2	2	1	-	Bağımlı	Yok	Yok	120	FSGS
12	İyi seyirli SDNS	B.Ç	K	5	6	5	2	-	yok	Yok	Yok	60	FSGS
			E/K: 1,4	5,3±2,8	6,7±3,4	6,5±3,6	0,9±3,4						

GFR: Glomerüler filtrasyon hızı

SDNS: Steroid dirençli nefrotik sendrom

FSGS: Fokal segmental glomerülüsleroz

MLH: Minimal lezyon hastalığı

MTP: Metiprednizolon

E/K: Erkek kız oranı

Tablo 10. Steroid yanıtı nefrotik sendrom (SYNS) hastalarının özellikleri

No	Grup	İsim	Cins	Hastalık başlama yaşı (yıl)	İzlem süresi (yıl)	Toplam relaps sayısı	Son relapstan beri geçen süre (yıl)	Uygulanan tedavi	Biyopsi
1	Az relaps SYNS	M.Ö	E	3	10	1	4	OST	Yok
2	Az relaps SYNS	S.C	E	7	3	0	-	OST	Yok
3	Az relaps SYNS	Ş.G	K	1	7	1	4	OST	Yok
4	Az relaps SYNS	A.A	E	3	1.5	1	1	OST+P	Yok
5	Az relaps SYNS	M.Ü	E	3	3	0	-	OST	yok
6	Az relaps SYNS	İ.K	E	4	2	0	-	OST	yok
7	Az relaps SYNS	H.S	E	9	3	1	2	OST	yok
8	Az relaps SYNS	E.A	E	2	8	1	4	OST	yok
9	Az relaps SYNS	Ü.U	K	9	2	2	2	OST+P	yok
10	Az relaps SYNS	M.Ç	E	6	7	2	5	OST+P	yok
11	Az relaps SYNS	Ö.B	K	4	6	0	-	OST	yok
12	Az relaps SYNS	İ.G	E	1	5	2	4	OST	yok
13	Az relaps SYNS	B.B	K	2	14	1	13	OST	yok
14	Az relaps SYNS	M.Ö	E	4	3	1	2	OST	yok

No	Grup	İsim	Cins	Hastalık başlama yaşı (yıl)	İzlem süresi (yıl)	Toplam relaps sayısı	Son relapstan beri geçen süre (yıl)	Uygulanan tedavi	Biyopsi
15	Az relaps SYNS	A.A	E	4	8	0	-	OST	yok
16	Az relaps SYNS	G.K	K	9	3	0	-	OST	yok
17	Az relaps SYNS	M.U	E	6	4	1	3	OST+P	yok
18	Az relaps SYNS	Y.K	E	4	3	0	-	OST	yok
19	Az relaps SYNS	S.E	E	4	3	2	1	OST	yok
20	Az relaps SYNS	E.G	E	2	11	2	3	OST	yok
21	Az relaps SYNS	B.C	K	2	11	2	5	OST	yok
22	Az relaps SYNS	A.B	E	7	3	0	-	OST	yok
23	Az relaps SYNS	M.C	K	4	3	0	-	OST	yok
24	Az relaps SYNS	M.U	E	3	1	0	-	OST	yok
25	Az relaps SYNS	M.D	K	3	1	0	-	OST	yok
26	Az relaps SYNS	D.Ö	K	4	1	0	-	OST	yok
27	Çok relaps SYNS	İ.E	K	3	5	3	3	OST+P	yok
28	Çok relaps SYNS	U.A	E	8	7	3	5	OST+P	yok
29	Çok relaps SYNS	E.S	K	3	7	6	1	OST+P+E	yok
30	Çok relaps SYNS	G.Ç	K	4	8	5	2	OST+P+E	MLH

No	Grup	İsim	Cins	Hastalık başlama yaşı (yıl)	İzlem süresi (yıl)	Toplam relaps sayısı	Son relapstan beri geçen süre (yıl)	Uygulanan tedavi	Biyopsi
31	Çok relaps SYNS	İ.A	E	2	5	3	1	OST	yok
32	Çok relaps SYNS	H.Y	E	4	6	2	3	OST+P	yok
33	Çok relaps SYNS	O.O	E	3	13	7	1	OST+P	yok
34	Çok relaps SYNS	İ.S	K	2	9	5	2	OST	yok
35	Çok relaps SYNS	B.A	E	3	14	5	10	OST	yok
36	Çok relaps SYNS	F.S	K	9	7	7	7	OST+P+E	yok
37	Çok relaps SYNS	M.U	E	3	10	3	7	OST+E	yok
38	Çok relaps SYNS	R.S	K	3	3	4	1	OST+P+E	yok
39	Çok relaps SYNS	E.K	E	3	4	2	1	OST+P	yok
40	Çok relaps SYNS	H.Ö	E	2	13	8	2	OST+P+E	yok
41	Çok relaps SYNS	Y.K	E	7	3	9	1	OST+P+E	yok
42	Çok relaps SYNS	M.U	E	6	4	4	1	OST+E	yok
43	Çok relaps SYNS	Ş.K	K	3	12	3	4	OST	yok
44	Çok relaps SYNS	F.Y	E	2	11	12	3	OST+P+E	yok
45	Çok relaps SYNS	Y.Ç	E	9	5	5	3	OST+P+E	yok

No	Grup	İsim	Cins	Hastalık başlama yaşı (yıl)	İzlem süresi (yıl)	Toplam relaps sayısı	Son relapstan beri geçen süre (yıl)	Uygulanan tedavi	Biyopsi
46	Çok relaps SYNS	Z.T	K	1	11	8	1	OST+P	yok
47	Çok relaps SYNS	S.H	E	2	14	9	1	OST+P+E	yok
48	Çok relaps SYNS	M.Ç	E	7	4	8	1	OST+P+E	yok
49	Çok relaps SYNS	Ş.D	K	1	5	7	3	OST+E	yok
50	Çok relaps SYNS	A.Z	E	3	12	12	1	OST+E	yok
51	Çok relaps SYNS	O.Y	E	2	5	3	1	OST+P+E	yok
Toplu ortalama ± standart sapma			E/K: 1,83	4,0±2,4	6,3±3,9	3,2±3,3			

SYNS: Steroid yanıtı nefrotik sendrom

MLH: Minimal Lezyon Hastalığı

OST: Oral 4-8 hafta süreli günlük steroid tedavisi

P: Günaşırı 30 mg/kg/doz intravenöz metilprednisolon, 5-10 doz

E: Oral 2 mg/kg/gün oral endoksan tedavisi (3 ay)

E/K: Erkek kız oranı

Tablo 11. Sağlıklı kontrol grubu verileri.

No	İsim	Cins	Yaş (yıl)	İdrar	Htc (%)	Üre (mg/dL)	Kreatinin (mg/dL)	Ultrasonografi	Kan basıncı (mmHg)
1	E.A	E	5	N	39	21	0,9	N	90/70
2	N.Ş	K	7	N	41	30	1	N	100/70
3	E.Ö	K	10	N	37	26	0,9	N	100/60
4	A.Y	K	8	N	39	29	0,6	N	100/70
5	F.Ö	K	12	N	41	21	1	N	110/65
6	C.Ö	E	10	N	38	22	1,1	N	110/65
7	Y.Ö	E	6	N	40	21	0,9	N	95/60
8	O.Ç	E	3	N	39	16	0,7	N	90/55
9	M.K	E	8.5	N	41	16	0,9	N	110/65
10	H.Ç	E	12	N	41	17	0,8	N	100/60
11	A.Ş	E	11	N	42	19	0,9	N	100/65
12	A.S	E	17	N	42	21	1,1	N	120/70
13	M.Y	E	1	N	37	23	0,8	N	80/55
14	M.Ö	K	6	N	37	18	0,6	N	95/60
15	F.İ	K	10	N	39	30	0,8	N	100/60
16	H.Y	E	7	N	36	28	0,8	N	110/60
17	T.A	K	8	N	35	23	0,9	N	100/75
18	D.Ö	K	13	N	41	26	1,1	N	110/65
19	M.Ş	K	15	N	43	16	1,2	N	110/60
20	T.K	K	16	N	44	19	1,1	N	120/65
21	T.Ş	K	16	N	41	22	1	N	110/70
22	M.B	E	12	N	43	19	1,2	N	120/65
23	A.Ö	K	3.5	N	40	18	1,1	N	95/60
24	K.Ö	E	13	N	41	24	0,9	N	110/65
25	H.U	E	16	N	42	24	1	N	110/60
26	G.K	K	16	N	39	17	0,9	N	100/70
27	İ.G	K	16	N	42	19	1	N	120/65
28	M.D	K	17	N	41	21	0,9	N	100/75
29	İ.B	K	16	N	43	18	1	N	110/65
30	A.A	E	10	N	38	22	0,9	N	120/70
31	İ.Y	E	12	N	35	25	1,1	N	120/65
32	A.K	K	14	N	36	24	0,7	N	110/60
33	F.B	E	12	N	37	22	0,8	N	100/65
34	A.B	K	8	N	36	21	0,8	N	110/65
35	M.A	K	6	N	38	24	0,7	N	95/60
36	Z.U	K	5	N	38	16	0,8	N	100/60
37	F.A	E	8	N	39	19	0,8	N	110/65
38	M.Y	E	12	N	37	18	0,7	N	120/60
39	K.İ	E	10	N	35	22	0,8	N	110/70
40	M.Ç	E	12	N	38	24	0,8	N	100/60
41	S.B	E	13	N	34	21	0,6	N	125/75
42	F.S	E	16	N	37	23	0,5	N	110/65
43	S.A	E	10	N	38	22	0,8	N	100/60
44	A.İ	E	7	N	40	19	0,7	N	100/60
45	M.İ	E	7	N	38	16	0,6	N	100/60
46	K.Ö	K	10	N	41	21	0,9	N	100/65
47	B.T	E	13	N	42	22	1	N	120/80
48	C.K	E	7	N	43	24	0,9	N	95/60
49	S.K	E	3	N	41	26	1,1	N	90/55
50	R.U	K	10	N	40	24	0,6	N	100/60

No	İsim	Cins	Yaş (yıl)	İdrar	Htc (%)	Üre (mg/dL)	Kreatinin (mg/dL)	Ultrasonografi	Kan basıncı (mmHg)
51	N.A	K	17	N	44	21	0,8	N	110/65
52	A.Ş	K	3	N	38	19	0,8	N	90/55
53	C.Ö	K	3	N	41	17	0,9	N	85/55
54	N.A	K	5	N	34	26	0,8	N	80/60
55	M.D	E	11	N	38	23	0,5	N	95/65
56	L.R	E	10	N	40	19	0,5	N	95/60
57	İ.V	E	12	N	37	22	0,5	N	110/65
58	E.İ	E	13	N	39	28	0,6	N	110/60
59	M.T	E	8	N	35	25	0,6	N	100/70
60	M.E	E	8	N	33	18	0,9	N	100/65
61	H.K	K	8	N	38	19	0,8	N	110/65
62	H.Ç	E	16	N	36	21	0,9	N	120/70
63	R.T	E	12	N	40	23	0,5	N	110/65
64	G.K	K	16	N	41	19	0,9	N	100/60
65	S.A	E	6	N	39	24	1	N	110/60
66	C.G	K	11	N	37	19	0,8	N	120/80
67	Ö.Ç	E	24	N	39	23	0,6	N	110/70
68	S.Ö	K	18	N	40	22	0,9	N	120/75
69	N.P	K	16	N	36	26	1	N	115/60
70	M.D	E	18	N	41	24	0,8	N	120/80
71	M.E	E	16	N	40	24	0,5	N	110/75
72	B.T	E	10	N	38	18	0,9	N	
		E/K: 1,25	10,8±4,5						

N: Normal

Htc: Hematokrit

E/K: Erkek kız oranı

3.2. SOD Gen Polimorfizmi Belirleme Yöntemi

Hasta ve kontrol grubundaki bireylerden DNA izolasyonu için ethylenediamine-tetraacetic acid (EDTA) içeren steril tüplere yaklaşık 5'er cc venöz kan örnekleri alındı. DNA izolasyonuna kadar toplanan kanlar +4 °C'de muhafaza edildi.

3.2.1. Kullanılan Cihazlar

- Mikropipet seti (Eppendorf Research 10, 100, 1000, 5000 µL, Almanya)
- Soğutmalı santrifüj (Hettich Universal 32 R, Hettich Universal 320, Almanya)
- Mikrosantrifüj (Heraus Biofuge D-37520, Germany)
- Otoklav (Hirayama HVE-50 Japan)
- Etüv (Binder, Türkiye)

- Buzdolabı (Arçelik-8188 NF, Türkiye)
- Derin dondurucu (Beko 8460 T, Türkiye)
- Kar makinası (Hoshizaki FM-120EE, EU)
- Bidistile su cihazı (Millipore Simlicity 185, France)
- Su banyosu (Termal Laboratuvar Aletleri 820-3, Türkiye)
- Laminar hava kabini (ESCO, Türkiye)
- Ph metre (Hanna HI 9321 Microprocessor, Portugal)
- Vorteks (Nüve NM 110, Türkiye)
- Termal cycler (Peqlab Primus 96, Germany)
- Hassas terazi (Shimadzu AX200, Japan)
- Mikrodalga fırın (Beko MD 1505, China)
- Manyetik karıştırıcı (IKA RH-KT/C, Brazil)
- Elektroforez tankı (Scie-plas V-GEL, UK)
- Elektroforez güç kaynağı (Consort EV215, Belgium)
- Transsilüminatör (Ultra Lum. Inc., Türkiye)

3.2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Tris-Hidroklorid , EDTA , Tris Base Tris Base , Etidyum Bromid , Bidistile su ve DMSO SİGMA-Aldrich firmasından alındı. Gliserol ise MERCK firmasından temin edildi.

Wizard Genomic DNA purification Kit, Taq DNA Polimeraz, NgoM IV, PhiX174-Hae III (Marker DNA) ve dNTP Mix, Promega firmasından ayrıca sodyum klorür, etanol, borik asit, agaroz, gliserol ve 10xPCR Buffer kullanıldı.

Ala-9Val polimorfizmi için primer çifti:

Forward 5'-ACC AAC CAG CAG GCA GCT GGC GCC GG-3' (SOD A1)

Reverse 5' - GCG TTG ATG TGA GGT TCC AG-3' (SOD S1)

3.3. DNA İzolasyonu

Genomik DNA, 300 mikrolitre venoz kandan Promega Genomik DNA pürifikasyon hazır kiti kullanılarak izole edildi.

3.3.1. PCR İşlemi

MnSOD geninin ekson 2'deki Ala-9Val polimorfizmini belirlemek için primer çifti olarak:

Forward 5'- ACC AGC AGG CAG CTG GCG↓CCG G-3' (SOD A1)

Reverse 5' - GCG TTG ATG TGA GGT TCC AG-3' (SOD S1)

kullanıldı (194). Yüzyedi bp PCR ürünü, kullanılan spesifik primerlerle çoğaltıldı. PCR işlemi için Akyol ve arkadaşlarının (8) metodu kullanılmıştır. Bir örnek için PCR ortamında kullanılan malzeme ve miktarları şu şekildedir: Total hacim 50 µL olacak şekilde: 50 ng of genomik DNA, her primerden 20 pmol/ µL, 1.25 U Taq polymerase (in 50 mM Tris-HCl [pH8.0], 100 mM NaCl, 0,1 mM EDTA, 1 mM DTT, 50% glycerol and 1% Triton X-100), 2 mM dNTP, 2 mM MgCl₂, 1XPCR buffer içeriği 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl (pH 8,3 at 25 8C).

Tablo 12. PCR koşulları

Initialization step (İlk denatürasyon)	95 °C	5 dakika	
Denaturation step Denatürasyon	95 °C	1 dakika	35 döngü
Annealing step (Primer Bağlanması)	61 °C	1 dakika	
Extension step (Sentez, uzama)	72 °C	2 dakika	
Final elongation (Son uzama)	72 °C	7 dakika	

3.3.2. RFLP Yöntemi

PCR reaksiyonu bittikten sonra ependorf tüpleri thermal cyclerden çıkarıldı. PCR ürünleri restriksiyon endonükleaz enzimi olan NgoM IV (G↓CCGGC) ile 37 °C'de 16 saatte kesime bırakıldı.

Örnekler % 3'lük ethidium bromide (0,5 µg/mL)le boyanmış agaroz jelde elektroforez işlemine tabi tutuldu ve UV ışığı altında genotipler belirlendi.

PCR'den sonra Ngo MIV enziminin tanıdığı bölge bulunmadığında (V alleli) yalnızca 1 adet 107 baz çiftlik bant gözlenmektedir. Kesim olması durumunda (A alleli) 89 ve 18 baz çiftlik ayrı bantlar oluşacağı için (194), 89 baz çiftlik bir bant görülmektedir. 107 baz çiftlik tek bant elde edildiğinde bireyin MSS 16. kodondaki her iki allelin de valin/valin şeklinde olduğu, 107 baz çiftlik ve 89 baz çiftlik birer bantın elde edilmesi bireyin valin/alanin, yalnızca 89 baz çiftlik bir adet bantın bulunması ise bireyin alanin/alanin genotipine sahip olduğunu göstermiştir.

3.4. Sonuçların Değerlendirilmesi

Veriler, bilgisayar ortamında SPSS 15,0 paket istatistik programında yapıldı. Tanımlayıcı istatistik, ki-kare, Mann-Whitney-U testi, bağımsız iki grup t testi ve Kruskal- Wallis testleri ile analiz edildi. Anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edildi. Bunun yanında tahmini relatif risk açısından, odds oranı (OR) ve güvenilirlik aralığına (CI) bakıldı. Veri sunumu, sayı, yüzde değerler, ortalama, standart sapma, en küçük ve en büyük değerler kullanılarak yapıldı.

4. BULGULAR

İdiyopatik nefrotik sendrom tanılı toplam 63 hasta ve 72 sağlıklı bireyde MnSOD gen polimorfizmi dağılımı Tablo 13’de toplu olarak gösterilmektedir.

Tablo 13. İNS ve sağlıklı kontrol olgularının MnSOD gen polimorfizmi dağılımı

MnSOD genotip	İNS (n: 63) Sayı-(%)	Kontrol grubu (n: 72) Sayı-(%)	* p değeri	OR (%95 CI)
AA	11-(17,5)	8-(11,1)	AD	0,33 (0,15-0,72)
AV	24-(38,1)	41-(56,9)	AD	
VV	28-(44,4)	23-(31,0)	AD	1,7 (0,85-3,44)
ALLEL				
A	46-(36,5)	57-(39,6)	AD	0,88 (0,54-1,44)
V	80-(63,5)	87-(60,4)	AD	1,13 (0,70-1,87)

* İstatistiksel karşılaştırma Ki- kare testi ile yapılmış ve $p < 0,05$ anlamlı farklılık olarak kabul edilmiştir.

AD: İstatistiksel olarak anlamlı değil

İNS: İdiyopatik Nefrotik Sendrom

MnSOD: Manganez Süperoksit Dismutaz

OR: Odds oranı

CI: Güvenirlik aralığı

Kontrol grubundaki olgularda en sık AV (%56,9) daha sonra sırasıyla AA (%11,1) ve VV (%31,0) saptanırken, İNS olgularının tümü göz önüne alındığında en sık görülen genotip %44,4 oranında VV olup görülme sıklığı açısından sağlıklı kontrollerle arada anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo 13, $p > 0,05$). Allel sıklığına bakıldığında, İNS ve kontrol grubunda V allel oranları benzer bulundu (Tablo 13, $p > 0,05$). Bununla birlikte relatif riske bakıldığında, VV genotipinin İNS’li olgularda 1,7 kat daha fazla olduğu görüldü (Tablo 13, OR: 1,7).

Tablo 14’de farklı cins İNS olguları ile sağlıklı kontrol grubunun MnSOD gen polimorfizmi dağılımı gösterilmektedir.

Tablo 14. Farklı cins İNS olgularının MnSOD gen polimorfizmi dağılımı

MnSOD genotip	İNS- erkek (n: 40) Sayı-(%)	İNS-kız (n: 23) Sayı-(%)	* p değeri	OR (%95 CI)
AA	5-(12,5)	6-(26,1)	AD	0,40 (0,13-1,17)
AV	14-(35,0)	10-(43,5)	AD	
VV	21-(52,5)	7-(30,4)	AD	3,9 (1,60-9,56)
ALLEL				
A	24-(30,0)	22-(47,8)	AD	0,47 (0,22-0,99)
V	56-(70,0)	24-(52,2)	0,045	2,14 (1,00-4,53)

* İstatistiksel karşılaştırma Ki- kare testi ile yapılmış ve $p < 0,05$ anlamlı farklılık olarak kabul edilmiştir.

AD: İstatistiksel olarak anlamlı değil

İNS: İdiyopatik Nefrotik Sendrom

MnSOD: Manganez Süperoksit Dismutaz

OR: Odds oranı

CI: Güvenirlilik aralığı

İNS'li olgularda MnSOD genotipinin cinsiyete göre dağılımına bakıldığında, tablo 16'da görüldüğü gibi erkek olgularda sırasıyla VV genotipi %52,5, AV genotipi %35,0, AA genotipi %12,5 olarak bulunmuştur. Kızlarda ise dağılım sırasıyla AV genotipi %43,5, VV genotipi %30,4, AA genotipi %26,1'dir. Erkek olgularda VV genotip oranı kız olgulara göre yüksek saptanmasına rağmen aradaki fark anlamlı değildi (Tablo 14, $p > 0,05$). Relatif risk açısından erkeklerde kızlara oranla VV genotipi 3,9 kat daha fazla bulunmuştur (Tablo 14, OR: 3,9). Ayrıca allel dağılımına bakıldığında, erkek olgulardaki V allel sıklığı, kız olgulardan yüksek saptanmış ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Tablo 14, $p < 0,05$, OR: 2,14).

Tablo 15. İNS ve kontrol grubu erkeklerde MnSOD gen polimorfizmi dağılımı

MnSOD genotip	İNS- erkek (n: 40) Sayı-(%)	Kontrol- erkek (n: 40) Sayı-(%)	* p değeri	OR (%95 CI)
AA	5-(12,5)	4-(10,0)	AD	0,34 (0,14-0,87)
AV	14-(35,0)	25-(62,5)	AD	
VV	21-(52,5)	11-(27,5)	0,042	2,9 (1,15-7,39)
ALLEL				
A	24-(30,0)	33-(41,3)	AD	0,61 (0,32-1,17)
V	56-(70,0)	47-(58,8)	AD	1,64 (0,85-3,15)

* İstatistiksel karşılaştırma Ki- kare testi ile yapılmış ve $p < 0,05$ anlamlı farklılık olarak kabul edilmiştir.

AD: İstatistiksel olarak anlamlı değil

İNS: İdiyopatik Nefrotik Sendrom

MnSOD: Manganez Süperoksit Dismutaz

OR: Odds oranı

CI: Güvenirlilik aralığı

İNS ve kontrol grubu erkek ve kız olgular arasında MnSOD genotipleri arasındaki ayrı ayrı karşılaştırmalar Tablo 15 ve Tablo 16’da görülmektedir. Kız hasta ve kontrol grubu kızlar arasında yapılan değerlendirmede, MnSOD genotipleri ve allel sıklıkları benzer bulundu (Tablo 16, $p>0,05$). Erkek hasta ve kontrol grubu erkekler arasında yapılan karşılaştırmada, İNS erkek grupta VV genotipi, kontrol grubu erkeklerden yüksek saptanmış olup (%52,5’e karşılık %27,5) aradaki fark istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur (Tablo 15, $p< 0,05$). Ayrıca hasta grubu erkeklerde V allel sıklığı yüksek bulunmasına karşın aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır (Tablo 15, $p>0,05$). Relatif riske bakıldığında, İNS’li kızlarla kontrol grubu kızlar arasında VV genotipi oranında farklılık görülmedi. Ancak İNS’li erkek olgular ile kontrol grubuna bakıldığında, relatif olarak İNS’li erkek olgularda VV genotipi 2,9 kat (Tablo 15, OR:2,9), V alleli ise 1,64 kat daha sık görülmüştür (Tablo 15, OR:1,64).

Tablo 16. İNS ve kontrol grubu kızlarda MnSOD gen polimorfizmi dağılımı

MnSOD genotip	İNS – kız (n: 23) Sayı-(%)	Kontrol- kız (n: 32) Sayı-(%)	* p değeri	OR (%95 CI)
AA	6-(26,1)	4-(12,5)	AD	1,37 (0,43-4,30)
AV	10-(43,5)	16-(50,0)	AD	
VV	7-(30,4)	12-(37,5)	AD	0,72 (0,23-2,28)
ALLEL				
A	22-(47,8)	24-(52,2)	AD	1,5 (0,70-3,30)
V	24-(37,5)	40-(62,5)	AD	0,65 (0,30-1,41)

* İstatistiksel karşılaştırma Ki- kare testi ile yapılmış ve $p<0,05$ anlamlı farklılık olarak kabul edilmiştir.

AD: İstatistiksel olarak anlamlı değil

İNS: İdiyopatik Nefrotik Sendrom

MnSOD: Manganez Süperoksit Dismutaz

OR: Odds oranı

CI: Güvenirlik aralığı

4.1. SDNS Olgularında MnSOD Gen Polimorfizminin Değerlendirilmesi

SDNS grubunda yer alan olguların genel özellikleri ve MnSOD gen polimorfizmi sonuçları Tablo 7 ve Tablo 17’de verilmiştir. Hastaların tamamında hastalığın başlangıcı NS şeklindedir.

Tablo 17. SDNS ve sağlıklı kontrol MnSOD gen polimorfizmi sonuçlarının karşılaştırılması

MnSOD genotip	SDNS (n: 12) Sayı-(%)	Kontrol (n: 72) Sayı-(%)	* p değeri	OR (%95 CI)
AA	2-(16,7)	8-(11,1)	AD	0,33 (0,10-1,17)
AV	3-(25,0)	41-(56,9)	AD	
VV	7-(58,3)	23-(31,9)	AD	2,98 (0,85-10,4)
ALLEL				
A	7-(29,2)	57-(39,6)	AD	0,62 (0,25-1,61)
V	17-(70,8)	87-(60,4)	AD	1,59 (0,62-4,08)

* İstatistiksel karşılaştırma Ki- kare testi ile yapılmış ve $p < 0,05$ anlamlı farklılık olarak kabul edilmiştir.

AD: İstatistiksel olarak anlamlı değil

MnSOD: Manganez Süperoksit Dismutaz

SDNS: Steroid dirençli nefrotik sendrom

OR: Odds oranı

CI: Güvenirlilik aralığı

SDNS olgularına bakıldığında, MnSOD gen polimorfizmi 7 olguda VV (%58,3), 3 olguda AV (%25) ve 2 olguda AA (%16,7) olarak saptandı (Tablo 17). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, VV genotip sıklığı diğer genotiplere göre SDNS'li hastalarda yüksek olmakla birlikte aradaki fark anlamlı bulunmadı (Tablo 17, $p > 0,05$). SDNS olguları ve kontrol grubunda allel oranları arasında da anlamlı farklılık yoktu. SDNS olguları relatif risk açısından kontrol grubu ile kıyaslandığında, VV genotipi 2,9 kat (Tablo 17, OR:2,9), V alleli ise 1,59 kat yüksek bulundu (Tablo 17, OR:1,59).

4.2. SDNS Olgularında Hastalığın Gidişi ve MnSOD Gen Polimorfizminin İlişkisi

Kötü seyirli SDNS olgularında, iyi seyirli SDNS olgularına göre, hastalık başlama yaşı, izlem süresi, tanı alma yaşı, serum kreatinin, serum kolesterol düzeyi ortalamaları ve erkek cinsiyet oranı yüksek, serum albumin düzeyi daha düşük olsa da istatistiksel olarak iki grup arasında anlamlı farklılık bulunmadı. GFR oranlarına bakıldığında, kötü seyirli SDNS'de bu oran iyi seyirli SDNS'ye göre daha bozuk ve bu fark anlamlı bulunmuştur (Tablo 18, $p:0,007$). Ayrıca kötü seyirli SDNS'de iyi seyirli SDNS'ye göre böbrek fonksiyonları oran olarak azalmış, SDBY gelişimi artmıştır ve bu durum istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur (Tablo 18, $p: 0,001$). Nefrotik sendrom tablosunda tüm tedavi girişimlerine rağmen gerileme olmaması ve

ilerleyici böbrek fonksiyon kaybı nedeniyle kötü seyirli SDNS olarak kabul edilen olgular ile tamamı tam veya kısmi remisyonda ve/veya böbrek fonksiyonları normal olan, iyi seyirli SDNS’de yer alan olgularının MnSOD genotip sonuçları karşılaştırıldığında, kötü seyirli SDNS’de VV genotip sıklığının (%80’e karşı %42,9) iyi seyirli SDNS’ye oranla daha fazla olduğu bulundu ancak bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo 18, $p>0,05$).

Tablo 18. Steroid dirençli nefrotik sendrom (SDNS) gruplarındaki hastaların karakteristiklerinin karşılaştırılması

ÖZELLİKLER	İyi Seyirli SDNS	Kötü Seyirli SDNS	p değeri
Olgu Sayısı Sayı-(%)	7/12-(58,3)	5/12-(41,7)	-
Hastalık başlama Yaşı (yıl) (Ortalama±Standart Sapma)	5,0±3,4	5,8±1,9	AD**
İzlem Süresi (yıl) (Ortalama±Standart Sapma)	5,4±2,9	8,4±3,7	AD**
Tanı Alma Yaşı (yıl) (Ortalama±Standart Sapma)	5,7±3,4	7,6±3,8	AD**
Serum Albumin (gr/dL) (Ortalama±Standart Sapma)	2,1±0,4	1,8±0,3	AD**
Serum Kreatinin (mg/dL) (Ortalama±Standart Sapma)	0,4 ±0,2	2,6±3,0	AD**
Serum Kolesterol (mg/dL) (Ortalama±Standart Sapma)	277,1±58,6	499,6±294,6	AD**
GFR*** Düzeyi (mL/dak) (Ortalama±Standart Sapma)	99,7±13,2	58,8±21,1	p: 0,007**
VV genotip	3/7-(%42,9)	4/5- (%80,0)	AD*
V allel sıklığı	9 (%64,3)	8 (%80,0)	AD*

* İstatistiksel karşılaştırma Ki- kare testi ile yapılmış ve $p<0,05$ anlamlı farklılık olarak kabul edilmiştir.

** Mann-Whitney U testi

*** Glomeruler filtrasyon hızı

SDNS: Steroid dirençli nefrotik sendrom

İyi ve kötü seyirli SDNS hastaları ile sağlıklı kontrol grubu MnSOD genotipi ayrı ayrı karşılaştırıldığında, iyi seyirli SDNS ile kontrol grubu olgularda VV genotipi sırasıyla %42,9 ve %31,9 iken bu oran kötü seyirli SDNS olgularında %80 bulunmuştur. Ancak aradaki bu fark anlamlı bulunmamıştır (Tablo 19, $p>0,05$). Bunun yanında relatif risk açısından gruplar karşılaştırıldığında, iyi seyirli SDNS olgularında VV genotipi kontrol grubuna oranla 1,59 kat (OR: 1,59, CI: 0,33-7,73) daha yüksek bulundu. Kötü seyirli SDNS olguları, iyi seyirli SDNS olguları ile kıyaslandığında ise VV genotipi 5,33 kat (OR: 5,33, CI: 0,37-75,7), V alleli 2,22 kat

(OR: 2,22, CI: 0,33-14,8) daha fazla idi. Kötü seyirli SDNS olguları ile kontrol grubunda relatif riske bakıldığında, VV genotipinin kötü seyirli SDNS olgularında 8,52 kat (OR: 8,52, CI: 0,9-80,5), V allelinin ise 2,62 kat (OR: 2,62, CI: 0,53-12,78) yüksek olduğu bulundu.

Tablo 19. Hastalığın şiddetine göre oluşturulan SDNS alt grupları ile kontrol grubu MnSOD gen polimorfizminin karşılaştırılması

MnSOD genotip	İyi Seyirli SDNS (n: 7) Sayı-(%)	Kötü Seyirli SDNS (n: 5) Sayı-(%)	Kontrol (n: 72) Sayı-(%)	* p değeri
AA	1-(14,3)	1-(20,0)	8-(11,1)	AD
AV	3-(42,9)	-	41-(56,9)	AD
VV	3-(42,9)	4-(80,0)	23-(31,9)	AD
ALLEL				
A	5-(35,7)	2-(20,0)	57-(39,6)	AD
V	9-(64,3)	8-(80,0)	87-(60,4)	AD

* İstatistiksel karşılaştırma Ki- kare testi ile yapılmış ve $p < 0,05$ anlamlı farklılık olarak kabul edilmiştir.

AD: İstatistiksel olarak anlamlı değil

MnSOD: Manganez Süperoksit Dismutaz

SDNS: Steroid dirençli nefrotik sendrom

Tablo 19'da görüldüğü gibi SDNS hastaları içinde VV genotip olan toplam 7 olgu mevcuttu ve bunların 5'inde (%71,4) KBY gelişmişti. Buna karşın AV ve AA genotipte olan 3 SDNS hastasından ise sadece 1'inin (%33,3) böbrek fonksiyonları bozuktu. Bu durum istatistiksel olarak değerlendirildiğinde aradaki fark anlamlı değildi ($p > 0,05$). Ayrıca transplantasyona giden 3 hastadan 2'sinin (%66,6) VV genotipinde olduğu görüldü, bu fark da anlamlı bulunmadı ($p > 0,05$).

4.3. SYNS Grubunda MnSOD Gen Polimorfizminin Değerlendirilmesi

Çalışmaya alınan 51 SYNS hastalarına ve çok/az relaps yapan gruplara ait özellikler daha önce Tablo 8'de özetlenmiştir. SYNS içinde erkek/kız cinsiyet oranı 1,83 olup cinsiyetler arası fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Tablo 20. SYNS ve kontrol grubu MnSOD gen polimorfizmi sonuçlarının karşılaştırılması

MnSOD genotip	SYNS (n: 51) Sayı-(%)	Kontrol (n: 72) Sayı-(%)	* p değeri	OR (%95 CI)
AA	9-(17,6)	8-(11,1)	AD	0,67 (0,32-1,41)
AV	21-(41,2)	41-(56,9)	AD	
VV	21-(41,2)	23-(31,9)	AD	1,49 (0,70-3,14)
ALLEL				
A	39-(38,2)	57-(39,6)	AD	0,95 (0,56-1,59)
V	63-(61,8)	87-(60,4)	AD	1,05 (0,62-1,78)

* İstatistiksel karşılaştırma Ki- kare testi ile yapılmış ve $p < 0,05$ anlamlı farklılık olarak kabul edilmiştir.

AD: İstatistiksel olarak anlamlı değil

MnSOD: Manganez Süperoksit Dismutaz

SYNS: Steroid yanıtı nefrotik sendrom

OR: Odds oranı

CI: Güvenirlilik aralığı

Tablo 20’de SYNS olarak izlenen 51 olgunun MnSOD gen polimorfizmi dağılımının sağlıklı kontroller ile karşılaştırılması verilmiştir. Tabloda görüldüğü gibi kontrol grubunda AV genotipi daha yüksek (%56,9) oranda iken SYNS olgularında AV ve VV genotipleri eşit oranda (%41,2) bulunmuştur. Allel sıklığına bakıldığında SYNS ve kontrol grubu arasında belirgin farklılık saptanmamış olup, SYNS ve kontrol grubu arasında genotip dağılımı ve allel sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark elde edilememiştir (Tablo 20, $p > 0,05$). SYNS ile kontrol grubu kıyaslandığında, VV genotipi relatif olarak SYNS olgularında 1,49 kat daha fazla bulundu (Tablo 20, OR: 1,49).

Tablo 21. Steroide yanıtı nefrotik sendrom (SYNS) gruplarındaki hasta özellikleri

ÖZELLİKLER	Az Relaps SYNS Sayı-(%)	Çok Relaps SYNS Sayı-(%)	p değeri
Olgu Sayısı (Sayı-%)	26/51-(51,0)	25/51-(49,0)	-
Cinsiyet Erkek (Sayı-%) Kadın	17/26-(51,5) 9/26-(50,0)	16/25-(48,5) 9/25-(50,0)	AD*
Hastalık Başlama Yaşı (yıl) (Ortalama±Standart Sapma)	4,3±2,4	3,8±2,4	AD**
İzlem Süresi (yıl) (Ortalama±Standart Sapma)	4,8±3,6	7,9±3,7	p: 0,002**
Tanı Alma Yaşı (yıl) (Ortalama±Standart Sapma)	4,3±2,4	3,8±2,4	AD**
Serum Albumin (gr/dL) (Ortalama±Standart Sapma)	2,2±0,6	2,0±0,8	AD**
Serum Kreatinin (mg/dL) (Ortalama±Standart Sapma)	0,5±0,2	0,5±0,2	AD**
Serum Kolesterol (mg/dL) (Ortalama±Standart Sapma)	384,8±131,0	355,8±114,2	AD**
GFR*** Düzeyi (mL/dak) (Ortalama±Standart Sapma)	125,4±9,3	117,3±9,6	p: 0,003**
Relaps Sayısı (Ortalama±Standart Sapma)	0,8±0,8	5,7±2,9	p: 0,000**
Son Relaps Sonu Süre (yıl) (Ortalama±Standart Sapma)	2,0±2,9	2,6±2,4	AD**
Oral Steroide Yanıt Bağımlı Var	- 26/26	15/25 10/25	p: 0,000*
VV genotipi	10/26-(38,5)	11/25-(44,0)	AD*
V alleli	32-(61,5)	31-(62,0)	AD*

* İstatistiksel karşılaştırma Ki- kare testi ile yapılmış ve p<0,05 anlamlı farklılık olarak kabul edilmiştir.

** Mann-Whitney U testi.

*** Glomeruler filtrasyon hızı

SYNS: Steroid yanıtı nefrotik sendrom

4.4. SYNS Olgularında Relaps Sıklığı ve MnSOD Gen Polimorfizmi Arasındaki İlişki

SYNS hastaları arasında en az 3 yıllık izlemi dolduran, oral steroid tedavisine yanıt veren veya izlem süresine bakılmaksızın sık relaps nedeniyle steroid bağımlı olan ya da sitotoksik ilaç kullanan toplam 51 hasta vardı. Bu hasta grubu relaps sıklığı ve steroid dışı tedavi gerektirme özelliklerine göre, MnSOD gen polimorfizmi dağılımı henüz belirlenmeden önce iki gruba ayrıldı. Tablo 21'de görüldüğü gibi, gruplar arasında cinsiyet, hastalık başlama yaşı, tanı alma yaşı, serum albumin,

kreatinin, kolesterol ve son relapstan itibaren geçen süre açısından farklılık saptanmadı. Çok relaps SYNS’de, az relaps SYNS’ye göre izlem süresi, relaps sayısı ortalaması yüksek, GFR ortalaması ve oral steroid tedavisine verdiği yanıt düşük tespit edildi. Bu durum istatistiksel olarak da anlamlıydı (Tablo 21, $p < 0,05$). Çok relapsla seyreden SYNS olgularında VV genotip sıklığı (%44) az relaps yapan olgular ile (%38,5) benzerdi.

Az ve çok relaps SYNS olguları ile sağlıklı kontrol grubunun MnSOD gen polimorfizmi sonuçları ayrı ayrı karşılaştırıldığında (Tablo 22), VV genotipi az relaps yapan SYNS’de %38,5, çok relaps yapan SYNS’de %44 ve kontrol grubunda %31,9 olarak saptandı. Allel sıklığında bakıldığında, V alleli az relaps yapan SYNS’de %61,5, çok relaps yapan SYNS’de %62, kontrol grubunda %60,4 olarak bulundu. Aradaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo 22, $p > 0,05$). Relatif risk açısından gruplar karşılaştırıldığında, az relaps SYNS olgularında VV genotipi kontrol grubuna oranla 1,3 kat (OR: 1,3, CI: 0,5-3,3), V alleli ise 1,41 kat (OR: 1,41, CI: 0,74-2,67) daha yüksek bulundu. Çok relaps SYNS olguları, az relaps SYNS olguları ile kıyaslandığında ise VV genotipi 1,25 kat (OR: 1,25, CI: 0,41-3,84), V alleli ise 1,52 kat (OR: 1,52, CI: 0,71-3,26) daha fazla idi. Çok relaps SYNS olguları ile kontrol grubunda relatif riske bakıldığında, VV genotipinin çok relaps SYNS olgularında 1,68 kat (OR: 1,68, CI: 0,66-4,25) yüksek olduğu bulundu.

Tablo 22. SYNS alt grupları ile kontrol grubu arasında MnSOD gen polimorfizmi ilişkisi

MnSOD genotip	Az Relaps SYNS (n: 26) Sayı-(%)	Çok Relaps SYNS (n: 25) Sayı-(%)	Kontrol (n: 72) Sayı-(%)	* p değeri
AA	4-(15,4)	5-(20,0)	8-(11,1)	AD
AV	12-(46,2)	9-(36,0)	41-(56,9)	AD
VV	10-(38,5)	11-(44,0)	23-(31,9)	AD
ALLEL				
A	20-(38,5)	19-(38,0)	57-(39,6)	AD
V	32-(61,5)	31-(62,0)	87-(60,4)	AD

* İstatistiksel karşılaştırma Ki- kare testi ile yapılmış ve $p < 0,05$ anlamlı farklılık olarak kabul edilmiştir.

AD: İstatistiksel olarak anlamlı değil

MnSOD: Manganez Süperoksit Dismutaz

SYNS: Steroid yanıtı nefrotik sendrom

4.5. SYNS ve SDNS Olguları Arasında MnSOD Gen Polimorfizminin Karşılaştırılması

Çalışma grubunda yer alan 12 SDNS ve 51 SYNS olgusunda SOD genotip dağılımında farklılık olmadığı değerlendirildi. SYNS olgularında görülen VV genotip sıklığı ile SDNS olgularındaki VV genotip sıklığı (sırasıyla %41,2 ve %58,3) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamadı. Relatif risk açısından SYNS ile SDNS kıyaslandığında, SYNS olgularında AA/AV genotiplerinin 2 kat daha yüksek olduğu görüldü. (Tablo 23, OR: 2,0).

Tablo 23. SYNS ve SDNS MnSOD gen polimorfizmi sonuçlarının karşılaştırılması

MnSOD genotip	SYNS (n: 51) Sayı-(%)	SDNS (n: 12) Sayı-(%)	* p değeri	OR (%95 CI)
AA	9-(17,6)	2-(16,7)	AD	2,0 (0,56-7,16)
AV	21-(41,2)	3-(25,0)	AD	
VV	21-(41,2)	7-(58,3)	AD	0,5 (0,13-1,79)
ALLEL				
A	39-(38,2)	7-(29,2)	AD	1,50 (0,57-3,95)
V	63-(61,8)	17-(70,8)	AD	0,66 (0,25-1,75)

* İstatistiksel karşılaştırma Ki- kare testi ile yapılmış ve $p < 0,05$ anlamlı farklılık olarak kabul edilmiştir.

AD: İstatistiksel olarak anlamlı değil

MnSOD: Manganez Süperoksit Dismutaz

SYNS: Steroid yanıtı nefrotik sendrom

SDNS: Steroid dirençli nefrotik sendrom

OR: Odds oranı

CI: Güvenirlik aralığı

5. TARTIŞMA

Antioksidan enzimler arasında yer alan MnSOD'un böbrek ve böbrek dışı tüm doku hasarlanmalarına karşı korunmada önem taşıdığı konusunda görüş birliği vardır (4,92,93,147). MnSOD, kişinin genetik yapısına göre değişkenlik gösterir. Bu değişkenliğin nedeni yüksek oranda polimorfizm gösteren MnSOD geninden kaynaklanmaktadır (159,195,196). MnSOD gen polimorfizminin değişen sıklıkları oksidatif hasara karşı değişen koruyuculuklar ile ilişkili olabilir. MnSOD genotipi VV homozigot olan olgularda, serum ve hücrel MnSOD aktivitesinin diğer genotipte olanlara (AA, AV) göre daha düşük olduğu ve birçok böbrek hastalıklarının VV genotip varlığında daha sık görüldüğü ve/veya daha ağır seyrettiği gösterilmiştir (9,10,11). Farklı görüşte çalışmalar olsa da MnSOD gen polimorfizminde VV genotip varlığının böbrek hastalıklarının ilerlemesinde olumsuz etki gösterdiği görüşü daha çok kabul görmektedir.

V allel varlığı ile böbrek hastalıkları arasındaki ilişkiye bakıldığında, V alleleline sahip olan kişilerde daha düşük mitokondrial MnSOD aktivitesi görüldüğü ve bu durumun oksidatif strese karşı daha az etkinlikte mitokondrial defans ile ilişkili olduğu böylece mitokondrial fonksiyonu ve apoptozisi etkilediği tahmin edilmektedir. V alleli, oksidatif saldırıda belirgin olarak azalmış MnSOD aktivitesi, artmış sitozolik sitokrom c seviyeleri ve azalmış antioksidan kapasite ile ilişkili olabilir. Azalmış mitokondrial antioksidan koruyuculuğun veya oksidatif strese karşı suboptimal cevapların oksidatif saldırı sonrası çok büyük ölçüde antioksidan tüketimine yol açmasından da bahsedilebilir (159).

Oksidatif hasar, metabolik, inflamatuvar, toksik ve reperfüzyon hasarlarını içeren bir durumdur (106,197). Nötrofiller, monositler, makrofajlar, endotelial ve mezangial hücreler tarafından oluşturulan reaktif oksijen molekülleri tarafından başlatılır (197). Toksik, iskemik ve immün aracılı böbrek hasarlarından sorumlu mekanizmalardan biri de reaktif oksijen molekülleridir. Böbrekler vasküler yapıda oldukları için nötrofillerin ulaşması kolaydır ve inflamasyona neden olan immün komplekslerin birikimi için hedef durumdadır (198). Bunun dışında böbrekler endotelial ve mezangial hücrelerden zengin olup hasar esnasında reaktif oksijen

moleküllerinin yapımı artmaktadır. Dolayısıyla böbreklerin diğer organlara göre oksidatif hasara karşı daha duyarlı olduğu bilinmektedir (197).

Çeşitli nefropatilerin patogenezinine yönelik yapılan farklı çalışmalarda, böbrek dokusu veya idrarda artmış oksidan hasar ürünlerinin saptanması ile birçok renal problemde serbest oksijen radikallerinin rolünün olduğu gösterilmiştir (132). Farklı araştırmacılar çeşitli antioksidanlar uygulayarak bu hasarlanmayı azaltmaya ya da önlemeye yönelik çalışmalar yapmışlardır. Yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda da reaktif oksijen mediatörlerinin NS'nin patofizyolojik sürecinde rol aldığı gösterilmiştir (4-7).

Yapılan deneysel bir çalışmada (199), fare mitokondrisine alanin varyantı yerleştirilmesi sonucu mitokondrial MnSOD aktivitesinin, valin varyantı yerleştirilmesinden sonraki aktiviteye oranla %30 daha fazla olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak, A alleleline sahip örneklerde V alleleline sahip olanlara göre MnSOD aktivitesi daha yüksek bulunmuştur.

Böbrek hastalıklarında olgudan olguya değişiklik gösteren ilerleyici böbrek hasarının V allel varlığı ile ilişkili olduğunu bildiren yayınlar vardır (200). Bunun yanında allel farklılıklarının nefropati gelişiminde anlamlı farklılık olmadığını ileri süren çalışmalar da mevcuttur (179). MnSOD gen polimorfizminin hastalık oluştuktan sonra, böbrek hastalığının ilerlemesini genetik olarak etkilediği yönündeki görüş daha yaygın kabul görmektedir.

MnSOD gen polimorfizmi ile böbrek hastalıkları arasındaki ilişki birçok çalışmada incelenmiş ve VV genotipine sahip olgularda böbrek hastalıklarının daha sık görüldüğü ve daha hızlı ilerlediği bildirilmiştir (9-11). Ürolityazisli hastalar arasında yapılan kontrollü çalışmada (13), hastaların kontrol grubuna göre daha fazla V alleleline sahip oldukları gösterilmiştir. SLE olgularının renal tutulumunda MnSOD gen polimorfizminin etkisini araştıran çalışmalara bakıldığında (14,15), hasta grubunda VV genotipi kontrol grubuna göre daha yüksek oranda saptanmış ayrıca SLE'li olgularda çeşitli klinik bulguları başlattığı ve renal tutulum için ilave bir katkı gösterdiği bildirilmiştir.

Bizim çalışmamızda değerlendirmeye aldığımız İNS hastaları arasında MnSOD gen delesyon homozigotluğu yani VV gen polimorfizmi dağılımı, sağlıklı

kontrol grubuna göre fazla olmasına rağmen arada anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$). Ancak her iki grup relatif risk açısından değerlendirildiğinde, İNS'li olgularda VV genotipi kontrol grubuna oranla 1,7 kat daha yüksek bulunmuştur (OR: 1,7). VV genotipine sahip olmak İNS ve kontrol grupları arasında anlamlı farklılık oluşturmaya da bu durum çalışma grubumuzdaki İNS'li olgu sayısının az olması ile ilişkili olabilir. İNS'nin oluşmasındaki kesin mekanizmalar tam olarak bilinmemekte ve hangi grupların hastalık gelişimi ve kötü seyir açısından daha fazla risk taşıdığı konusunda elimizde kesin veriler bulunmamaktadır. Yaptığımız çalışmanın sonuçlarına bakıldığında, İNS'li olgularda MnSOD genotip dağılımında VV genotipine sahip olmanın İNS gelişmesi için risk faktörü olmadığı ve hastalığın oluşmasına genetik yatkınlık yaratmayacağı düşüncesindeyiz. Möllsten ve ark. (9), İsveç ve Finlandiyalı tip 1 diyabetes mellituslu hastalarda 2007 yılında yapmış oldukları çalışmada, VV genotipinin diyabetik nefropati riskini artırdığı ortaya konmuştur. Nomiya ve ark. tarafından (10), 2003 yılında tip 2 diyabetes mellituslu hastalarda yapılmış olup benzer bulgular elde edilmiştir. Sonuç olarak MnSOD V allelinin diyabetli hastalarda oksidatif stresi önleyemediği ve nefropati gelişimine katkı sağladığı öne sürülmüştür. Liu ve ark. (11), 2009 yılında Çin'de tip 2 diyabetes mellituslu hastalarda MnSOD Val16-Ala polimorfizmine baktıklarında, diyabetik nefropatili hastalarda AA ve AV genotiplerinin diyabetik nefropati gelişimine karşı koruyucu olabileceğini öne sürmüşlerdir. Dolayısıyla VV genotipinin tip 2 diyabetli hastalarda nefropati gelişimi için kötü prognoz olabileceği belirtilmiştir. Ancak İNS'li olgularda MnSOD gen polimorfizminin değerlendirildiği ve sonuçlarımızın karşılaştırılabildiği bir veri literatürde mevcut değildir. Bu nedenle çalışmamızda hasta grubunda sağlıklı kontrollere göre yüksek oranda saptanan ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmayan VV genotipine sahip olmanın yarattığı risk ile ilgili, daha fazla olgu ile yapılacak yeni çalışmalar kesin yargıya varılmasını sağlayabilir. Böylece VV genotip ile İNS arasında anlamlı ilişki ortaya konabilir.

İNS, çocukluk çağında erkeklerde kızlara oranla 2 kat daha sık görülmektedir (17,20). Literatüre bakıldığında, MnSOD gen polimorfizminin cinsiyete göre dağılımını inceleyen çalışmaya rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda İNS'li 40 erkek, 23 kız olgu alınmıştır. MnSOD gen polimorfizmi dağılımına bakıldığında VV genotipi erkek olgularda %52,5 iken kız olgularda %30,4 olarak saptanmış fakat bu

fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Fakat relatif riske bakıldığında erkeklerde kızlara oranla VV genotipi 3,9 kat daha fazla bulunmuştur (OR: 3,9). Ayrıca allel dağılımına bakıldığında erkek olgularda V allel sıklığı %70,0, kız olgularda %52,2 olarak saptanmıştır ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Bunun yanında erkek olgularda V alleli kızlara göre relatif olarak 2,14 kat daha fazla görülmektedir (OR: 2,14). Bu sonuçlar çalışmamızın en değerli verilerilerindedir.

Çalışma grubumuzdaki kız olgular ile sağlıklı kontrol grubundaki kızlar genotip açısından karşılaştırıldığında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$). Relatif riske bakıldığında İNS'li kızlarla kontrol grubu kızlar arasında VV genotipi oranı benzer bulunmuştur.

İNS'li erkek olgular ile sağlıklı kontrol grubundaki erkeklerde MnSOD gen polimorfizmlerine bakıldığında, VV genotipi İNS'li erkeklerde yüksek bulunmuştur (%27,5'a karşı %52,5, $p<0,05$). Relatif olarak bakıldığında İNS'li erkek olgularda, kontrol grubu erkek olgulara göre VV genotipi 2,9 kat daha fazladır (OR: 2,9). Ayrıca allel dağılımına bakıldığında erkek olgularda V allel sıklığı kontrol grubu erkeklere oranla daha fazla saptanmıştır ve relatif olarak hasta erkeklerde 1,64 kat daha yüksek olduğu görülmüştür (OR: 1,64). Bu çalışma bize, erkek hastalarda İNS gelişimi ile V alleli arasında bir ilişki olabileceğini, V allel homozigotluğunun veya heterozigotluğunun, erkeklerde hastalığın kızlara oranla daha sık rastlanmasını da tetikleyebileceğini düşündürmektedir. Ayrıca genetik risk oluşturabileceği düşüncesini de desteklemektedir. Erkek cins İNS olgularında bulunan bu VV genotip ve V allel fazlalığı bu çalışmanın en önemli sonuçlarından biridir.

İNS'nin alt grupları olan SYNS, SDNS hastaları bazı yönlerden birbirine benzer ancak aynı hastalığın farklı prezentasyonları olarak değerlendirilmektedir. Bunun yanında steroide yanıt verme ile son dönem böbrek yetmezliğine ilerleme durumları göz önüne alındığında farklı iki grup hastalık olarak kabul edilmeleri daha uygun olabilir. Her iki hastalık grubunda da değişken klinik tablo ve seyir gösteren olguların varlığı da unutulmamalıdır.

SDNS olguları, çocukluk dönemi edinsel böbrek hastalıkları arasında yer alır ve steroide yanıt vermeyen MLH ve FSGS hastalarıyla, SDBY ilerleyen FSGS

hastalarından oluşmaktadır. Bu grup, farklı etnik yapıya sahip olanlarda daha yüksek prevalansta olması, değişken klinik seyri ve ailevi formlarının tanımlanması nedeniyle sıklığı ve klinik seyri üzerinde genetik faktörlerin etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Daha önce de bahsedildiği gibi oksidatif stres böbrek hastalığının ilerlemesindeki olası patofizyolojik mekanizmalardan biri olup yapılan çalışmalar (10,13,15), antioksidan enzimlerden olan MnSOD'un genetik polimorfizminin, çeşitli böbrek hastalıklarının klinik gidişi ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Ürolityazis, SLE'nin renal tutulumu ve diyabetik nefropati gibi çeşitli glomerüler hastalıklardaki klinik bulgular ve prognoz ile MnSOD gen polimorfizmi arasındaki ilişkinin gösterilmesi aynı durumun SDNS hastaları içinde geçerli olabileceğini düşündürmektedir. Literatürde bu görüşten hareket edilerek yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışma grubumuzda yer alan toplam 12 SDNS hastasında VV gen polimorfizmi oranı %58,3 iken sağlıklı kontrol grubunda %31,9'dur. SDNS'li olgularda saptadığımız bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). Ancak SDNS olguları relatif risk açısından kontrol grubu ile kıyaslandığında, SDNS olgularında VV genotipi 2,98 kat daha yüksek bulunmuştur (OR: 2,98). V alleli ise SDNS olgularında kontrol grubuna oranla 1,59 kat fazladır (OR: 1,59). VV genotipine sahip olma SDNS hastaları için anlamlı bulunmasa da bu durum çalışma grubumuzdaki SDNS'li olgu sayısının azlığı ile ilişkili olabilir. Bu konuda daha kesin yorum yapabilmek için daha fazla hasta sayısının olduğu çalışmalara ihtiyaç olduğu açıktır.

SDNS olgularından hastalığın şiddetine göre son dönem böbrek yetmezliğine ilerleyen ve kötü seyirli SDNS grubunda yer alan 5 olgu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, VV genotipinin bu hastalarda %80, kontrol grubunda ise %31,9 olduğu belirlenmiştir. Aradaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$). Kötü seyirli SDNS olguları ile kontrol grubunda relatif riske bakıldığında VV genotipinin kötü seyirli SDNS olgularında 8,52 kat (OR: 8,52), V allelinin ise 2,62 kat (OR: 2,62) yüksek olduğu bulundu. Sonuç olarak çalışmamızda SDNS olgularında, kötü seyirli olanlarda daha fazla olmak üzere VV genotipine sahip olmanın sağlıklı bireylere göre daha sık görüldüğü gösterilmiştir. VV genotipi ile

SDNS olgularının klinik seyri arasındaki ilişki hakkında kesin yorum yapabilmek için olgu sayısının daha fazla olduğu çalışmalara ihtiyaç vardır.

MnSOD gen polimorfizminin glomerüler hastalıklardaki belirleyici rolü ile ilgili çalışmaların büyük kısmı diyabetik nefropatili hasta gruplarında yapılmıştır. Diyabetik nefropatide de kötü prognoz ve böbrek yetersizliği gelişimi ile VV genotipi arasında ilişki olduğu görüşü yaygın olarak kabul görmektedir (9,10,11). Pandaru ve ark. (200) 2010 yılında diyabetik nefropatili hasta grubunda yaptıkları bir çalışmada VV gen polimorfizmi hasta grubunda kontrollere oranla daha sık görülürken, hastalar içinde V homozigot olanların tekrarlayan oksidatif stres sonucunda nefropati gelişimine daha yatkın olduğu gösterilmiştir.

SDNS, çocukluk çağıının en sık edinsel KBY nedenleri arasında yer alır. Çevresel ve genetik faktörlerin klinik tabloyu etkilediği düşünülmektedir. İNS hastalarında temel defekt, glomerüler filtrasyon bariyerinin seçici geçirgenlik özelliğini kaybetmesi ve normalde filtre olmayan moleküllerin kaybıdır. Bu durum ise glomerüler filtrasyon bariyerine negatif yük sağlayan heparansülfatın serbest radikaller tarafından hasara uğraması sonucu oluşur. Ayrıca reaktif oksijen molekülleri, glomerüler bazal membranda lipid peroksidasyonuna neden olur. Bu durumun protein oksidasyonunu tetiklemesiyle hücre ve doku hasarı meydana gelir. Dolayısıyla glomerüler geçirgenlik artar ve proteinüri gelişir (78). Yapılan klinik ve deneysel çalışmalarda kortikosteroid kullanımının, glomerüler antioksidan enzimleri artırdığı dolayısıyla hidrojen peroksida bağlı proteinüriyi azalttığından bahsedilmektedir. Steroide direnç olması halinde oksidatif hasarın daha belirgin olduğu, total antioksidan kapasitenin ise azaldığı vurgulanmıştır (7,148). Bu mekanizma SDNS olgularında kötü prognozun patogenezinde de yer almaktadır. Dolayısıyla oksidatif hasara karşı birincil savunmayı yapan MnSOD geninde oluşan polimorfizmleri ile hastalığın prognozunu ilişkilendirmek mümkündür. Buna bağlı olarak iyi ve kötü seyirli SDNS olguları karşılaştırıldığında, kötü seyirli SDNS hastaları arasında VV genotip olanların, iyi seyirli SDNS hastalarına göre yüksek olmasına (%42,9'a karşı %80) karşın istatistiksel olarak bu fark anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Her iki grup kontrol grubuyla kıyaslandığında, genotip dağılımı ve allel sıklığı arasında anlamlı farklılık saptanmadı. Dolayısıyla SDNS hastaları arasında MnSOD VV genotipine sahip olmak genetik belirleyici bir

parametre olarak kabul edilemez. Bunun yanında kötü seyirli SDNS olgularında VV genotipi, iyi seyirli SDNS olgularına göre relatif olarak 5,33 kat, V alleli ise 2,22 kat daha fazla idi. Ayrıca iyi seyirli SDNS olguları ile kontrol grubu olguları relatif risk açısından kıyaslandığında, VV genotipi kontrol grubuna oranla 1,59 kat daha yüksek bulundu. Çalışmamız sırasında SDNS hastaları arasında toplam 7 VV genotip olgudan 4'ünde (%57), AA/AV genotip olgudan 5 hasta arasında ise sadece 1 olguda (%20) KBY geliştiği belirlenmiştir. Bu durum hasta sayısının yetersiz olmasına bağlı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış olabilir. Ancak progresif hastalık, böbrek yetmezliğine ilerleme ve tedaviye kötü yanıt açısından VV genotipinin genetik risk oluşturması görüşüne yönelik kesin yorum yapabilmek için daha fazla sayıda SDNS olgularını içeren çalışmalara gereksinim vardır. .

Çalışmamızda SYNS grubunda yer alan hastaların, 1-8 yaşında NS başlayan ve belirli kriterlere sahip olgulara böbrek biyopsisi yapılmadan steroid tedavisi başlandığı için hangi grup histopatolojilerden oluştuğu kesin olarak bilinemez. Ancak SYNS grubu içinde yer alan olguların büyük bir kısmının MLH olduğu söylenebilir. Hatta bazı yazarlar SYNS grubunu MLH ile eşanlamlı olarak kabul görmektedir. SYNS ile SDNS birbirinden çok farklı hastalık grubu olsalarda her iki hastalığın patogenetik mekanizmalarında benzerliklerden bahsedilmektedir. SYNS grubu içinde yer alan MLH'ye yol açan genetik faktörler arasında MnSOD gen polimorfizminin ve V allel homozigotluğunun önemi ile ilgili yapılmış çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızdaki SYNS olgularında MnSOD gen polimorfizmine bakıldığında kontrol grubu ile arada anlamlı fark bulunmamıştır. SYNS ile kontrol grubu relatif risk açısından kıyaslandığında, VV genotipi relatif olarak SYNS olgularında 1,49 kat daha fazla bulunmuştur. Bu bulgular sonucunda SYNS ile MnSOD gen polimorfizmi arasında bir ilişki olmadığı söylenebilir. Ancak kesin yorumunu yapabilmek için daha büyük çalışma gruplarında MnSOD gen polimorfizmini değerlendirmek daha doğrudur.

Literatürde SYNS olgularında MnSOD gen polimorfizmi ile relaps sıklığı ve klinik gidiş arasındaki ilişkiyi gösterecek herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Biz çalışmamızda SYNS hastalarını relaps sıklığı, izlem süresi ve GFR düzeyleri dışında aralarında anlamlı fark olmayan iki alt gruba ayırarak VV genotip sıklığı açısından değerlendirdik. Çok relaps yapan 25 olgu içinde VV genotip oranı az relaps yapan

grupla benzerdi ve istatistiksel olarak arada anlamlı farklılık yoktu ($p>0,05$). Ancak relatif risk açısından gruplar karşılaştırıldığında az relaps SYNS olgularında VV genotipi kontrol grubuna oranla 1,3 kat, V alleli ise 1,41 kat daha yüksek bulundu. Çok relaps SYNS olguları, az relaps SYNS olguları ile kıyaslandığında ise çok relaps SYNS olgularında VV genotipi 1,25 kat, V alleli ise 1,52 kat daha fazla idi. Çok relaps SYNS olguları ile kontrol grubunda relatif riske bakıldığında VV genotipinin çok relaps SYNS olgularında 1,68 kat yüksek olduğu bulundu. Bu konuda kesin yorum yapabilmek için daha fazla sayıda SYNS olgularını içeren çalışmalara ihtiyaç olduğu açıktır.

Çalışma grubunda yer alan 12 SDNS ve 51 SYNS olguları arasında MnSOD genotip dağılımı açısından anlamlı farklılık yoktu ($p>0,05$). Relatif risk açısından SYNS ile SDNS kıyaslandığında SYNS olgularında AA/AV genotiplerinin 2 kat daha yüksek olduğu görüldü. Bu bulgular neticesinde VV genotipine sahip olmanın steroide yanıtı ve klinik seyri etkilemediği görülmüştür. Ancak yapılacak yeni çalışmalar sonucunda daha net yorumlar yapılabilir.

Sonuç olarak, İNS ve MnSOD gen polimorfizmi arasında kesin bir ilişki saptanmamıştır. Bununla beraber kız İNS olguları ile erkek İNS olguları kıyaslandığında, erkek İNS olgularında V allel sıklığı fazla bulunmuştur. Ayrıca erkek İNS olgularında, kontrol grubu erkeklere göre VV genotipinin daha yüksek olduğu saptanmıştır. Erkek cins İNS olgularında bulunan VV genotip fazlalığı bu çalışmanın en önemli sonuçlarından biridir. İNS'li erkek olgularda V allel homozigotluğunun veya heterozigotluğunun, erkeklerde hastalığın kızlara oranla daha sık rastlanmasını da tetikleyebileceğini düşündürebilir. Bunun yanında genetik risk oluşturabileceği düşüncesini de desteklemektedir. Ayrıca kötü seyirli SDNS olgularında VV genotipinin anlamlı olmasa da yüksek bulunması, kötü seyirli SDNS ile V genotipi arasında bir ilişkinin varlığını akla getirmektedir. Olgu sayısının özellikle SDNS olgularının azlığı nedeniyle sonuçlarımızın yorumlanması ve kesin görüşe varılması zorlaşmaktadır. İNS'li çocuklarda MnSOD gen polimorfizmine yönelik literatürde çalışmaya rastlanmamıştır. Yapılacak daha geniş ve kapsamlı çalışmalarla bulgularımızın karşılaştırılmasının uygun olacağını düşünmekteyiz.

ÖZET

Nefrotik Sendromlu Çocuklarda Manganez Süperoksit Dismutaz Gen Polimorfizmi

MnSOD gen polimorfizmi ile böbrek hastalıkları arasındaki ilişki birçok çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışmada idiyopatik nefrotik sendrom (İNS) hastalarında MnSOD A/V genotip dağılımı ve genotip ile hastalığın klinik seyri arasındaki ilişkiyi değerlendirmek amaçlanmıştır.

Çalışmaya 12 steroide dirençli nefrotik sendrom (SDNS), 51 steroide yanıtli nefrotik sendrom (SYNS) hastası ve 72 sağlıklı kontrol olgu alındı. SDNS olguları hastalığın şiddetine göre kötü ve iyi seyirli, SYNS olguları ise çok ve az relaps yapanlar şeklinde alt gruplara ayrıldı. İstatistiksel karşılaştırmada ki-kare, Kruskal-Wallis, Mann-Whitney-U ve t testleri kullanıldı.

Çalışmamızda İNS olguları arasında en sık görülen genotip MnSOD VV homozigot olup kontrol grubu ile arasında anlamlı bir fark saptanmadı (%44'e karşı %31, OR: 1,7, $p>0,05$). Erkek ve kız İNS olgularında VV genotip sıklığı (%52,5 karşı %30,4) farklı değildi (OR: 3,9, $p>0,05$). Ancak V allel sıklığı İNS erkeklerde kız olgulardan (%70'e karşı %52) yüksek saptandı ($p<0,05$). Erkek İNS olgularında VV genotip oranı, kontrol grubundaki erkeklere göre yine yüksek bulundu (%52'e karşı %27, $p<0,05$). SDNS ve kontrol grubu olgular arasında VV genotip sıklığı açısından anlamlı bir fark yoktu (OR: 2,9, $p>0,05$). Kontrol grubuna göre kötü seyirli SDNS hastalarında VV genotip sıklığındaki fark anlamlık düzeyine yakındı (% 32'e karşı %80, OR: 8,52, $p>0,05$). SYNS ve kontrol grubu arasında MnSOD genotip dağılımı ve allel sıklığı açısından anlamlı fark saptanmadı. Çok ve az relaps yapan SYNS gruplarında VV genotip sıklığı benzer bulundu.

Sonuç olarak İNS olguları ve MnSOD A/V gen polimorfizmi arasında doğrudan bir ilişki bulunmamaktadır. Fakat erkek İNS olgularda ve kötü seyirli nefrotik sendromlarda VV genotip etkili olabilir. Yapılacak daha ileri çalışmalar ile sonuçların karşılaştırılması uygun olacaktır.

Anahtar Kelimeler: İNS, MnSOD, gen polimorfizmi, prognoz

SUMMARY

Manganese Superoxide Dismutase Gene Polymorphism In The Children With Nephrotic Syndrome

The relation between MnSOD gene polymorphism and renal diseases has been shown by many studies. In this study, our aim was evaluating MnSOD A/V genotypes of idiopathic nephrotic syndrome (INS) and the relationship of genotype with clinical prognosis.

Twelve steroid resistant nephrotic syndrome (SRNS) and 51 steroid sensitive nephrotic syndrome (SSNS) patients, in addition to 72 healthy control cases was included. SDNS cases were separated into 2 subgroups: well prognosed and bad prognosed; SYNS cases were also separated into 2 subgroups: unfrequent relapsing and frequent relapsing. For statistical analyses, chi-square, Kruskal-Wallis, Mann-Whitney-U and t tests are used.

In our study, the most common genotype in INS cases was MnSOD VV homozygote and no significant difference was established with the control group (44% to 31%, OR: 1,7, $p>0,05$).

VV genotype frequency (52,5% to 30,4%) was not different in male and female cases of INS groups (OR: 3,9, $p>0,05$). However V allele frequency was higher in the male than the female INS patients (70% to 52%, $p<0,05$). VV genotype was more frequent in male INS group than control males (52% to 27%, $p<0,05$). There is no significant difference of VV genotype frequency between SRNS and control group cases (OR: 2,9, $p>0,05$). VV genotype frequency difference between control group and bad prognosed SRNS patients was slightly under the significance (32% to 80%, OR: 8,52, $p>0,05$). For MnSOD genotype ratio and allele frequency of SSNS and control groups no significant difference was established. VV genotype frequencies of frequent and unfrequent relapsing SSNS subgroups were similar.

As result, there is not any direct relation between INS cases and MnSOD A/V gene polymorphism. But VV genotype may be effective on male INS cases and bad prognosed nephrotic syndrome patients. It is needed to compare the results of further studies.

Key Words: INS, MnSOD, gene polymorphism, prognose

KAYNAKLAR

1. Bergstein J. Glomerular Disease. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, Stanton BF, Nelson WE. Nelson Textbook of Pediatrics 17 th edition. Philadelphia: WB. Saunders Co. 2004; 1731-75
2. Avner E, Harmon W, Niaudet P. Pediatric Nephrology 5th edition. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins 2004; 501-664
3. Korbet SM, Schwartz NM, Lewis E. Primary focal segmental glomerulosclerosis. Clinical course and response to threapy. *Am J Kidney Dis.* 1994; 23:773-83
4. Yoshioka T, Iwamoto N, Higuchi C, Kawaguchi H, Ito K. Down-regulation of manganese-superoxide dismutase gene expression in idiopathic nephrotic syndrome. *J Pediatr.* 1997; 130(5):800-7
5. Diamond JR, Bonventre JV, Karnovsky MJ. A role for oxygen free radicals in aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int.* 1986; 29(2):478-83
6. Howard RL, Buddington LB, Alfrey AC. Urinary albumin, transferrin and iron excretion in diabetic patients. *Kidney Int.* 1991; 40(5):923-6
7. Kawamura T, Yoshioka T, Bills T, Fogo A, Ichikawa I. Glucocorticoid activates glomerular antioxidant enzymes and protects glomeruli from oxidant injuries. *Kidney Int.* 1991; 40(2):291-301
8. Akyol O, Canatan H, Yilmaz HR, Yuce H, Ozyurt H, Sogut S, et al. PCR/RFLP-based cost-effective identification of SOD2 signal (leader) sequence polymorphism (Ala-9Val) using NgoM IV: a detailed methodological approach. *Clin Chim Acta.* 2004; 345(1-2):151-9
9. Möllsten A, Marklund SL, Wessman M, Svensson M, Forsblom C, Parkkonen, et al. A functional polymorphism in the manganese superoxide dismutase gene and diabetic nephropathy. *Diabetes.* 2007; 56(1):265-9
10. Nomiya T, Tanaka Y, Piao L, Nagasaka K, Sakai K, Ogihara T, et al. The polymorphism of manganese superoxide dismutase is associated with diabetic nephropathy in Japanese type 2 diabetic patients. *J Hum Genet.* 2003; 48(3):138-41
11. Liu L, Zheng T, Wang N, Wang F, Li M, Jiang J, et al. The manganese superoxide dismutase Val16Ala polymorphism is associated with decreased risk of diabetic nephropathy in Chinese patients with type 2 diabetes. *Mol Cell Biochem.* 2009; 322(1-2):87-91
12. Lee SJ, Choi MG, Kim DS, Kim TW. Manganese superoxide dismutase gene polymorphism (V16A) is associated with stages of albuminuria in Korean type 2 diabetic patients. *Metabolism.* 2006; 55(1):1-7
13. Tugcu V, Ozbek E, Aras B, Arisan S, Caskurlu T, Tasci AI. Manganese superoxide dismutase (Mn-SOD) gene polymorphisms in urolithiasis. *Urol Res.* 2007; 35(5):219-24
14. Yen JH, Chen CJ, Tsai WC, Lin CH, Ou TT, Hu CJ, Liu HW. Cytochrome P450 and manganese superoxide dismutase genes polymorphisms in systemic lupus erythematosus. *Immunol Lett.* 2003; 90(1):19-24
15. Sobkowiak A, Lianeri M, Wudarski M, Lacki JK, Jagodziński PP. Manganese superoxide dismutase Ala-9Val mitochondrial targeting sequence polymorphism in systemic lupus erythematosus in Poland. *Clin Rheumatol.* 2008; 27(7):827-31

16. Kher KK, Sweet M, Makker SP. Nephrotic syndrome in children. *Curr Probl Pediatr.* 1988; 18(4):197-251
17. Clark AG, Barratt TM. Steroid responsive nephrotic syndrome. In: Barratt TM, Avner ED, Harmon WE. (eds). *Pediatr Nephrology* 4th edition. Baltimore: Lipincott Williams and Wilkins 1999; 731-45
18. The primary nephrotic syndrome in children: identification of patients with minimal change nephrotic syndrome from initial response to prednisone. A report of the International Study of Kidney Disease in Children. *J Pediatr.* 1981; 98(4):561-4
19. Gbadegesin R, Smoyer WE. Nephrotic syndrome. In: Geary DF, Schaefer F. *Comprehensive Pediatric Nephrology* 1th edition. Philadelphia: Mosby 2008; 205-13
20. Nash MA, Edelmann CMJ, Bernstein J. The nephrotic syndrome. In: Edelman CMJ. *Pediatric Kidney Disease.* Boston: Little Brown and Company 1992:1247-90
21. Srivastava T, Simon SD, Alon US. High incidence of focal segmental glomerulosclerosis in nephrotic syndrome of childhood. *Pediatr Nephrol.* 1999; 13(1):13-8
22. Hogg RJ, Portman RJ, Milliner D. Evaluation and management of proteinuria and nephrotic syndrome in children: recommendations from a pediatric nephrology panel established at the National Kidney Foundation conference on proteinuria, albuminuria, risk, assessment, detection, and elimination (PARADE). *Pediatrics.* 2000; 105(6):1242-9
23. McEnery PT, Strife CF. Nephrotic syndrome in childhood. Management and treatment in patients with minimal change disease, mesangial proliferation, or focal glomerulosclerosis. *Pediatr Clin North Am.* 1982; 29(4):875-94
24. Nephrotic syndrome in children: prediction of histopathology from clinical and laboratory characteristics at time of diagnosis. A report of the International Study of Kidney Disease in Children. *Kidney Int.* 1978; 13(2):159-65
25. Sorof JM, Hawkins EP, Brewer ED, Boydston II, Kale AS, Powell DR. Age and ethnicity affect the risk and outcome of focal segmental glomerulosclerosis. *Pediatr Nephrol.* 1998;12(9):764-8
26. Weber S. Hereditary nephrotic syndrome. In: Geary DF, Schaefer F. *Comprehensive Pediatric Nephrology* 1th edition. Philadelphia: Mosby 2008; 219-28
27. Moncrieff MW, White RH, Glasgow EF, Winterborn MH, Cameron JS, Ogg CS. The familial nephrotic syndrome. II. A clinicopathological study. *Clin Nephrol.* 1973; 1(4):220-9
28. Ruder H, Scharer K, Opelz G, Lenhard V, Waldherr R, Muller-Wiefel DE, Wingen AM, Dippell J. Human leucocyte antigens in idiopathic Nephrotic syndrome in children. *Pediatr Nephrol.* 1990; 4(5):478-81
29. Eddy A, Symsons JM. Nephrotic syndrome in childhood. *Lancet.* 2003; 362(9384):629-39
30. Baskın E, Beşbaş N. *Katkı Pediatri Dergisi.* 1999; 20(3):346-75
31. Kaysen GA. Plasma composition in the nephrotic syndrome. *Am J Nephrol.* 1993; 13:347-59
32. Habashy D, Hodson EM, Craig JC. Interventions for steroid-resistant nephrotic syndrome: a systematic review. *Pediatr Nephrol.* 2003; 18(9):906-12

33. International study of kidney disease in children. Nephrotic syndrome in children: Prediction of histopathology from clinical and laboratory characteristics at time of diagnosis. *Kidney Int.* 1978; 13:159-65
34. Bergstein JM, Chesney RW. Nephrologic Disease. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, Stanton BF, Nelson WE. Nelson Textbook of Pediatrics 16 th edition. Philadelphia: WB Saunders Co. 2000; 1573-612
35. Kashtan C, Melvin T, Kim Y. Longterm follow up of patients with steroid dependent, minimal change nephrotic syndrome. *Clin Nephrol.* 1988; 29(2):79-85
36. Holmberg C, Tryggvason K, Kestila MK, Jalanko HJ. Glomerular disease. In: Avner E, Harmon WE, Niaudet P. Pediatric Nephrology 5th edition. New York: Lippincott Williams and Wilkins 2004; 501-664
37. Chesney R. The changing face of childhood nephrotic syndrome. *Kidney Int.* 2004; 66(3):1294-302
38. Bernard DB. Extrarenal complications of nephrotic syndrome. *Kidney Int.* 1988; 33(6):1184-202
39. Çocuk Nefroloji Derneği: Çocuklarda Nefrotik Sendrom Tanı ve Tedavisi. 2006
40. McBryde KD, Kershaw DB, Smoyer WE. Pediatric steroid resistant nephrotic syndrome. *Curr Probl Pediatr.* 2001; 31(9):280-307
41. Primary nephrotic syndrome in children: Clinical significance of histopathologic variants of minimal change and of diffuse mesangial hypercellularity: A report of the International Study of Kidney Disease in Children. *Kidney Int.* 1981;20(6):765-71
42. Kim JS, Bellew CA, Silverstein DM, Aviles DH, Boineau FG, Vehaskari VM. High incidence of initial and late steroid resistance in childhood nephrotic syndrome. *Kidney Int.* 2005; 68(3):1275-81
43. Brodehl J, Krohn HP, Ehrich JH. The treatment of minimal change nephrotic syndrome (lipoid nephrosis): Cooperative studies of the Arbeitsgemeinschaft für Pädiatrische Nephrologie (APN). *Klin Padiatr.* 1982; 194(3):162-5
44. Schwartz A. New aspect of the treatment of nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 2001; 12(17):44-7
45. Martin AN, Edelmann CM, Berstein J, Barnett H. The nephrotic syndrome. In: Edelman CM. Pediatric Kidney Disease 2 th edition. Boston: Little Brown and Co. 1992; 1274-90
46. Niaudet P. Steroid-sensitive idiopathic nephrotic syndrome in children. In: Avner ED, Harmon WE, Niaudet P. Pediatric nephrology 5 th edition. Philadelphia: Williams & Wilkins 2004; 543-56
47. Haycock G. The child with idiopathic nephrotic syndrome. In: Webb NJA, Postlethwaite RJ. Clinical paediatric nephrology 3 th edition. New York: Oxford University Press. 2003; 341-66
48. Yokoyama H, Kida H, Abe T, Koshino Y, Yoshimura M, Hattori N. Impaired immunoglobulin G production in minimal change nephrotic syndrome in adults. *Clin Exp Immunol.* 1987; 70(1):110-5
49. Warshaw BL, Check IS. IgG subclasses in children with nephritic syndrome. *Am J Clin Pathol.* 1989; 92(1):68-72
50. Chan MK, Chan KW, Jones B. Immunoglobulins (IgG, IgA, IgM, IgE) and complement components (C3,C4) in nephritic syndrome due to minimal change and other forms of glomerulonephritis: A clue for steroid therapy?. *Nephron.* 1987; 47(2):125-30

51. Ballou M, Kennedy TL, Guadio KM, Siegel NJ, Mc Lean RH. Serum hemolytic factor D values in children with steroid responsive idiopathic nephritic syndrome. *J Pediatr.* 1982; 100(2):191-6
52. Melvin T, Sibley R, Michael AF. Nephrotic syndrome. In: Tune BM, Mendoza SA, Bernner BM, Stein SH. Contemporary Issues in Nephrology Pediatric Nephrology. Churchill Livingstone 1984; 191-230
53. Neuhaus TJ, Shah V, Callard RE, Barratt TM. T-lymphocyte activation in steroid-sensitive nephrotic syndrome in childhood. *Nephrol Dial Transplant.* 1995; 10(8):1348-52
54. Bagga A, Vasudev AS, Moudgil A, Srivastava RN. Periferal blood lymphocyte subsets in idiopathic nephrotic syndrome of childhood. *Indian J Med Res.* 1996; 104:292-5
55. Mathieson PW. Immune dysregulation in minimal change nephropathy. *Nephrol Dial Transplant.* 2003; 18:26-9
56. Sasdelli M, Cagnoli L, Candi P, Mandreoli M, Beltrandi E, Zucchelli P. Cell mediated immunity in idiopathic glomerulonephritis. *Clin Exp Immunol.* 1981; 46(1):27-34
57. Topaloglu R, Saatci U, Arikan M. T-cell subsets, interleukin- 2 receptor expression and production of interleukin-2 in minimal change nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 1994; 8(6):649-52
58. Yan K, Nakahara K, Awa S, Nishibori Y, Nakajima N, Kataoka S, et al. The increase of memory T cell subsets in children with idiopathic nephrotic syndrome. *Nephron.* 1998; 79(3):274-8
59. Mosmann TR, Coffman RL. TH1 and TH2 cells: Different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol.* 1989; 7:145-73
60. Van Den Berg JG, Aten J, Chand MA, Claessen N, Dijkink L, Wijdenes J, et al. Interleukin-4 and interleukin-13 act on glomerular visceral epithelial cells. *J Am Soc Nephrol.* 2000; 11(3):413- 22
61. Szeto C, Gillespie KM, Mathieson PW. Levamisole induces interleukin-18 and shifts type 1/ type 2 cytokine balance. *Immunology.* 2000; 100(2):217-24
62. Grimbirt P, Audard V, Remy P, Lang P, Sahali D. Recent approaches to the pathogenesis of minimal-change nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant.* 2003; 18(3):245-8
63. Churg J, Habib R, White RH. Pathology of the nephrotic syndrome in children: a report for the International Study of Kidney Disease in Children. *Lancet.* 1970; 20:1299-302
64. Öner A, Demircin G, Bülbül M. Çocukluk çağı idiyomatik nefrotik sendromlarında rölapslara etki eden faktörler ve prognoz üzerine etkisi. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi.* 1995; 2:80-85
65. White RH, Glasgow EF, Mills RJ. Clinicopathological study of nephrotic syndrome in childhood. *Lancet.* 1970; 1:1353-9
66. Olson JL, Schwartz MM. Heptinstall's Pathology of the Kidney. Philadelphia: Lippincott-Raven 1998; 187-90
67. D'Agati VD, Fogo AB, Bruijn JA, Jennette JC. Pathologic classification of focal segmental glomerulosclerosis: a working proposal. *Am J Kidney Dis.* 2004; 43(2):368-82

68. Hara M, Yanagihara T, Takada T, Itoh M, Matsuno M, Yamamoto T, et al. Urinary excretion of podocytes reflects disease activity in children with glomerulonephritis. *Am J Nephrol*. 1998; 18(1):35-41
69. Hara M, Yanagihara T, Kihara I. Urinary podocytes in primary focal segmental glomerulosclerosis. *Nephron*. 2001; 89(3):342-7
70. Esnault VL, Besnier D, Testa A, Coville P, Simon P, Subra JF, et al. Effect of protein A immunoadsorption in nephrotic syndrome of various etiologies. *J Am Soc Nephrol*. 1999; 10(9):2014-7
71. Kuhn C, Kuhn A, Markau S, Kästner U, Osten B. Effect of immunoadsorption on refractory idiopathic focal and segmental glomerulosclerosis. *J Clin Apher*. 2006; 21(4):266-70.
72. Kriz W, Gretz N, Lemley KV. Progression of glomerular diseases: is the podocyte the culprit? *Kidney Int*. 1998; 54(3):687-97
73. Elger M, Kriz W. Podocytes and the development of segmental glomerulosclerosis. *Nephrol Dial Transplant*. 1998; 13(6):1368-73
74. Petermann AT, Pippin J, Durvasula R, Pichler R, Hiromura K, Monkawa T, et al. Mechanical stretch induces podocyte hypertrophy in vitro. *Kidney Int*. 2005; 67(1):157-66
75. Ellis D, Kapur S, Antonovych TT, Salcedo JR, Yunis EJ. Focal glomerulosclerosis in children: correlation of histology with prognosis. *J Pediatr*. 1978; 93(5):762-8
76. Mongeau JG, Corneille L, Robitaille P, O'Regan S, Pelletier M. Primary nephrosis in childhood associated with focal glomerular sclerosis: is longterm prognosis that severe? *Kidney Int*. 1981; 20(6):743-6
77. Andal A, Saxena S, Chellani HK, Sharma S. Pure mesangial proliferative glomerulonephritis. A clinicomorphologic analysis and its possible role in morphologic transition of minimal change lesion. *Nephron*. 1989;51(3):314-9
78. Ghodake SR, Suryakar AN, Ankush RD, Snaikh K, Katte AV. Role of reactive oxygen species in pathogenesis of nephrotic syndrome. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2010; 25:82-5
79. Kaysen GA, Gambertoglio J, Felts J, Hutchhinson FN. Albumin synthesis, albuminuria and hyperlipidemia in nephrotic patients. *Kidney Int*. 1987; 31(6):1368-76
80. Cameron JS. Natural history and outcome of the nephrotic syndrome. In: Cameron JS, Glasscock RJ. *The nephrotic syndrome*. New York: Marcel Dekker. 1988; 999-1033
81. Salcedo JR, Thabet MA, Latta K, Chan JC. Nephrosis in childhood. *Pediatr Nephrol*. 1995; 71(4):373-85
82. Muls E, Rosseneu M, Daneels R, Schurgers M, Boelaert J. Lipoprotein distribution and composition in the human nephrotic syndrome. *Atherosclerosis*. 1985; 54(2):225-37
83. Thabet MA, Salcedo JS, Chan JC. Hyperlipidemia in childhood nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*. 1993; 7(5):559-66
84. Remuzzi G, Bertani T. Pathophysiology of progressive nephropathies. *New Eng J*. 1998; 339(20):1448-56
85. Braam B, Koomans HA. Renal responses to antagonism of the renin angiotensin system. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 1996; 5(1):89-96

86. Lafayette RA, Mayer G, Park SK, Meyer TW. Angiotensin II receptor blockade limits glomerular injury in rats with reduced renal mass. *J Clin Invest.* 1992; 90(3):766-71
87. Yoshioka T, Ichikawa I, Fogo A. Reactive oxygen metabolites cause massive, reversible proteinuria and glomerular sieving defect without apparent ultrastructural abnormality. *J Am Soc Nephrol.* 1991; 2(4):902-12
88. Fydryk J, Olszewska M, Urasiński T, Brodkiewicz A. Serum selenium level and glutathione peroxidase activity in steroid-sensitive nephrotic syndrome. *Pediatric Nephrol.* 2003; 18(10):1063-5
89. Remuzzi G, Bertani T. Is glomerulosclerosis a consequence of altered glomerular permeability to macromolecules? *Kidney Int.* 1990; 38(3):384-94
90. Matsusaka T, Hymes J, Ichikawa I. Angiotensin in Progressive Renal Disease: Theory and Practice. *J Am Soc Nephrol.* 1996; 7(10):2025-43
91. Mallick NP, Short CD, Hunt LP. How far since Ellis? The Manchester Study of glomerular disease. *Nephron.* 1987; 46(2):113-24
92. Niaudet P. Steroid-resistant idiopathic nephrotic syndrome. In: Barratt TM, Avner ED, Harmon WE. *Pediatric Nephrology 4 th edition.* Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins A Wolters Kluwer Co. 1999; 749-60
93. Alış M, Bulucu F, Baykal Y, Yamanel L, İnal V, Serdar M, Avcı A, Aydın A. Deneysel Nefrotik Sendromda Plazma ve Böbrek Dokusunda Oksidatif Stres Durumu. 2008; 17:100-5
94. Kamireddy R, Kavuri S, Devi S, Vemula H, Chandana D, Harinarayanan S, et al. Oxidative stress in pediatric nephrotic syndrome. *Clin Chim Acta.* 2002; 325:147-50
95. Kinra S, Rath B, Kabi BC. Indirect quantification of lipid per oxidation in steroid responsive nephrotic syndrome. *Arch Dist Child.* 2000; 82(1):76-8
96. Turi S, Nemeth I, Torkos A, Saghy L, Varga I, Matkovics B, et al. Oxidative stress and antioxidant defense mechanism in glomerular diseases. *Free Radic Biol Med.* 1997; 22(1-2):161-8
97. Baliga R, Baliga M, Shah SV. Effect of selenium-deficient diet in experimental glomerular disease. *Am J Physiol.* 1992; 263(1-2):56-61
98. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: Its mechanism, measurement and significance. *Am J Clin Nutr.* 1993; 57(5):724-5
99. Hruszkewycz AM. Lipid peroxidation and mt DNA degeneration. A hypothesis. *Mutation Research.* 1992; 275:243-8
100. Reiter RJ. Oxidative processes and antioxidative defense mechanisms in the aging brain. *Faseb.* 1995; 9(7):526-33
101. Mercan U. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. *Yüzüncü Yol Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi.* 2004; 15:91-6
102. Kuş İ, Zararsız İ, Yılmaz H. R, Türkoglu A. Ö, Pekmez H, Sarsılmaz M. The protective effects of melatonin hormone against exposure of formaldehyde-induced oxidative damage in prefrontal cortex of rats. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2004; 13(2):1-7
103. Akyol Ö. Beyin tümörlerinde doku SOD, CAT ve GSH-Px aktiviteleri, Uzmanlık tezi Ankara Üni. Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı. Ankara, 1994
104. Dormandy TL. An approach to free radicals. *Lancet.* 1983; 322:1010-3

105. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chemistry*. 1995; 41:1819-28
106. Halliwell B. Free radicals, antioxidants and human disease: Curiosity, cause or consequence? *Lancet*. 1994; 721-4
107. Fridovich I. Oxygen toxicity: A radical explanation. *J Exp Biol*. 1998; 201:1203-9
108. Cross CE, Halliwell B, Borish ET. Oxygen radicals and human disease. *Ann Int Med*. 1987; 107:526-45
109. Asayama K, Nakane T, Uchida H, Hayashibe H, Dobashi K, Nakazawa S. Serum antioxidant status in streptozosin-induced diabetic rat. *Horm Metab Res*. 1994; 26(7):313-5
110. Corrocher R, Casaril M, Bellisola G, Gabrielli GB, Nicoli N, Guidi GC, et al. Severe impairment of antioxidant system in human hepatoma. *Cancer*. 1986; 58(8):1658-62
111. Mantha SV, Prasad M, Kaka J, Prasad K. Antioxidant enzymes in hypercholesterolemia and effects of vitamin E in rabbits. *Atherosclerosis*. 1993; 101(2):135-44
112. McCoy RN, Hill KE, Ayon MA, Stein JH, Burk RF. Oxidant stress following renal ischemia: Changes in the glutathione redox ratio. *Kidney Int*. 1988; 33(4):812-7
113. Gutteridge JM, Miychell J. Redox imbalance in the critically ill. *Br Med Bull*. 1999; 55(1):49-75
114. Saugstad OD. Mechanism of tissue injury by oxygen radical: implications for neonatal disease. *Acta Paediatr*. 1996; 85(1):1-4
115. Sarker AH, Watanabe S, Seki S, Akiyama T, Okada S. Oxygen radical-induced single strand DNA breaks and repair of the damage in cell- free system. *Mutat Res*. 1995; 337(2):85-95
116. Cochran CG. Cellular injury by oxidants. *Am. J. Med*. 1991; 91:23-30
117. Del Maestro R, Dreosti IE. Trace elements, micronutrients and free radicals. *Humano Press Inc*. 1991; 25-51
118. Abdollahi M, Bahreini-Moghadam A, Emmami B, Fooladian F, Zafarinet K. Increasing intracellular cAMP and cGMP inhibits cadmium-induced oxidative stress in rat submandibular saliva. *Comp Biochem. Physiol*. 2003; 135(3):331-6
119. Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaie A. Pesticides and oxidative stress: a review. *Med Sci Monit*. 2004; 10(6):141-7
120. Southorn PA, Powis G. Free radicals in medicine. *Mayo Clin Proc*. 1988; 63(4):381-9
121. Datta C, Gupta J, Sarkar A, Sengupta D. Effects of organophosphorus insecticide phosphomidon on antioxidant defence components of human erythrocyte and plasma. *Indian Journal of Experimental Biology*. 1992; 30(1):65-7
122. Young SG, Parthasarathy S. Why are low density lipoproteins atherogenic? *West J Med*. 1994; 160(2):183-4
123. Niki E, Yoshida Y, Saito Y, Noguchi N. Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2005; 338(1):668-76
124. Sekeroglu MR, Sahin H, Dulger H, Algun E. The effect of dietary treatment on erythrocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and serum lipid peroxidation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Biochem*. 2000; 33(8):669-74

125. Masella R, Di Benedetto R, Vari R, Filesi C, Giovannini C. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J Nutr Biochem.* 2005; 16(10):577–86
126. Buchanan JD, Armstrong DA. The radiolysis of glyceraldehyde-3-phosphata dehydrogenase. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med.* 1978; 33(5):409-18
127. Lin WS, Armstrong DA, Lal M. Effects of superoxide dismutase, dithiothreitol and formate ion on the inactivation of papain by hydroxyl and superoxide radicals in aerated solutions. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med.* 1978; 33(3):231-43
128. Blakely WF, Fuciarelli AF, Wegher BJ, Dizdaroglu M. Hydrogen peroxide induced base damage in DNA. *Radiat Res.* 1990; 121(3):338-43
129. Mason RP, Stolze K, Flitter WD. Free radical reactions with DNA and its nucleotids. *Basic Life Sci.* 1990; 52:119-25
130. Matés JM. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology.* 2000; 153(1-3):83-104
131. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull.* 1993; 49(3):481-93
132. Ichikiawa I, Kiyama S, Yoshioka T. Renal antioxidant enzymes: Their regulation and function. *Kidney Int.* 1994; 45(1):1-9
133. Gupta VK, Mallika V, Gupta Y, Srivastava DK. Oxygen derived free radicals in clinical context. *Ind J Clin Biochem.* 1992; 7:3-10
134. Pedraza-Chaverri J, Arevalo AE, Hernandez-Pando R, Larriva-Sahd J. Effect of dietary antioxidants on puromycin aminonucleoside nephrotic syndrome. *Int J Biochem Cell Biol.* 1994; 27(7):683–91
135. Ohtake T, Kimura M, Nishimura M, Hishida A. Roles of reactive oxygen species and antioxidant enzymes in murine daunomycin-induced nephropathy. *J Lab Clin Med.* 1997; 129(1):81–8
136. Clemens MR, Burza-Zanetti Z. Lipid abnormalities and peroxidation of erythrocytes in nephrotic syndrome. *Nephron.* 1989; 53(4):325–9
137. Ginevri F, Ghiggeri GM, Candiano G, Oleggini R, Bertelli R, Piccardo MT, et al. Peroxidative damage of erythrocyte membrane in children with nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 1989; 3(1):25-32
138. Warwick GL, Waller H, Ferns GA. Antioxidant vitamin concentrations and LDL oxidation in nephrotic syndrome. *Ann Clin Biochem.* 1998; 37(4):488-91
139. Rajbala A, Sane AS, Zope J, Mishra VV, Trivedi HL. Oxidative stress status in children with nephrotic syndrome. *Panminerva Med.* 1997; 39(3):165-8
140. Fydryk J, Jacobson E, Kurzawska O, Małeczka G, Gonet B, Urański T, et al. Antioxidant status of children with steroid sensitive nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 1998; 12(9):751-4
141. Bulucu, F, Vural A, Aydın A, Sayal A. Oxidative stress status in adults with nephrotic syndrome. *Clin Nephrol.* 2000; 53(3):169-73
142. Mocan H, Aksoy A, Uydu HA, Mocan MC. Oxidative damage of erythrocyte membrane in nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 1999; 13(4):326-32

143. Hall RL, Wilke WL, Fettman MJ. The progression of adriamycin-induced nephrotic syndrome in rats and the effect of cap topiril. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1986; 82(1):164-74
144. Korsetz Z, Pomeranz A, Golan E, Bernheim J. Pefloxacin in adriamycin induced nephrotic syndrome in the rat. *Nephrol Dial Transplant*. 1997; 12(2):286-8
145. Thabrew MI, Samarawickrema N, Chandrasena LG, Jayasekera S. Effect of oral supplementation with vitamin E on the oxido-reductive status of red blood cells in normal mice and mice subject to oxidative stress by chronic administration of adriamycin. *Ann Clin Biochem*. 1999; 36(2):216-20
146. Thabrew MI, Samarawickrema NA, Chandrasena LG, Jayasekera S. Protection by garlic against adriamycin induced alterations in the oxido-reductive status of mouse red blood cells. *Phytother Res*. 2000; 14(3):215-7
147. Tesar V, Zima T, Jirsa M Jr, Crkovská J, Stípek S, Vernerová Z, et al. Influence of losartan and enalapril on urinary excretion of 8-isoprostane in experimental nephrotic syndrome. *Med Sci Monit*. 2002; 8(2):69-74
148. Bakr A, Abul Hassan S, Shoker M, Zaki M, Hassan R. Oxidant stress in primary nephrotic syndrome: does it modulate the response to corticosteroids? *Pediatr Nephrol*. 2009; 24(12):2375-80
149. Van den Branden C, Ceysens B, De Craemer D, Pauwels M, Vanden Houte K, De Bleser P, et al. Renal antioxidant enzymes and fibrosis-related markers in the rat adriamycin model. *Nephron*. 2000; 86(2):167-75
150. Dogra G, Ward N, Croft KD, Mori TA, Barrett PH, Herrmann SE, et al. Oxidant stress in nephrotic syndrome: comparison of F(2)-isoprostanes and plasma antioxidant potential. *Nephrol Dial Transplant*. 2001; 16(8):1626-30
151. Flohe L, Otting F. Superoxide dismutase assays. *Methods Enzymol*. 1984; 105:93-104
152. Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2) and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radic Biol Med*. 2002; 33(3):337-49
153. Salin ML, Mccord JM. Superoxide dismutases in polymorphonuclear leukocytes. *J Clin Invest*. 1974; 54(4):1005-9
154. Niwa Y, Ishimoto K, Kanoh T. Induction of superoxide dismutase in leukocytes by paraquat: Correlation with age and possible predictor of longevity. *Blood*. 1990; 76(4):835-41
155. Lunec J, Blake D. Oxygen Free Radicals: their relevance to disease processes. In: Cohen RD, Lewis B, Albert K, Balliere T. *The Metabolic and Molecular Basis of Acquired Disease*. London: 1990; 189-212
156. Stryer L. Biosynthesis of Amino Acids and Heme. In: *Biochemistry 3 th edition*. New York: WH Freeman and company 1988; 422-3
157. Dogan P, Soyuer Ü, Tanrıku G. Superoxide dismutase and myeloperoxidase activity in polymorphonuclear leukocytes and serum ceruloplasmin and copper levels in psoriasis. *Br J Dermatol*. 1989; 120(2):239-44
158. Kobayashi Y, Ishigame K, Ishigame Y, Usui T. Superoxide dismutase activity of human granulocytes and lymphocytes. *Lancet*. 1977; 16:865-6
159. Elsakka NE, Webster NR, Galley HF. Polymorphism in the manganese superoxide dismutase gene. *Free Radic Res*. 2007; 41(7):770-8

160. Zhang HJ, Yan T, Oberley TD, Oberley LW. Comparison of effects of two polymorphic variants of manganese superoxide dismutase on human breast MCF-7 cancer cell phenotype. *Cancer Res.* 1999; 59(24):6276-83
161. Beyer W, Imlay J, Fridovich I. Superoxide dismutases. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol.* 1991; 40:221-53
162. Van Remmen H, Williams MD, Guo Z, Estlack L, Yang H, Carlson EJ, et al. Knockout mice heterozygous for Sod2 show alterations in cardiac mitochondrial function and apoptosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001; 281(3):1422-32
163. Wong GH, Elwell JH, Oberley LW, Goeddel DV. Manganous superoxide dismutase is essential for cellular resistance to cytotoxicity of tumor necrosis factor. *Cell.* 1989; 58(5):923-31
164. Masuda A, Longo DL, Kobayashi Y, Appella E, Oppenheim JJ, Matsushima K. Induction of mitochondrial manganese superoxide dismutase by interleukin 1. *Faseb J.* 1988; 2(15):3087-91
165. Matsuda Y, Higashiyama S, Kijima Y, Suzuki K, Kawano K, Akiyama M, et al. Human liver manganese superoxide dismutase. Purification and crystallization, subunit association and sulfhydryl reactivity. *Eur J Biochem.* 1990; 194(3):713-20
166. Pfanner N, Geissler A. Versatility of the mitochondrial protein import machinery. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2001; 2(5):339-49
167. Hirvonen A, Tuimala J, Ollikainen T, Linnainmaa K, Kinnula V. Manganese superoxide dismutase genotypes and asbestos-associated pulmonary disorders. *Cancer Letters.* 2002; 178(1):71-4
168. Eras N. Manganez süperoksid dismutaz (MnSOD) geninin Ala-9-Val polimorfizmiyle meme kanseri riski arasındaki ilişkinin araştırılması, Yüksek lisans tezi. Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı. Mersin, 2006; 15-20
169. Wong GHW, Goddard DV. Induction of manganese superoxide dismutase by tumor necrosis factor: Possible protective mechanism. *Science.* 1988; 242(4880):941-4
170. Borgstahl GEO, Parge HE, Hickey MJ, Beyer WF, Hallewell RA, Tainer JA. The structure of human mitochondrial manganese superoxide dismutase reveals a novel tetrameric interface of two 4-helix bundles. *Cell.* 1992; 71(1):107-18
171. Buettner GR, Oberley LW, Schafer FQ, Spitz DR, Domann FE. Manganese Süperokside Dismutase. *Free Radicals in Biology and Medicine.* 2001; 77:1-11
172. Thongphasuk J, Oberley LW, Oberley TD. Induction of Superoxide Dismutase and Cytotoxicity by Manganese In Human Breast Cancer Cells. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 1999;365:317-27
173. Jarvinen K. Antioxidant enzymes and related mechanisms in malignant pleural mesothelioma. *Finnish Institute of Occupational Health Department of Industrial Hygiene and Toxicology.* 2001; 21-3
174. Egan KM, Thompson PA, Titus-Ernstoff L, Moore JH, Ambrosone CB. MnSOD polymorphism and breast cancer in population-based case-control study. *Cancer Letter.* 2003; 199(1):27-33
175. Zhang ZJ, Zhang XB, Hou G, Sha W, Reynolds GP. The increased activity of plasma manganese superoxide dismutase in tardive dyskinesia is unrelated to the Ala-9Val polymorphism. *J Psychiatr Res.* 2002; 36(5):317-24

176. Akyol O, Yanik M, Elyas H, Namli M, Canatan H, Akin H, et al. Association between Ala-9Val polymorphism of Mn-SOD gene and schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2005; 29(1):123-31
177. Akin H. Tibbi genetik terimleri sözlüğü. Sendrom III. 2003; 1:17
178. Van Landeghem GF, Tabatabaie P, Kucinskas V, Saha N, Beckman G. Ethnic variation in the mitochondrial targeting sequence polymorphism of MnSOD. *Hum Hered*. 1999; 49(4):190-3
179. el-Masry TM, Zahra MA, el-Tawil MM, Khalifa RA. Manganese superoxide dismutase alanine to valine polymorphism and risk of neuropathy and nephropathy in Egyptian type 1 diabetic patients. *Rev Diabet Stud*. 2005; 2(2):70-4
180. Zhang ZJ, Zhang XB, Hou G, Yao H, Reynolds GP. Interaction between polymorphisms of the dopamine D3 receptor and manganese superoxide dismutase genes in susceptibility to tardive dyskinesia. *Psychiatr. Genet*. 2003; 13(3):187-92
181. Hori H, Ohmori O, Shinkai T, Kojima H, Okano C, Suzuki, T, et al. Manganese superoxide dismutase gene polymorphism and schizophrenia: relation to tardive dyskinesia. *Neuropsychopharmacology*. 2000; 23(2):170-7
182. Nakao K, Isashiki Y, Sonoda S, Uchino E, Shimonagano Y, Sakamoto T. Nitric oxide synthase and superoxide dismutase gene polymorphisms in Behçet disease. *Arch Ophthalmol*. 2007; 125(2):246-51
183. Yılmaz HR, Yağcı R, Akyol İ, Ersoy T, Uz E, Sungur G, et al. VIII. National Medical Genetics Congress (with international attendants), Çanakkale 2008
184. Matthey DL, Hassell AB, Dawes PT, Jones PW, Yengi L, Alldersea J, et al. Influence of polymorphism in the manganese superoxide dismutase locus on disease outcome in rheumatoid arthritis: evidence for interaction with glutathione S-transferase genes. *Arthritis Rheum*. 2000; 43(4):859-64
185. Yen JH, Tsai WC, Chen CJ, Lin CH, Ou TT, Hu CJ, et al. Cytochrome P450 1A1 and manganese superoxide dismutase genes polymorphisms in ankylosing spondylitis. *Immunol Lett*. 2003; 88(2):113-6
186. Duarte MM, Moresco RN, Duarte T, Santi A, Bagatini MD, Da Cruz IB, et al. Oxidative stress in hypercholesterolemia and its association with Ala16Val superoxide dismutase gene polymorphism. *Clin Biochem*. 2010; 43(13-14):1118-23
187. Kocabaş NA, Şardaş S, Cholerton S, Daly AK, Elhan AH, Karakaya AE. Genetic polymorphism of manganese superoxide dismutase (MnSOD) and breast cancer susceptibility. *Cell Biochem Funct*. 2005; 23(1):73-6
188. Wang LI, Miller DP, Sai Y, Liu G, Su L, Wain JC, et al. Manganese superoxide dismutase alanine-to-valine polymorphism at codon 16 and lung cancer risk. *J Natl Cancer Inst*. 2001; 93(23):1818-21
189. Montano MA, Barrio Lera JP, Gottlieb MG, Schwanke CH, da Rocha MI, Manica-Cattani MF, et al. Association between manganese superoxide dismutase (MnSOD) gene polymorphism and elderly obesity. *Mol Cell Biochem*. 2009; 328(1-2):33-40
190. Hiroi S, Harada H, Nishi H, Satoh M, Nagai R, Kimura A. Polymorphisms in the SOD2 and HLA-DRB1 genes are associated with nonfamilial idiopathic dilated cardiomyopathy in Japanese. *Biochem. Biophys. Res Commun*. 1999; 261(2):332-9

191. Gurel A, Tomac N, Yilmaz HR, Tekedereli I, Akyol O, Armutcu F, et al. The Ala-9Val polymorphism in the mitochondrial targeting sequence (MTS) of the manganese superoxide dismutase gene is not associated with juvenile-onset asthma. *Clin Biochem.* 2004; 37(12):1117-20
192. Schwartz GY, Haycock GB, Edelman CM. A simple estimate of GFR in children derived from body length and plasma creatinine. *Pediatrics.* 1976; 58(2):259-63
193. Tarnow L, Gluud C, Parving H. Diabetic nephropathy and the insertion/deletion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene. *Nephrol Dial Transplant.* 1998; 13(5):1125-30
194. Mitrunen K, Sillanpaa P, Kataja V, Eskelinen M, Komsa VM, Benhamou S, et al. Association between manganese superoxide dismutase (MnSOD) gene polymorphism and breast cancer risk. *Carcinogenesis.* 2001; 22(5):827-9
195. Shimoda-Matsubayashi S, Matsumine H, Kobayashi T, Nakagawa-Hattori Y, Shimizu Y, Mizuno Y. Structural Dimorphism in the mitochondrial targeting sequence in the human manganese superoxide dismutase gene. *Biochem Biophys Res Commun.* 1996; 226(2):561-5
196. Shimoda-Matsubayashi S, Hattori T, Matsumine H, Shinohara A, Yoritaka A, Mori H, et al. MnSOD activity and protein in a patient with chromosome 6-linked autosomal recessive parkinsonism in comparison with Parkinson's disease and control. *Neurology.* 1997; 49(5):1257-62
197. Andreoli SP. Reactive oxygen molecules, oxidant injury and renal disease. *Pediatr Nephrol.* 1991; 5(6):733-42
198. Demircin G, Öner A, Ünver Y, Bülbül M, Erdogan Ö. Erythrocyte superoxide dismutase activity and plasma malondialdehyde levels in children with Henoch-Schönlein purpura. *Acta Pediatr.* 1998; 87(8):848-52
199. Sutton A, Khoury H, Prip-Buus C, Capanec C, Pessayre D, Degoul F. The Ala16Val genetic dimorphism modulates the import of human manganese superoxide dismutase into rat liver mitochondria. *Pharmacogenetics.* 2003; 13(3):145-57
200. Panduru NM, Cimponeriu D, Cruce M, Ion DA, Moța E, Moța M, et al. Association of +35A/C (intron3/exon3) polymorphism in SOD1-gene with diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Rom J Morphol Embryol.* 2010; 51(1):37-41