



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



**KLİNİK OLARAK GLOMERÜLONEFRİT ŞÜPHESİ
İLE BÖBREK BİYOPSİ YAPILAN HASTALARDA
“GEÇİCİ RESEPTÖR POTANSİYEL İYON KANAL
(TRPC) GEN AİLESİNİN” FARKLI İFADE
PROFİLLERİNİN İNCELENMESİ**

Doktora Tezi

Meltem SEZİŞ DEMİRCİ

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

İzmir
2019

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**KLİNİK OLARAK GLOMERÜLONEFRİT ŞÜPHESİ
İLE BÖBREK BİYOPSİ YAPILAN HASTALARDA
“GEÇİCİ RESEPTÖR POTANSİYEL İYON KANAL
(TRPC) GEN AİLESİNİN” FARKLI İFADE
PROFİLLERİNİN İNCELENMESİ**

Meltem SEZİŞ DEMİRCİ

Danışman
Doç. Dr. Buket KOSOVA

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Doktora Programı

İzmir
2019

Tez Değerlendirme Kurulu Üyeleri

(Adı Soyadı)
(İmza)

Başkan : Prof.Dr.



(Danışman)

Üye : Prof.Dr.



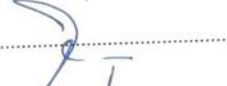
Üye

: Prof.Dr. Pelin Entor



Üye

: Doç.Dr. İbrahim Ergül



Üye

: Doç. Dr. N. Z. Dmsel



Doktora Tezinin kabul edildiği tarih: 30.12.2019

Önsöz

Zorlu bir süreci beraber atlatmakta her zaman yardımcı olan ve bu aileye katılmaktan gurur duyduğum Ege Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Ailesine teşekkür ederim.

İzmir, 15.01.2020

Meltem SEZİŞ DEMİRCİ



Özet

Klinik Olarak Glomerülonefrit Şüphesi ile Böbrek Biyopsi Yapılan Hastalarda “Geçici Reseptör Potansiyel İyon Kanal (TRPC) Gen Ailesinin” Farklı İfade Profillerinin İncelenmesi

Glomerüler böbrek hastalıkları dünyada çok sayıda insanı etkilemeye devam etmekte olup son dönem böbrek hastalığına yol açan etyolojiler içerisinde yer almaktadır. Bu hastalıkların en erken bulgusu idrarda protein kaybıdır. Proteinüri mekanizmaları üzerine yapılan çalışmalarda glomerüler filtrasyon bariyeri komponenti olan podositler önemli rol oynamaktadırlar. Podositler, konjenital nefrotik sendromlar (slit diyafram proteinlerinden nefrin, podosin, CD-2 ilişkili protein, TRPC6 mutasyonları sonucu), minimal lezyon hastalığı (MLH), fokal segmental glomerüloskleroz (FSGS), membranöz glomerülonefrit (MGN), diyabet ve lupus nefriti gibi pek çok insan ve deneysel glomerüler hastalıklarında hasara uğramıştır. Hasarın şiddeti ve süresine bağlı olarak podositler farklı yanıt verebilmektedirler. Erken evrede podositlerde görülen otofaji ve hipertrofi (Evre I) adaptif ve koruyucudur. Fakat sonraki evrelerde hasarın şiddeti ve uzunluğu arttıkça (evre II ve III) maladaptif süreçte girilmekte olup klinik olarak proteinüri gözlenmekte olup patolojik olarak da epitelyal'den mezenkimal hücrelere transizyon sonrasında apoptoz ve sonuçta glomerüloskleroza kadar olay ilerlemektedir.

TRPC kanalları selektif olmayan Ca^{+2} geçirgen katyon kanalları olup omurgalıların dokularında geniş olarak ifade edilmektedirler. Fosfolipaz C uyarısı ile ilişkili sinyal iletim yollarına yanıtta aktif hale gelirler. Geçici reseptör potansiyel iyon kanalı C6 (TRPC6) podositlerde ifade edilmekte ve slit diyaframın bir komponentidir. TRPC6 podositlerdeki slit diyafram proteinleri (nefrin, podosin, α -aktinin-4 gibi) ve mekanosensitif Ca^{+2} ile aktive K^{+} kanalları ile ilişki içindedir. Genetik ve kazanılmış hastalıklarda TRPC6 overaktivasyonu patolojik Ca^{+2} girişi ile podosit hasarına neden olmaktadır. Dual etkilidir. Akut aktivasyonu podositleri kompleman aracılı hasardan korurken, kronik aktivasyonunda fokal segmental skleroza yol açmaktadır. Kültüre podositlerde TRPC6'nın kalsinörin aktivasyonu yaptığı gözlenmiştir. Kalsinörin aktivasyonu podositlerde defosforilasyon ve aktin ilişkili protein sinaptopodin proteolizi ile proteinüriye yol açar. TRPC1, TRPC2, TRPC4 ve TRPC5 stromal-interacting molekül 1 (STIM 1) adlı protein ile etkileşim içinde olup

bu protein hücre içi kalsiyum depo içeriğine duyarlıdır. Bu protein ile bağlanma sonucunda TRPC kanalları endozomlardaki kalsiyum salıcı zona bağlanırlar. STIM1 TRPC3 veya TRPC6'ya bağlanmaz fakat indirekt olarak farklı hücre tiplerinde TRPC kanallarının kapı davranışlarını değiştirirler. STIM1'in podositlerde exprese olup olmadığı bilinmemektedir. TRPC6 gen mutasyonunun herediter fokal segmental skleroz (FSGS) nedeni olması dışında patofizyolojik olarak artmış TRPC6 ekspresyon düzeyleri kazanılmış glomerüler hastalıklarda da artmıştır. Yapılan bir çalışmada TRPC6 mRNA ekspresyonunun genetik kökenli olmayan minimal lezyon hastalığı (MLH) ve membranöz glomerülonefrit (MGN) hastalarının böbrek biyopsi örneklerinde kontrol grubu hasta örnekleri (tümör nefrektomili hastaların sağlıklı böbrek parçası) ile karşılaştırıldığında belirgin artmış bulunmuştur. Buna dayanarak da TRPC6'nın genetik olmayan glomerüler hastalıklarda önemli rol oynadığı ve TRPC6'ya yönelik olarak yapılabilecek blokajların etkili bir tedavi yöntemi olabileceği söylenmektedir.

Çalışmanın amacı; Mikroskobik ve/veya makroskobik hematüri olsun ya da olmasın proteinüriye sahip olup klinik olarak glomerülonefrit düşünülen ve böbrek biyopsisi yapılan hastalarda TRPC ailesi üyelerinin farklı ifade profillerinin incelenmesiyle hastaların tanı ve prognozuna katkıda bulunmaktır.

Materyal Metod:

Bu çalışma Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji polikliniğine başvuran, glomerülonefrit ön tanısı ile böbrek biyopsisi yapılan 108 hasta ve kontrol olgusu olarak primer böbrek tümörü tanısı ile üroloji kliniğinde nefrektomi yapılan 37 hasta ile yapılmıştır. Alınan biyopsi örneklerinde PKD2, TRPC1, TRPC6, STIM-1 ve Orai-1 mRNA düzeyleri hasta ve kontrol grubu olarak çalışıldı..

Sonuçlar:

Hasta ve kontrol grubunu karşılaştırdığımız zaman her iki grubun cinsiyet dağılımı benzerdi. Diyabet ve hipertansiyon sıklıkları da benzerdi.

Hasta ve kontrol grubunun TRPC ekspresyon profillerini karşılaştırdığımızda nedenli böbrek biyopsisi yapılan grubun TRPC ekspresyon düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı şekilde yüksek idi.

Alt grup analizi yaptığımızda; nedenli böbrek biyopsisi yapılan hasta grubu diyabeti olan ve olmayan şeklinde karşılaştırıldığında diyabetik grubun TRPC1, TRPC6 ve STİM1 düzeyleri diyabeti olmayanlara göre istatistiksel açıdan anlamlı yüksek bulundu.

Hasta grubunun TRPC ekspresyon profillerinin demografik ve böbrek biyopsi patoloji sonuçları ile yapılan korelasyon analizinde TRPC1, TRPC6 ve STİM1 ile diyabet varlığı arasında pozitif bir korelasyon vardı. Biyopsideki arteriolar hyalinozis ile NPHS2 ve ORAI arasında pozitif korelasyon vardı. İlginç şekilde böbrek biyopsisinde glomerüllerin C4d boyanmasının pozitif olması ile TRPC6, NPHS2 ve PKD2 ve IG M pozitifliği ile TRPC6 ve STİM1 arasında negatif korelasyon var idi. ORAI ile glomerüler skleroz oranı arasında pozitif korelasyon bulundu.

Sonuç olarak; proteinürik böbrek hastalarında TRPC gen ekspresyon profillerinin sağlıklı böbrek dokusuna göre istatistiksel açıdan anlamlı artmış olduğunu bulduk ki bu da literatürdeki artmış TRPC6 ekspresyonu ve proteinüri arasındaki ilişkiyi desteklemekteydi. Biz proteinüri şiddeti ile TRPC ekspresyon profilleri arasında pozitif bir ilişki bulamadık. Yine sonuçlarımıza baktığımızda literatüre benzer şekilde diyabetik hastalarda TRPC6 ve STİM1 ekspresyon profillerinin artmış olduğunu gördük ki bu hastalarda gelişen podosit hasarında hücre içi kalsiyum yollarının aktive olmuş olduğu bilgisini desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler; Glomerülonefrit; TRPC1, TRPC6, PKD2, STİM1, ORAI, böbrek biyopsi

Abstract

Thesis Title

Study Of Different Expression Profiles Of "Transient Receptor Potential Ion Channel (TRPC) Gene Family" in Patients Undergoing Renal Biopsies with Clinically Suspected Glomerulonephritis

Glomerular kidney diseases continue to affect a large number of people around the world and are involved in etiologies leading to recent kidney disease. The earliest sign of these diseases is the loss of protein in urine. Podocytes, a component of the glomerular filtration barrier, play an important role in studies on proteinuria mechanisms. Podocytes, and congenital nephrotic syndrome (proteins Nesrin slit from diagram, Podolski, CD-2 associated protein, the result of mutations in *trpc6*), minimal lesion disease (MLH), focal segmental glomerulosclerosis (FSGS), Membranous Glomerulonephritis (MGN), lupus nephritis, and experimental glomerular diseases such as diabetes and has suffered damage in many human. Depending on the severity and duration of the damage, podocytes can respond differently. Autophagy and hypertrophy (stage I) seen in early stage podocytes are adaptive and protective. However, as the severity and length of the damage increases in later stages (stages II and III) maladaptive process is entered and clinically proteinuria is observed and pathologically the event progresses from epithelial to mesenchymal cells after the transition to apoptosis and ultimately glomerulosclerosis.

TRPC channels are non-selective Ca^{+2} permeable cation channels and are widely expressed in the tissues of vertebrates. They become active in response to signal transduction pathways associated with phospholipase C alert. The transient receptor potential ion channel C6 (TRPC6) is expressed in podocytes and is a component of the slit diaphragm. *Trpc6* is associated with slit diaphragm proteins in podocytes (such as nephrin, podocin, α -actinin-4) and mechanosensitive Ca^{+2} -activated K^{+} channels. In genetic and acquired diseases, TRPC6 overactivation causes podocyte damage by pathological Ca^{+2} entry. Dual is effective. Its acute activation protects podocytes from complement-mediated damage, while its chronic activation leads to Focal segmental sclerosis. *Trpc6* has been observed to activate calcineurin in

cultured podocytes. Calcineurin activation leads to proteinuria by dephosphorylation in podocytes and proteolysis of the actin-associated protein synaptopodine. TRPC1, TRPC2, TRPC4, and TRPC5 interact with a protein called stromal-interacting molecule 1 (STIM 1), which is susceptible to intracellular calcium storage content. As a result of binding with this protein, TRPC channels bind to calcium-releasing shingles in endosomes. STIM1 does not bind to TRPC3 or Trpc6, but they indirectly change the gate behavior of TRPC channels in different cell types. It is not known whether STIM1 express in podocytes. Apart from the fact that the trpc6 gene mutation is the cause of hereditary focal segmental sclerosis (FSGS), pathophysiologically increased trpc6 expression levels have also increased in acquired glomerular diseases. In our study, the genetic origin of the mRNA expression of TRPC6 non-minimal lesion disease (MLH) and Membranous Glomerulonephritis (MGN) in renal biopsy samples of patients in the control group patient samples (tumor, healthy part of the kidney nefrektomil of patients) compared with has increased significantly. Based on this, it is said that Trpc6 plays an important role in non-genetic glomerular diseases and that the blockages that can be made for Trpc6 can be an effective treatment method.

The aim of the study was to contribute to the diagnosis and prognosis of patients with clinically considered glomerulonephritis by examining different expression profiles of TRPC family members in renal biopsy specimens.

Material Method:

This study was conducted with 108 patients admitted to Ege University Faculty of Medicine Nephrology Clinic who underwent a kidney biopsy with a preliminary diagnosis of glomerulonephritis and 37 patients who underwent a nephrectomy in urology clinic with a diagnosis of primary kidney tumor as a control case. PKD2, TRPC1, TRPC6, STIM-1 and Orai-1 mRNA levels were studied in the biopsy samples.

Results:

When we compared the patient and the control group, the gender distribution of both groups was similar. The frequency of diabetes and hypertension was similar.

When we compared the TRPC expression profiles of the patient and the control group, the TRPC expression levels of the renal biopsy group were statistically significantly higher than those of the control group.

When we performed subgroup analysis, the TRPC1, TRPC6 and STIM1 levels of the diabetic group were statistically significantly higher compared to the non-diabetic group of patients with and without diabetes.

There was a positive correlation between TRPC1, TRPC6 and STIM1 and the presence of diabetes in the correlation analysis of the patient group. There was a positive correlation between arteriolar hyalinosis and NPHS2 and ORAI in the biopsy. Interestingly, there was a negative correlation between TRPC6, NPHS2 and PKD2 and IG M positivity. There was a negative correlation with TRPC6 and STIM1 levels with positive C4D staining of glomeruli in renal biopsy. Positive correlation was found between ORAI and glomerular sclerosis rate.

As a result, we found that TRPC gene expression profiles in proteinuric kidney patients were statistically significantly increased compared to healthy kidney tissue, which supported the relationship between increased TRPC6 expression and proteinuria in the literature. We did not find a positive relationship between proteinuria severity and TRPC expression profiles. Again, when we looked at our results, similar to the literature, we found that TRPC6 and STIM1 expression profiles were increased in diabetic patients, which supports the knowledge that intracellular calcium pathways were activated in podocyte damage.

Keywords; Glomerulonephritis; TRPC1, TRPC6, PKD2, STIM1, Orai, renal biopsy

İçindekiler

Önsöz	ii
Özet.....	iii
Abstract.....	vi
İçindekiler	ix
Tablolar Dizini.....	xi
Şekiller Dizini	xii
Kısaltma Listesi	xiii
Giriş	1
1.1. Araştırmanın Problemi.....	1
1.2. Araştırmanın Sorusu	2
1.3. Araştırmanın Hipotezleri	2
1.4. Araştırmanın Varsayımları.....	2
1.5.Araştırmanın Sınırlılıkları	2
1.6. Araştırmanın amacı	2
Genel Bilgiler	3
2.1.Tanım	3
2.2. Glomerüler Filtrasyon Bariyeri ve Proteinüri	4
2.3. Glomerüler Hastalıkların Klinik Özellikleri ve Tanı	5
2.4. Proteinürik Böbrek Hastalıklarında TRPC (Transient Receptor Potential Cation) Kanalları	7
Gereç ve Yöntem	11
3.1.ÇalışmaHastalarının Seçimi.....	11
3.2.Ön Hazırlık	12
3.3.Çalışma Prosedürü.....	13
3.4.İstatistiksel Değerlendirme.....	16
Bulgular.....	17
Tartışma	24
Sonuç ve Öneriler	26
Kaynaklar	27
Ekler	29
Olgu Rapor Formu.....	29
Bilgilendirilmiş Olur Formu (Hasta).....	30

Bilgilendirilmiş Olur Formu (Kontrol)	35
Etik Kurul Onayı	40
Teşekkür	43
Özgeçmiş	44



Tablolar Dizini

Tablo 1. PCR çalışmalarında kullanılan primer dizileri

Tablo 2. Grupların Demografik Özellikleri ve Bazal Glomerüler Filtrasyon Hızı

Tablo 3. Hasta Grubunun Böbrek Biyopsi Sonuçları

Tablo 4. Hastaların laboratuvar bulguları

Tablo 5. Hasta ve Kontrol grubunun TRPCmRNA düzeyleri

Tablo 6. Diyabeti Olan ve Olmayan Hasta Grubun TRPCmRNA Düzeyleri

Tablo7: Nefrotik ya da Nefritik Proteinürisi Olan Hasta Grubunun TRPCmRNA Düzeyleri

Tablo 8: Hasta Grubunda Korelasyon Analizi

Tablo 9: Diyaliz tedavisi alan ve almayan hastaların demografik özellikleri

Şekiller Dizini

Şekil 1. Renal Replasman Tedavi İhtiyacı Olan Hastalardaki Son Dönem Böbrek Hastalığı Etyolojileri

Şekil 2. Glomerüler Filtrasyon Bariyeri: İki podosit ayaksı çıkıntıları ile glomerüler bazal membrana tutunmaktadır. (TRPC6: Transient reseptör potansiyel katyon kanalı 6; uPAR: Ürokinaz-tip plazminojen aktivasyon reseptörü)

Şekil 3. TRPC aktivasyonunda pozitif feedback

Şekil 4. Kalsiyum ve kalsinörin ilişkili podosit hasar mekanizması

Şekil 5. Hastaların böbrek biyopsilerinin patolojik sınıflandırılması

Şekil 6. Hasta ve Kontrol Grubunun TRPC Expresyon Profillerinin Karşılaştırılması



Kısaltma Listesi

Kronik Böbrek : (KBH)
Hastalığı

Glomerular Filtration : GFH:
Rate

Son Dönem Böbrek : (SDBH)
Hastalığı

Türk Nefroloji : (TND)
Derneği

Renal Replasman : (RRT)
Tedavisi

Membranöz Nefropati : (MGN) Immün Globulin A nefropati: IGAN

Giriş

Glomerüler böbrek hastalıkları dünyada çok sayıda insanı etkilemeye devam etmekte olup son dönem böbrek hastalığına yol açan etyolojiler içerisinde yer almaktadır. Bu hastalıkların en erken bulgusu idrarda protein kaybıdır. Proteinüri mekanizmaları üzerine yapılan çalışmalarda glomerüler filtrasyon bariyeri komponenti olan podositler önemli rol oynamaktadırlar. Glomerüler böbrek hastalıkları dünyada çok sayıda insanı etkilemeye devam etmekte olup son dönem böbrek hastalığına yol açan etyolojiler içerisinde yer almaktadır. Bu hastalıkların en erken bulgusu idrarda protein kaybıdır. Proteinüri mekanizmaları üzerine yapılan çalışmalarda glomerüler filtrasyon bariyeri komponenti olan podositler önemli rol oynamaktadırlar.

TRPC kanalları selektif olmayan Ca^{+2} geçirgen katyon kanalları olup omurgalıların dokularında geniş olarak ifade edilmektedirler. Fosfolipaz C uyarısı ile ilişkili sinyal iletim yollarına yanıtta aktif hale gelirler. Geçici reseptör potansiyel iyon kanalı C6 (TRPC6) podositlerde ifade edilmekte ve slit diyaframın bir komponentidir.

TRPC6 podositlerdeki slit diyafram proteinleri (nefrin, podosin, α -aktinin-4 gibi) ve mekanosensitif Ca^{+2} ile aktive K^{+} kanalları ile ilişki içindedir. Genetik ve kazanılmış hastalıklarda TRPC6 overaktivasyonu patolojik Ca^{+2} girişi ile podosit hasarına neden olmaktadır. Dual etkilidir. Akut aktivasyonu podositleri kompleman aracılı hasardan korurken, kronik aktivasyonunda fokal segmental skleroza yol açmaktadır. Kültüre podositlerde TRPC6'nın kalsinörin aktivasyonu yaptığı gözlenmiştir. Kalsinörin aktivasyonu podositlerde defosforilasyon ve aktin ilişkili protein sinaptopodin proteolizi ile proteinüriye yol açar. TRPC1, TRPC2, TRPC4 ve TRPC5 stromal-interacting molekül 1 (STIM 1) adlı protein ile etkileşim içinde olup bu protein hücre içi kalsiyum depo içeriğine duyarlıdır. Bu protein ile bağlanma sonucunda TRPC kanalları endozomlardaki kalsiyum salıcı zona bağlanırlar. STIM1 TRPC3 veya TRPC6'ya bağlanmaz fakat indirekt olarak farklı hücre tiplerinde TRPC kanallarının kapı davranışlarını değiştirirler. STIM1'in podositlerde ifade , olup olmadığı bilinmemektedir.

1.1. Araştırmanın Problemi

Glomerülonefritli hastalarda proteinüri mekanizmalarının net olarak bilinmemesi

1.2. Araştırmanın Sorusu

Daha önce farklı hastalıklarda gösterilmiş olan TRPC ailesi üyelerinin farklı dağılım ve hastalık ilişkisi nedeniyle, klinik olarak glomerülonefrit ön tanısı ile böbrek biyopsi yapılan hastalarda TRPC ailesi üyelerinin control ve hasta grubu arasında fark var mıdır?

1.3. Araştırmanın Hipotezleri

Daha önce farklı hastalıklarda gösterilmiş olan TRPC ailesi üyelerinin farklı dağılım ve hastalık ilişkisi nedeniyle, klinik olarak glomerülonefrit ön tanısı ile böbrek biyopsi yapılan hastalarda TRPC ailesi üyelerinin farklı dağılımının hastalık tanısını ve prognozunu belirlemede yardımcı olacaktır.

1.4. Araştırmanın Varsayımları

Proteinürik böbrek hastalarında artmış TRPC aktivasyonu patogeneizde rol oynamaktadır.

1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları

Nefrit tanısı yelpazesinin geniş olması nedeniyle tek bir nefrit tipine özgü hasta bulmak zor olacaktır.

1.6. Araştırmanın Amacı

Mikroskobik ve/veya makroskobik hematüri olsun ya da olmasın proteinüriye sahip olup klinik olarak glomerülonefrit düşünülen ve böbrek biyopsisi yapılan hastalarda TRPC ailesi üyelerinin farklı ifade profillerinin incelenmesiyle hastaların tanı ve prognozuna katkıda bulunmaktadır.

Genel Bilgiler

2.1. Tanım

Glomerülonefrit, ağırlıklı olarak glomerülleri etkileyen enflamatuar bir durumdur. Glomerüler hastalık birçok kalıtsal veya edinsel bozukluklardan kaynaklanabilir ve asemptomatik üriner anormalliklerden akut böbrek hasarına (abh) veya son evre böbrek hastalığına kadar çeşitli şekillerde ortaya çıkabilir.

Türkiye 2018 Yılı Ulusal Nefroloji, Diyaliz ve Transplantasyon Kayıt Sistemi Raporuna göre; renal replasman tedavi ihtiyacı olan hastalardaki son dönem böbrek hastalığı etyolojileri içindeki en sık 3. neden glomerülonefritlerdir.

	n	%
Diabetes mellitus / Diabetes mellitus	902	36.77
Tip 1 DM / Type 1 DM	109	4.44
Tip 2 DM / Type 2 DM	793	32.33
Hipertansiyon / Hypertension *	748	30.49
Glomerülonefrit / Glomerulonephritis	131	5.34
Polikistik böbrek hastalıkları / Polycystic kidney diseases	78	3.18
Obstrüktif nefropati / Obstructive nephropathy	30	1.22
Tübülointerstisyel nefrit / Tubulointerstitial nephritis	27	1.10
Renal vasküler hastalık / Renal vascular disease	17	0.69
Diğer / Other	148	6.04
Etyolojisi bilinmeyen / Unknown etiology	372	15.17
Toplam / Total	2.453	100.00

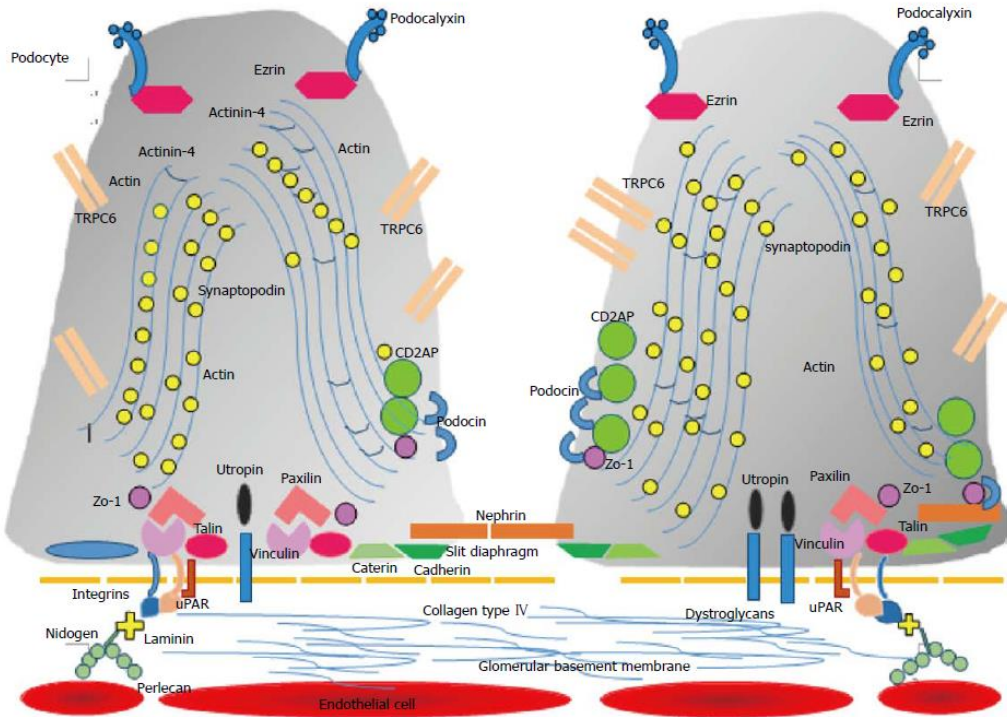
* Hipertansiyonun primer değil, kronik böbrek yetmezliğine bağlı oluşan sekonder hipertansiyon olduğuna dair kuvvetli şüpheler vardır.

* There are strong suspects that hypertension mentioned here is not primary but secondary which has occurred due to chronic renal failure.

Şekil 1. Renal Replasman Tedavi İhtiyacı Olan Hastalardaki Son Dönem Böbrek Hastalığı Etiyolojileri

2.2. Glomerüler Filtrasyon Bariyeri ve Proteinüri

Glomerülerfiltrasyon bariyeri (GFB) başlıca üç tabakadan oluşmaktadır: Fenestrallı endotelial hücreler (glikokaliks içeriğiyle beraber), glomerüler bazal membran (GBM) ve visseral epitelyal hücreler (podositler) dir (Kriz, W. 1998). Glomerüler filtrasyon bariyeri makromoleküllerin geçişinde elektriksel yüke ve moleküler büyüklüğe göre seçicilik göstermektedir. GBM, içerdiği endotel yapı ile birlikte dolaşımdaki anyonların glomerüler kapiller duvardan geçişine karşı fonksiyonel bir bariyer oluşturur. GBM'nin büyüklük-seçicilik özelliği, yarı çapı yaklaşık 1.4 nm olan inülin gibi moleküllerin kapiller lümeninden üriner boşluğa kolayca geçişine izin verir. İdrar ve plazmadaki inülin konsantrasyonu aynı olduğu için fraksiyonel inülin klirensi 1'e eşittir. Makromoleküllerin çapı 2 nm'den ne kadar fazla ise GBM'den geçişi de o derece kısıtlanır; dolayısıyla yarıçapı 4.2 nm'den daha büyük moleküllerin geçişi ise tamamen engellenir ve normal koşullar altında bunların fraksiyonel klirensi sıfıra yaklaşır. Glomerüler filtrasyon bariyeri (GFB)'ni oluşturan tabakaların herhangi birinde oluşan bir problem proteinüriye yol açmaktadır.



Şekil 2- Glomerüler Filtrasyon Bariyeri: İki podosit ayaklı çıkıntılarını ile glomerüler bazal membrana tutunmaktadır. (TRPC6: Transient reseptör potansiyel katyon kanalı 6; uPAR: Ürokinaz-tip plazminojen aktivasyon reseptörü (Trimarchi, H.,2017'den alınmıştır)

Podositler, ayaklı çıkıntılar adı verilen birçok primer, sekonder veya tersiyer uzantıları olan kompleks terminal hücrelerdir. Komşu podositlerin ayaklı çıkıntıları dar bir filtrasyon yarığı oluşturmakta olup buna da slit diyafram adı verilmektedir. Nefrin, podosin, TRPC6 ve CD2AP gibi bazı anahtar proteinler bu yapıların parçalarıdır ve hücre membranını miyosin, aktin ve α -aktinin-4'ü içeren hücre iskeletine bağlarlar. Bu bağlanma ve ayaklı çıkıntıların yapısındaki değişiklikler sıklıkla podosit ayaklı çıkıntıların silinmesine ve sonuçta glomerüler fonksiyonda bozulma ve proteinüriye neden olmaktadır. Podositler, konjenital nefrotik sendromlar (slit diyafram proteinlerinden nefrin, podosin, CD-2 ilişkili protein, TRPC6 mutasyonları sonucu), minimal lezyon hastalığı (MLH), fokal segmental glomerüloskleroz (FSGS), membranöz glomerülonefrit (MGN), diyabet ve lupus nefriti gibi pekçok insan ve deneysel glomerüler hastalıklarında hasara uğramıştır. Hasarın şiddeti ve süresine bağlı olarak podositler farklı yanıt verebilmektedirler. Erken evrede podositlerde görülen otofaji ve hipertrofi (Evre I) adaptif ve koruyucudur. Fakat sonraki evrelerde hasarın şiddeti ve uzunluğu arttıkça (evre II ve III) maladaptif süreç girilmekte olup klinik olarak proteinüri gözlenmekte olup patolojik olarak da epitelyal'den mezenkimal hücrelere transizyon sonrasında apoptoz ve sonuçta glomerüloskleroza kadar olay ilerlemektedir. Hasarlı böbreklerde Wnt/ β -catenin yolağı aktive olmakta ve podosit hasar ve/veya disfonksiyonunda rol oynayan hedef genlerin (RAS, MMP-7, TRPC6, Fsp-1, PAI-1 ve fibronektin) transkripsiyonuna neden olmaktadır (Yu, S. M. W.,2018).

2.3. Glomerüler Hastalıkların Klinik Özellikleri ve Tanı

Hematüri ve/veya Proteinüri- idrar tahlilinde hematüri ve/veya proteinüri görüldüğünde glomerüler hastalıktan şüphelenilmelidir.

En az bir hafta arayla santrifüj edilmiş iki farklı idrar örneğinin mikroskop ile incelenmesinde her büyük büyütme alanında 5 ya da daha fazla eritrosit saptanması hematüri olarak tanımlanmaktadır. Makroskopik (kanlı, bulanık ya da çay rengine görünümde) ya da mikroskopik olarak ikiye ayrılabilir. Dismorfik eritrositler ya da eritrosit silindirleri glomerüler hematüriye işaret etmektedir

Normal koşullarda idrarda standart laboratuvar yöntemleri ile yapılan incelemede protein bulunmaz. Ancak duyarlı yöntemler kullanıldığında günde 150 mg'ı geçmeyecek derecede proteinüri bulunmaktadır. İdrar proteinlerinin %40'ını

albumin, %40'nı mukoproteinler, %15'ini immünoglobulinler ve fragmanları, %5'ini de diğer plazma proteinleri oluşturmaktadır. Büyük molekül proteinlerin klirensi yüksekse seçici olmayan proteinüriden, küçük molekül ağırlıklı proteinlerin klirensi yüksekse seçici proteinüriden bahsedilir. Çeşitli patolojik durumlarda proteinüri miktarı 150 mg/gün'ü geçmektedir. Yetişkinlerde 24 saatlik idrarda 3.5 g/gün/1.73 m² 'nin üzerinde ve/veya spot idrarda protein/kreatinin oranı 3'ün üzerinde ve çocuklarda ise yine 24 saatlik idrarda 40 mg/m² /saat üzerindeki proteinüri nefrotik sınırdaki proteinüri olarak tanımlanır.

Böbreğin interstisyel ve vasküler bozuklukları da bu anormalliklere neden olup glomerüler hastalığı taklit edebilirler fakat eritrosit morfolojisine bakıldığında dismorfik yapıda eritrositlerin olması ve proteinürinin eşlik etmesi glomerüler hastalık lehine bulgulardır.

Böbrek yetmezliği- akut başlangıçlı nefrotik sendrom (hiperlipidemi, hipoalbuminemi, ve ödemin eşlik ettiği 3.5 gr/1.73 m² vücut yüzey alanından daha fazla günlük protein atılımının olduğu klinik tablo) kliniği gösteren hastalarda akut böbrek yetmezliği nadir olmakla birlikte daha çok nefritik sendrom kliniği denilen 3gr/gün altı proteinüri ve hematürisi olan hastalarda akut böbrek yetmezliği birlikteliği fazladır. Bu tip daha çok ANCA ilişkili kresentik glomerülofritli hastalarda veya poststreptokoksik glomerülofritli hastalarda gözlenmektedir.

Hipertansiyon- daha önce normal kan basıncı olan veya önceden var olan, kontrollü hipertansiyonu olan bir kişide hipertansiyonun akut başlangıcı, özellikle diğer belirtiler (örneğin, hematüri, proteinüri, ödem) varsa, glomerüler hastalık için şüphe uyandırmalıdır.

Ödem- hematüri veya proteinüri olan hastalarda periferik ve/veya periorbital ödem varlığı, glomerüler hastalığın bir sonucu olarak primer böbrek sodyum tutulumunun bir işaretidir.

Hiperkoagülabilité- bazı glomerüler hastalık türleri, özellikle membranöz nefropati de koagülasyon faktörlerinin idrarla kaybı nedeniyle pıhtılaşmaya eğilim olabilir. Bu nedenle, pulmoner emboli gibi trombotik olaylar, glomerüler hastalığın bir belirtisi olabilir.

Sistemik bulgular- ateş, halsizlik, çarpıntı, döküntü, artralji, miyalji, karın ağrısı, sinüzit gibi bulguların varlığı enfeksiyonlar, otoimmün bozukluklar, malignite ve ilaç reaksiyonları gibi sistemik durumlarla ilişkili glomerüler hastalık varlığında olabilir.

Bu nedenle, şüpheli glomerüler hastalığı olan hastalarda sistemik hastalıklar açısından da hastanın değerlendirilmesi gereklidir.

Glomerüler hastalığın kesin tanısı böbrek biyopsisi ile konulmaktadır. Buna ek olarak, glomerülonefrit şüphesi olan hastalarda istenilmesi gereken laboratuvar testleri;

- Serum C3 ve C4 tamamlayıcı seviyeleri
- Anti-nötrofil sitoplazmik otoantikorlar (anca; proteinaz-3 ve miyeloperoksidaz için ELİSA testi)
- Anti-glomerüler bazal membran (GBM) otoantikor testi
- Antinükleer antikorlar
- Anti-dsDNA antikorları
- Hepatit C virüsü, hepatit B virüsü ve HIV için serolojik testler
- Serum serbest hafif zincirler ve serum immünfiksasyon testi

2.4. Proteinürik Böbrek Hastalıklarında TRPC (Transient Receptor Potential Cation) Kanalları

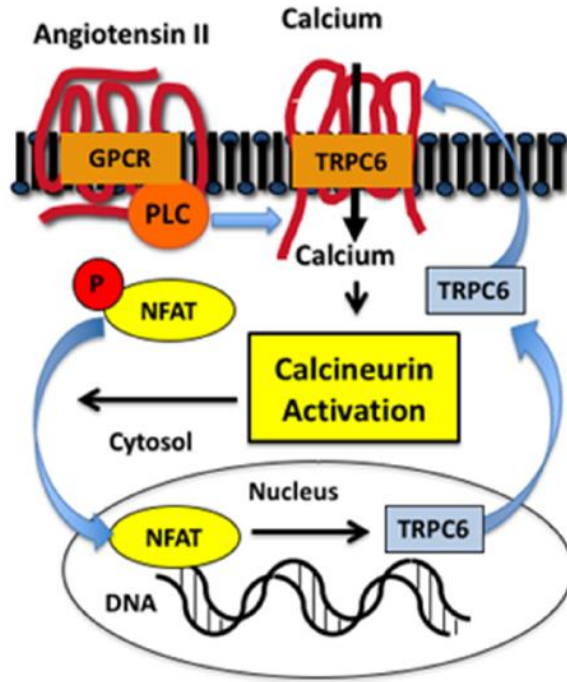
TRPC kanalları selektif olmayan Ca^{+2} geçirgen katyon kanalları olup omurgalıların dokularında geniş olarak ifade edilmektedirler. İnsanda 6 tane TRPC vardır. TRPC2 pseudogendir. Diğerleri 3 grup içinde toplanır; 1) TRPC1; 2) TRPC4 ve TRPC5 ve 3) TRPC3, TRPC6 ve TRPC7 (Hall, G.,2020, Nilius, B.,2007, Weider, N.,2016)

Fosfolipaz C uyarısı ile ilişkili sinyal iletim yollarına yanıtta aktif hale gelirler (Cybulskyi A.V., 1990). Bu kaskad fosfatidilinozitol-4,5-bifosfat (PIP2) hidoliz ve membrandan kaybına yol açarak diasilgliserol ve inozitol1,4,5-trifosfat (IP3) oluşumuna neden olur. TRPC kanallarının aktivasyonu hücre depolarizasyonuna neden olur. Diğer TRPC aktivasyon yolları ise mekanik germe ve oksidatif stres (Wang, L.,2015).

Geçici reseptör potansiyel iyon kanalı C6 (TRPC6) podositlerde exprese edilmekte ve slit diyaframın bir komponentidir. TRPC6 podositlerdeki slit diyafram proteinleri (nefrin, podosin, α -aktinin-4 gibi) ve mekanosensitif Ca^{+2} ile aktive K^{+} kanalları ile ilişki içindedir. Genetik ve kazanılmış hastalıklarda TRPC6 overaktivasyonu patolojik Ca^{+2} girişi ile podosit hasarına neden olmaktadır. Dual etkilidir. Akut aktivasyonu podositleri kompleman aracılı hasardan korurken (Kistler, A.D.,2013), kronik aktivasyonunda fokal segmental skleroza yol açmaktadır (Dryer, S. E.,2010)

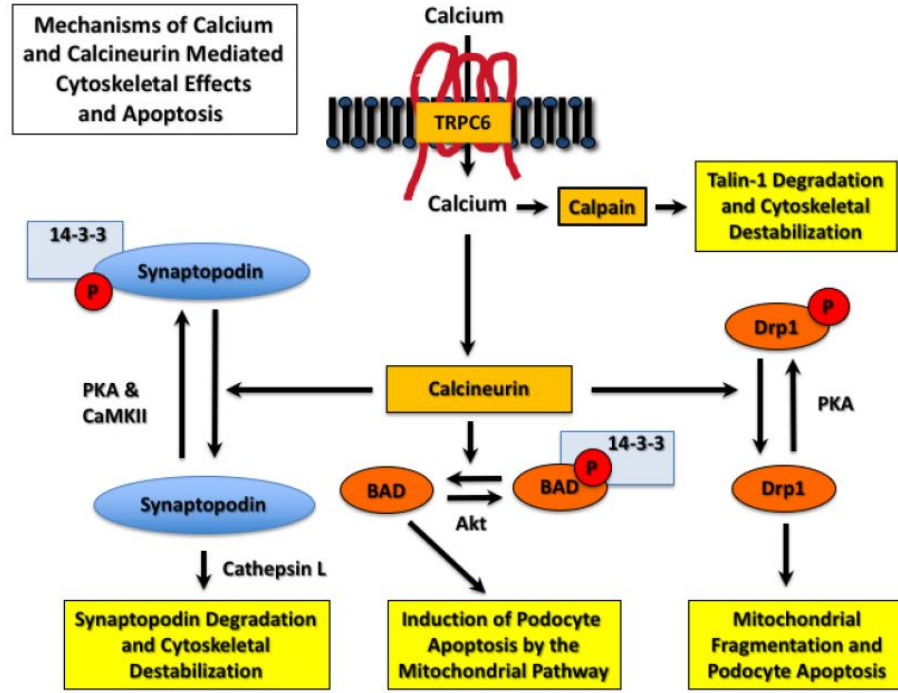
Kültüre podositlerde TRPC6'nın kalsinörin aktivasyonu yaptığı gözlenmiştir (Wang, L.,2011). Kalsinörin aktivasyonu podositlerde defosforilasyon ve aktin ilişkili protein sinaptopodin proteolizi ile proteinürkiye yol açar. TRPC1, TRPC2, TRPC4 ve TRPC5 stromal-interacting molekül 1 (STIM 1) adlı protein ile etkileşim içinde olup bu protein hücre içi kalsiyum depo içeriğine duyarlıdır. Bu protein ile bağlanma sonucunda TRPC kanalları endozomlardaki kalsiyum salıcı zona bağlanırlar. STIM1 TRPC3 veya TRPC6'ya bağlanmaz fakat indirekt olarak farklı hücre tiplerinde TRPC kanallarının kapı davranışlarını değiştirirler. STIM1'in podositlerde ifade olup olmadığı bilinmemektedir. TRPC6 gen mutasyonunun herediter fokal segmental skleroz (FSGS) nedeni olması (Riehle,M.,2016) dışında patofizyolojik olarak artmış TRPC6 ekspresyon düzeyleri kazanılmış glomerüler hastalıklarda da artmıştır (Ilatovskaya, D.V.,2015). Yapılan bir çalışmada (Möller, C.,2007), TRPC6 mRNA ekspresyonunun genetik kökenli olmayan minimal lezyon hastalığı (MLH) ve membranöz glomerülonefrit (MGN) hastalarının böbrek biyopsi örneklerinde kontrol grubu hasta örnekleri (tümör nefrektomili hastaların sağlıklı böbrek parçası) ile karşılaştırıldığında belirgin artmış bulunmuştur.

TRPC6 aktivasyonu pozitif feedback yolu ile tekrar TRPC6 aktivasyon anjiotensin II ile G protein bağlantılı reseptör (GPCR) gibi fosfolipaz C bağlantılı reseptörün uyarılması sonucunda hücre içine kalsiyum girişi artmakta olup bu da kalsinörin aktivasyonuna yol açarak aktive T hücrelerinin nükleer faktörü (NFAT)'nın defosforilasyonu ile NFAT nükleusa yer değiştirir. Sonrasında NFAT TRPC6 ekspresyonunu artırıp kalsiyum girişini artırıp pozitif feedback yapar (Nijenhuis, T., 2011, Wang, Y.,2010).



Şekil 3. TRPC aktivasyonunda pozitif feedback (Hall, G., 2020'den alıntı)

Kalsiyum ve kalsinörin aracılı podosit hasarı mekanizmaları; Podosit proteini sinaptopodin, podosit hücre iskeletini stabilize etmede rol oynayan aktinle ilişkili bir proteindir. Sinaptopodin, protein kinaz A (PKA) ve kalsiyum / kalmodulin bağımlı protein tarafından fosforile edilir ve bunun sonucunda 14-3-3 bağlanmasını uyarır ve bu olay da sinaptopodinin Katepsin L tarafından yıkılmasına engel olur. Kalsinörün sinaptopodini defosforilize ederek Katepsin L ile yıkılmasına neden olup sonuçta aktin hücre iskeletini dengesizleştirir ve proteinüriye neden olur.



Şekil 4. Kalsiyum ve kalsinörin ilişkili podosit hasar mekanizması(Hall, G., 2020'den alıntı)

Buna dayanarak da TRPC6'nın genetik olmayan glomerüler hastalıklarda önemli rol oynadığı ve TRPC6'ya yönelik olarak yapılabilecek blokağların etkili bir tedavi yöntemi olabileceği söylenmektedir (Kim, E.Y., 2018, Sonneveld, R.,2017, El Hindi, S., 2011).

Glomerüler podositlerin TRPC1, TRPC3, TRPC4, TRPC5 ve TRPC6'yı eksprese ettikleri rapor edilmiştir; bununla birlikte, sadece TPRC3, TRPC5 ve TRPC6'nın podositlerde kalsiyum girişine katkıda bulunduğu gösterilmiştir.

Diğer TRPC aile üyeleri gibi TRPC3'ün de glomerüler hastalıklarda arttığı TRPC5'in ise değişmediği gösterilmiştir. Bazı çalışmalarda TRPC6 knockout ratlarda TRPC3 ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Bu nedenle, seçici olarak TRPC6'nın bloke edilmesi, diğer TRPC ailesi üyelerinin kompensatuar artışına yol açarak patolojik süreçlerde TRPC aktivasyonunun neden olduğu kalsiyum akışının inhibe edilmesinde yeterli olmayabilir.

Yapılan çalışmalarda bazı durumlarda TRPC6'nın artmış ekspresyonunun podositleri kompleman aracılı hücrel hasardan koruyucu olduğu söylenmektedir (Kistler, A.D.,2013).

Materyal Metod

Bu çalışma Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji polikliniğine başvuran, yapılan tetkikler neticesinde mikroskobik ve/veya makroskobik hematüri olsun ya da olmasın proteinüriye sahip olup glomerülonefrit ön tanısı ile böbrek biyopsisi yapılan 108 hasta ve kontrol olgusu olarak primer böbrek tümörü tanısı ile üroloji kliniğinde nefrektomi yapılan 37 hasta ile yapılmıştır.

3.1. Çalışma Hastalarının Seçimi

Çalışmaya dahil edilme kriterleri;

Hasta grubu olarak;

- Mikroskobik ve/veya makroskobik hematüri olsun ya da olmasın proteinüriye sahip olup klinik olarak glomerülonefrit düşünülen ve böbrek biyopsisi yapılan hastalar
- 18 yaş ve üstü olması
- Çalışma ile ilgili bilgilendirilmiş ve yazılı bilgilendirilmiş onay alınmış olanlar

Kontrol grubu için; primer böbrek tümörü nedeniyle üroloji kliniğinde yatan ve nefrektomi planlanan hastalar dahil edildi.

Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri;

- Böbrek biyopsisi için kontrendikasyon (kanama bozukluğu, ciddi anemi, kontrolsüz hipertansiyon, tek böbrekli ve ultrason olarak küçülmüş böbrekli hastalar) taşıyan hastalar
- İmmünespresif tedavi almakta olan hastalar
- Renal transplantasyon
- Lupus tanısı olanlar
- Gebelik
- Diyabetik nefropati olduğu düşünülen hastalar (uzun süreli kontrolsüz diyabeti olan, retinopati, nöropati gibi mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlu hastalar)
- Muayenede saptanan aktif enfeksiyon varlığı
- Evre 3-4 konjestif kalp yetmezliği

- Böbrek tümörü dışında malignitesi olanlar
- Kronik böbrek yetmezliği olan hastalar
- Proteüri olmaksızın tek başına mikroskobik ve/veya makroskobik hematüri
- Ailevi akdeniz ateşi (FMF) öyküsü olanlar
- Genetik kaynaklı glomerülonefrit olduğunu düşündüren aile öyküsü olanlar idi.

Nefroloji kliniğine böbrek biyopsi yapılmak üzere yatan ve çalışmaya alınmama kriterlerine sahip olmayan glomerülonefrit ön tanılı hastalara çalışma ile ilgili gerekli bilgi verildikten sonra onam formunu imzalayan hastalara olgu rapor formu dolduruldu. Aynı işlem kontrol grubu olarak aldığımız primer böbrek tümörü tanısı ile nefrektomi yapılmak üzere üroloji kliniğine yatan hastalara da uyguladık. Hastalarla ilgili gerekli demografik veriler ve laboratuvar sonuçları hasta kayıtlarından elde edildi.

Çalışmaya 30.05.2016-06.06.2018 tarihleri arasında hasta alımı yapılmıştır.

3.2. Ön Hazırlık

Hastalardan ve kontrol grubundan, 3ml kadar periferik kan örneği elde edilen sonuçlara göre ileride genetik analizlerde ve biyokimyasal analizlerde kullanılmak üzere EDTA'lı tüplere alındı ve çalışma başlanana kadar -80C'de dondurularak saklandı.

Doku örneklerinin alınması; glomerülonefrit şüphesi ile ultrason eşliğinde böbrek biyopsi yapılan hastalardan çalışma için 10mg böbrek biyopsi örneği ayrılıp sıvı azotta ve RNAlater içinde çalışılmaya başlanana kadar -80C'de dondurularak saklandı. Aynı işlem nefrektomi yapılmış kontrol grubu hastalarında patoloji laboratuvarında patolog eşliğinde tümör içermeyen sağlıklı böbrek dokusundan 10mg örnek alınıp sıvı azotta ve RNAlater içinde çalışma başlanana kadar -80C'de dondurularak saklandı.

3.3. Çalışma Prosedürü

Hedef Genlerin mRNA Ekspresyon Düzeylerinin Belirlenmesi

Total RNA İzolasyonu

RNA later içerisinde -80 °C’de saklanan doku örnekleri tartıldı. RNA izolasyonu amacıyla önce sıvı azot ile dondurulup ardından havanda toz haline getirildi. Total RNA izolasyonu için Total RNA Purification Plus (Norgen) kiti kullanıldı. Kullanılan kite göre uygulanan protocol aşağıda sıralanmıştır:

1. 600 µL Buffer RL doku örneği üzerine eklendi. 25 gauge’lik enjektör yardımı ile lizat 5-10 kez geçirilerek homojenize edildi.
2. Lizat pipet ile RNAaz-içermeyen 1.5 mL’lik santrifüj tüpüne aktarıldı.
3. Lizat 2 dk santrifüj edildi.
4. Süpernatant başka bir tübe aktarıldı.
5. gDNA Removal Column toplama tübüne yerleştirildi. 600 µL lizat kolona aktarıldı ve 14,000 xg’de 1 dk santrifüj edildi.
6. Her 100 µL lizat için 60 µL % 96-100 Etanol eklendi. Vortekslendi.
7. RNA Purification kolonu toplama tubune yerleştirildi. Etanol eklenen lizatın tümü kolona aktarıldı. 1 dk 3,500 x g’de santrifüj edildi.
8. 400 µL Wash Solution A kolona eklendi. 1 dk santrifüj edildi.
9. Aşağıya akan sıvı atıldı. Wash Solution A ile 2 kez daha yıkama gerçekleştirildi.
10. Kolon 1.7 mL Elution tğbüne yerleştirildi.
11. 50 µL Elution Solution A eklendi. 200 x g’de 2 dk santrifüj, ardından 1 dk 14,000 x g’de santrifüj edildi.

cDNA Sentezi

RNA miktarları 260 nm’deki absorbans (A260) değerleri spektrofotometrede (Nanovette, Beckman Coulter) ölçülerek belirlendi. Total RNA örneklerinden EvoScript Universal cDNA Master (Roche) kitikullanılarak cDNA sentezi gerçekleştirildi.

cDNA sentez protokolü:

cDNA sentezi Thermal Cycler PCR cihazı (Techne) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

1. 300 ng total RNA'ya 4 µl Reaction Buffer eklendi. Total hacim su ile 18 µL'ye tamamlandı. Kısa santrifüj edildi.
2. 2 µL Enzim Mix eklendi.) ve 1 µl dNTP karışımı eklenerek total hacim su ile birlikte 14,5 µl'ye tamamlandı.
3. Karışım 42 °C'de 15 dk PCR cihazında inkübe edildi.
4. Sırasıyla 85 °C'de 5 dk ve 65 °C'de 15 dk inkübe edildi.
5. Örnekler 4 °C'ye soğutuldu.

Gerçek Zamanlı Nicel RT-PCR (Real Time quantitative Reverse Transcriptase PCR, qRT-PCR)

Tablo 1'de listelenen hedef genlerin mRNA ekspresyon düzeyleri Light Cycler 480 (Roche) cihazında Light Cycler FastStart DNA Master SYBR Green I kiti (Roche) kullanılarak gerçek zamanlı qPCR gerçekleştirilmiştir. Hedef genlerinin rölatif ekspresyon düzeyleri internal housekeeping gen 18S rRNA'ya normalize edilerek hesaplanmıştır. Her bir örnek için, kesişme noktası (crossing point, Cp) LightCycler 480 programı tarafından otomatik olarak belirlenmiştir. PCR protokolü 10 dk 95 °C, ardından 40 döngü 10 s 95 °C, 17 s 58 ve 15 s 72 °C olarak gerçekleştirildi.

Kullanılan PCR programı 4 basamaktan oluşmaktadır:

- 1) Başlangıç denatürasyonu: çift sarmal cDNA'nın tek sarmal hale getirilmesi (95°C 10 dk)
- 2) Amplifikasyon: hedef cDNA'nın çoğaltılması
 - Denatürasyon: çift sarmal DNA'nın tek sarmal hale getirilmesi
 - Primer bağlanması: hedef DNA'ya spesifik primerlerin bağlanması
 - Uzama: çift sarmal DNA'nın sentezlenmesi (72°C)
- 3) Ergime eğrisi
- 4) Soğutma

PCR reaksiyonu ileri "forward, F" ve geri "reverse, R" primer konsantrasyonu 1 µM olacak şekilde gerçekleştirildi ve 18S rRNA referans olarak kullanıldı.

Tablo 1: PCR çalışmalarında kullanılan primer dizileri

Gen	Erişim No	Primer Dizisi (5'-3')	Ürün Boyutu (bç)
hTRPP2 Polycystin	NM_000297	F: TCC ATC GGC AGC ATA GTG T R: GGC GAG GTT GAC CAT TTA G	268
hNPSH2 podocin	NM_014625	F: AGG TGG TGG CGC TGT TGG AG R: GAA GCA GAT GTC CCA GTC GGA ATA T	195
hTRPC1	NM_003304	F: TGC GAC AAG GGT GAC TAT TA R: TCC ATT AGT TTC TGA CAA CCG	176
hTRPC	NM_003305	F: TGA CTT CCG TTG TGC TCA AAT ATG- R: ACA TCA CTG TCA TCC TCA ATT TC	157
hTRPC	NM_004621	F: GCC AAT GAG CAT CTG GAA AT R: TGG AGT CAC ATC ATG GGA GA	243
STIM1	NM_001277961	F: AGC AGA GTT TTG CCG AAT TG R: ATC ACT TTC TTC CAC ATC CAC AT	132
Orai1	NM_032790	F: CAG AGT TAC TCC GAG GTG ATG AG R: GAG AGC AGA GCC GAG GTC C	119

PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezi ile Görüntülenmesi

% 2 lik agaroz jel 1X TAE çözeltisi ile hazırlandı (0,8 g agaroz, 40 ml 1X TAE çözeltisi). PCR örnekleri jel yükleme boyasıyla (6X konsantrasyon; 0,25 bromfenol mavisi, %0,25 ksilen siyanol, %30 gliserol) ile jele yüklendi. Hazırlanan örnekler 1X TAE çözeltisi içinde 30 dk 120 V ile sürüklendi. Elektroforeden sonrasında jel etidyum bromür (EtBr, %2) ile boyandı ve Transilluminator (Vilber Lourmat) ile görüntüldü.

3.4. İstatistiksel Değerlendirme

Veriler IBM SPSS Statistics 25.0 (IBM Corp., Armonk, New York, ABD) istatistik paket programında değerlendirilmiştir. Tanımlayıcı istatistikler birim sayısı (n), yüzde (%), ortalama \pm standart sapma, en küçük değer (min), en büyük değer (max), ortanca ($medyan$), 25.yüzdilik (Q_1) ve 75.yüzdilik(Q_3) değerleri olarak verildi. Nicel değişkenlere ait verilerin normal dağılımını Shapiro Wilk normallik testi ve $Q-Q$ grafikleri ile değerlendirildi. Sayısal değişkenler için gruplar arası karşılaştırmalar verilerin normal dağılması durumunda iki grup için, bağımsız örneklem t testi, verilerin normal dağılmaması durumunda Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir. İki'den daha fazla alt kategoriye sahip bağımsız grupların karşılaştırmaları, verilerin dağılımını normallik testi sonucuna göre Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ya da Kruskal-Wallis analizi ile değerlendirildi. Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) sonucu fark bulunması durumunda, grup varyansları homojen olduğu durumda Tukey testi, grup varyansları homojen olmadığı durumda Tamhane testi çoklu karşılaştırma testi olarak kullanıldı. Kruskal Wallis analizi sonucu fark bulunması durumunda çoklu karşılaştırma testi olarak Dunn's testi kullanıldı. Bu tez çalışmasında nitel değişkenler ise frekans ve yüzde olarak gösterildi. Kategorik değişkenler arasındaki ilişki $r \times c$ Pearson Ki-Kare testi ile değerlendirildi. Sürekli değişkenler arası ilişkiler Spearman korelasyon analizi ile değerlendirildi. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak önemli kabul edildi.

Bulgular

Çalışmaya Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalında Glomerülonefrit şüphesi ile böbrek biyopsisi yapılan 108 hasta ve kontrol grubu olarak da tümör nedeniyle nefrektomi yapılan 37 hasta dahil edildi. Çalışma Mayıs 2016 ile Haziran 2018 tarihleri arasında yapılmıştır. Hastaların 51'i kadın, 57'si erkekti. Kontrol grubu değerlendirildiğinde ise 14'ü kadın, 23'u erkekti.

Tablo 2: Grupların Demografik Özellikleri ve Bazal Glomerüler Filtrasyon Hızı

	Hasta	Kontrol	p
Yaş (yıl±SD)	48±14	60±11	P<0,05
Cinsiyet (kadın/erkek)	51/57	14/23	0.322
Diyabet (%)	24,1	24,3	0.976
Hipertansiyon (%)	34,3	40,5	0.492
GFH (CKD-EPI) (ml/dk)	68±46	85±16	P<0.05

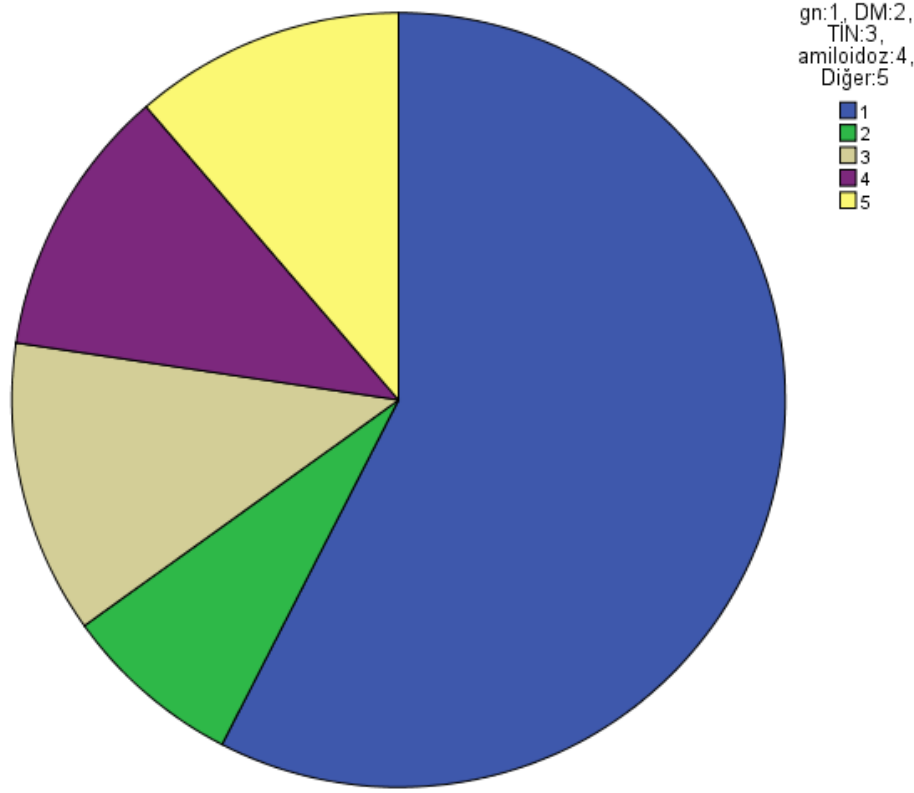
Hasta ve kontrol grubunu karşılaştırdığımız zaman her iki grubun cinsiyet dağılımı benzerdi. Diyabet ve hipertansiyon sıklıkları da benzerdi. Yaş açısından kontrol grubu hastaları nefrit ön tanısıyla böbrek biyopsisi yapılan hasta grubuna göre daha yaşlı idi. Glomerüler filtrasyon hızlarına baktığımızda hasta grubunun klirensleri kontrol grubuna göre anlamlı düşüktü.

Nedenli böbrek biyopsisi yapılan hastaların patolojik sınıflandırmaları tablo 2'de ve Grafik 1'de verilmiştir. Sonuçlara baktığımızda glomerülonefrit ön tanısı ile böbrek biyopsi yapılan hastaların büyük bir çoğunluğunda glomerülonefrit var idi. Etyolojik açıdan baktığımızda en sık membranöz nefropati %23,1, sonrasında IgA nefropatisi %13, Amiloidoz %11,2, Fokal segmental glomerüloskleroz %7,1, proliferatif glomerülonefrit %4,6, Minimal lezyon hastalığı %2,8 ve membranoproliferatif glomerülonefrit %1,9 idi. Hastaların %7,4'ünde nefrit ön tanısı ile yapılan böbrek biyopsisinde diyabetik nefropati tanısı kondu. Diğer nedenler olarak; hipertansif nefropati, immunkompleks aracılı glomerülonefrit, trombotik mikroangiopati ve kronik glomerülonefrit tanılı hastalardan oluşmaktaydı. Hastaların laboratuvar değerleri Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. Hasta Grubunun Böbrek Biyopsi Sonuçları

	Sayı	Yüzde
Normal	2	1.9
Proliferatif Glomerülonefrit	5	4.6
Tübulointerstisyel nefrit	13	12.0
Membranöz nefropati	25	23.1
Fokal segmental glomerüloskleroz	8	7.1
Amiloidoz	12	11.1
IgA nefropatisi	14	13.0
Lupus Nefriti	2	1.9
Membranoproliferatif Glomerulonefrit	2	1.9
Diyabetik Nefropati	8	7.4
Minimal Lezyon Hastalığı	3	2.8
Diğer	14	13.0

Şekil 5. Hastaların böbrek biyopsilerinin patolojik sınıflandırılması.



Tablo 4. Hastaların laboratuvar bulguları

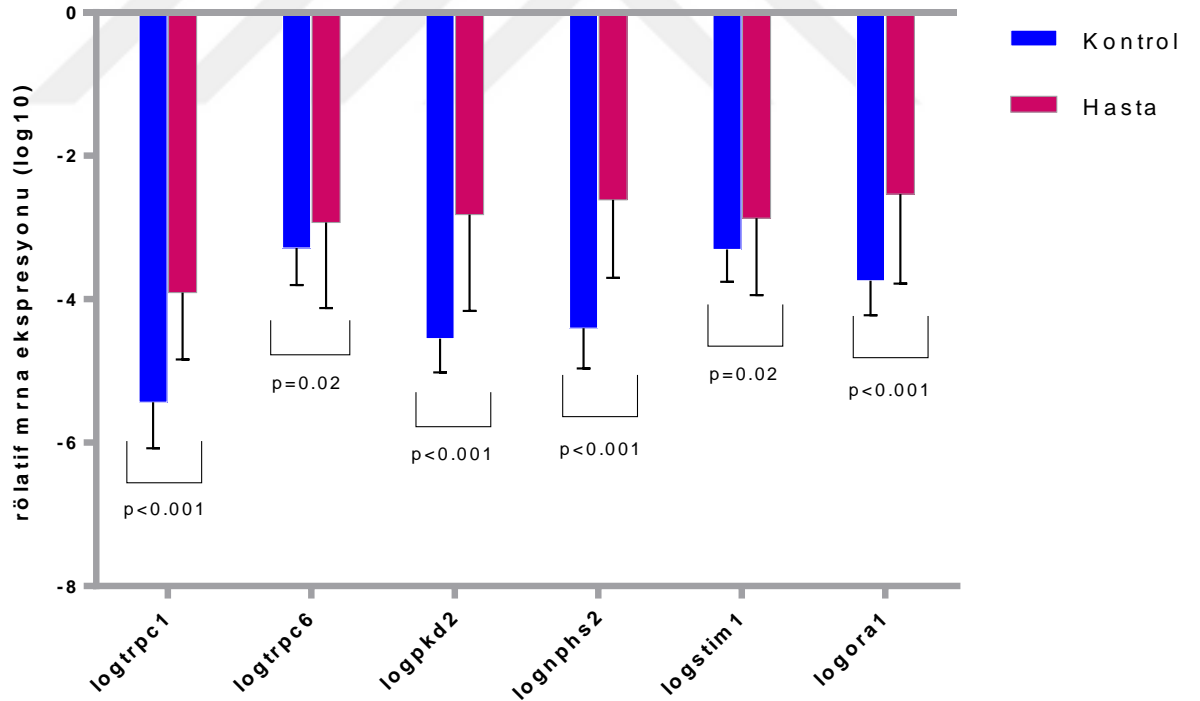
	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Proteinüri (gr/gün)	107	,070	31,786	5,97823	5,587994
albumin	107	1,3	5,0	3,235	,9256
Kreatinin(mg/dl)	108	,17	10,05	1,9702	1,98674
CKD EPI GFR	108	4,04	183,05	68,905	46,29
Açlık Kan şekeri	85	70	210	105,54	28,816
Total kolesterol	40	116	532	273,83	99,243
Trigliserid	40	72	1059	256,38	170,592
CRP	90	,03	18,02	1,6420	3,41856

Hasta ve kontrol grubunun TRPC ekspresyon profillerini karşılaştırdığımızda nedenli böbrek biyopsisi yapılan grubun TRPC ekspresyon düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı şekilde yüksek idi (Tablo 3 ve Grafik 2).

Tablo 5. Hasta ve Kontrol grubunun TRPCmRNA düzeyleri

	N	Hasta	N	Kontrol	p
logtrpc1	91	-3,87±0,88	33	-5,43± 0,63	<0.05
logtrpc6	92	-2,92±1,19	33	-3,28±0,51	<0.05
logpkd2	86	-2,92±1,24	33	-4,54±0,47	<0.05
lognphs2	90	-2,64± 1,04	31	-4,40±0,56	<0.05
logstim1	90	-2,86±1,07	33	-3,30±0,44	<0.05
logora1	90	-2,66±0,96	33	-3,74±0,48	<0.05

Şekil 6. Hasta ve Kontrol Grubunun TRPC Expressyon Profillerinin Karşılaştırılması



Alt grup analizi yaptığımızda; nedenli böbrek biyopsisi yapılan hasta grubu diyabeti olan ve olmayan şeklinde karşılaştırıldığında diyabetik grubun TRPC1, TRPC6 ve

STİM1 düzeyleri diyabeti olmayanlara göre istatistiksel açıdan anlamlı yüksek bulundu (Tablo 5).

Tablo 6. Diyabeti Olan ve Olmayan Hasta Grubun TRPCmRNA Düzeyleri

	dm var yok	N	Mean	Std. Deviation	p
logtrpc1	1	20	-3,5169	,85766	0.034
	0	72	-4,0142	,92802	
logtrpc6	1	20	-2,3217	1,11472	0.009
	0	72	-3,0988	1,16884	
logpkd2	1	19	-2,4426	1,71307	0.167
	0	70	-2,9243	1,21748	
lognphs2	1	20	-2,2476	1,17066	0.089
	0	71	-2,7165	1,05124	
logstim1	1	20	-2,3539	1,03637	0.014
	0	70	-3,0173	1,04173	
logora1	1	20	-2,2502	1,06410	0.255
	0	73	-2,6108	1,29158	

Yine aynı şekilde hasta grubunu laboratuvar sonuçlarında proteinüri miktarının nefrotik düzeyde veya nefritik düzeyde olup olmamasına göre karşılaştırdığımızda nefritik düzeyde proteinürisi olan hasta grubunun PKD2 ekspresyon düzeylerinin istatistiksel açıdan anlamlı şekilde yüksek bulduk (Tablo 6)

Tablo 7. Nefrotik ya da Nefritik Proteinürisi Olan Hasta Grubunun TRPCmRNA Düzeyleri

	nefrotik1 nefritik2	N	Mean	Std. Deviation	p
logtrpc1	1	55	-4,0215	,98464	0.193
	2	36	-3,7611	,82600	
logtrpc6	1	55	-3,0676	1,28190	0.200
	2	36	-2,7366	1,04954	
logpkd2	1	52	-3,1148	1,26396	0.017
	2	36	-2,4247	1,37320	
lognphs2	1	54	-2,6006	,99779	0.793
	2	36	-2,6626	1,22834	
logstim1	1	54	-2,9621	1,08824	0.364
	2	35	-2,7493	1,05462	
logora1	1	55	-2,6180	1,42439	0.491
	2	37	-2,4331	,94895	

Tablo 8. Hasta Grubunda Korelasyon Analizi

	Yaş	GFH	DM	C4d pozitif	Arteriolar hyalinozis	Glomerüler skleroz oranı	IgM pozitifliği
logtrpc1	0.092	-0.066	0.221*	-0.177	0.086	-0.021	-0.129
logtrpc6	0.98	-0.195	0.270**	-0.197*	0.141	0.065	-0.208*
logpkd2	-0.064	-0.059	0.148	-0.241*	-0.005	-0.026	0.011
lognphs2	0.066	-0.070	0.179	-0.345**	0.254*	0.125	-0.103
logstim1	0.121	-0.175	0.259*	-0.165	0.135	0.120	-0.250*
logora1	0.039	-0.177	0.119	-0.191	0.242*	0.307**	0.002

Hasta grubunun TRPC ekspresyon profillerinin demografik ve böbrek biyopsi patoloji sonuçları ile yapılan korelasyon analizinde TRPC1, TRPC6 ve STİM1 ile diyabet varlığı arasında pozitif bir korelasyon vardı. Biyopsideki arteriolar hyalinozis ile NPHS2 ve ORAI arasında pozitif korelasyon vardı. İlginç şekilde böbrek biyopsisinde glomerüllerin C4d boyanmasının pozitif olması ile TRPC6, NPHS2 ve PKD2 ve IG M pozitifliği ile TRPC6 ve STİM1 arasında negatif korelasyon var idi. ORAI ile glomerüler skleroz oranı arasında pozitif korelasyon bulundu.



Tartışma

Glomerüler böbrek hastalıkları dünyada ve ülkemizde çok sayıda insanı etkilemeye devam etmekte olup son dönem böbrek hastalığına yol açan etyolojiler içerisinde yer almaktadır. Ülkemizde glomerülo nefrit sıklığını araştıran az sayıda çalışma bulunmakta olup Hür ve ark., 2010 yılında yaptıkları araştırmada primer glomerüler hastalıkların etyolojileri içinde FSGS %10,28, MGN %9,17 ve IgAN %8,52 oranında bulmuşlardır. Avrupa'da ve ABD'de birincil nefropatiler içinde en sık IgAN bulunmaktadır (Pişkinpaşa, S.,2012). Bizim yaptığımız kesitsel olan bu çalışmada biz en sık MGN (%23,1) ve ikinci sıklıkta IgAN (%13)'si olduğunu gördük. Aynı şekilde çalışmamızda daha çok glomerüler hastalıktan şüphelenilerek yapılan böbrek biyopsi patolojik incelenmesinde %7,4 oranında diyabetik nefropati tanısı aldı. Bu da bize diyabetik nefropati kliniğini düşündürecek bulgu olmasa bile diyabetik hastalarda diyabetik nefropati görülme sıklığının yüksek olduğunu düşündürmektedir.

Proteinüri glomerüler böbrek hastalıklarının esas bulgusu olup son dönem böbrek yetmezliğinin gelişimi açısından bağımsız bir risk faktörüdür. Proteinüri gelişiminde ana neden podosit hasarıdır. Podositlerin aktin iskeletindeki bozulmalar proteinürik böbrek hastalıklarına sebep olmaktadır. Podositlerdeki kalsiyum aktin yapısını düzenlemekte olup podositlere kalsiyum girişini sağlayan TRPC kanalları bulunmaktadır. Proteinürik hastalıklar ve TRPC kanalları içinde TRPC6 arasındaki ilişki bildirilmektedir. TRPC6'nın homeostatik fonksiyonu olup RhoA aktivasyonu yoluyla podosit iskelet yapısını korumakta ve bu şekilde filtrasyon bariyeri sağlam kalmaktadır. Artmış aktivasyonu durumunda sitozolik kalsiyum dengesi bozulmakta ve FSGS'ye yol açmaktadır. Yapılan çalışmalar daha çok tek bir TRPC ekspresyon profili üzerine olup hepsinin birlikte çalışıldığı çalışma bulunmamaktadır. Çalışmaların çoğu da hayvan çalışmaları üzerine olup tek bir kazanılmış proteinürik hastalarda yapılmış bir çalışma olup o da sadece TRPC6 ekspresyonu üzerinedir. Bu çalışmada MGN ve MLH hastalarında artmış TRPC6 ekspresyonu bulunmuştur. Benzer çalışmalar diyabetik nefropatii rodent model FSGS ve üreteral obstruksiyonlu hastalarda da bulunmuştur. Bizim çalışmamızın amacı klinik olarak glomerülo nefrit düşünülen ve böbrek biyopsisi yapılan hastalarda TRPC ailesi üyelerinin farklı ifade profillerinin incelenmesiyle hastaların tanı ve prognozuna katkıda bulunmaktır.

Biz çalışmamızda nedenli yaptığımız böbrek biyopsi doku örneklerindeki TRPC gen ekspresyonları ile sağlıklı böbrek dokusundaki TRPC gen ekspresyon profillerini

karşılaştırdık. Sonuçta gördük ki, hastalarımızın %98'i proteinürik hastalardan oluşmaktaydı ve geniş bir yelpazede tanı profilleri vardı. Çoğunluğunu glomerülonefrit grubu oluşturmakla birlikte etyolojileri uniform dağılmadığı için tanıya özel bir ilişki saptayamadık. Ama sonuçta proteinürik böbrek hastalarında TRPC gen ekspresyon profillerinin sağlıklı böbrek dokusuna göre istatistiksel açıdan anlamlı artmış olduğunu bulduk ki bu da literatürdeki artmış TRPC6 ekspresyonu ve proteinüri arasındaki ilişkiyi desteklemekteydi. Biz proteinüri şiddeti ile TRPC ekspresyon profilleri arasında pozitif bir ilişki bulamadık. Bu da neden bazı hastalarda nefrotik düzeyde bazılarında ise nefritik düzeyde proteinüri olduğunu TRPC ekspresyon düzeylerine bakarak söylemenin zor olduğunu göstermektedir. Belki de bu hastalarda proteinüri şiddetini etkileyen başka sinyal yolları olabilir ki bu da ayrı bir araştırma konusu olduğu düşüncesindeyiz.

Bizim çalışmamızın özgün değeri TRPC ekspresyon profilleri ile böbrek patoloji sonuçlarını karşılaştırmış olmamızdır. Gördük ki, İlginç şekilde böbrek biyopsisinde glomerüllerin C4d boyanmasının pozitif olması ile TRPC6, NPHS2 ve PKD2 arasında negatif bir korelasyon var idi. Bu da literatürdeki TRPC6 ekspresyonunun artışının podositleri kompleman aracılı hücresel hasardan koruyucu olduğu bilgisine dolaylı olarak yansıtıyor olabilir.

Hücre içi kalsiyum deposuna duyarlı stromal-interacting molekül 1 (STIM 1) ve ORAI adlı proteinler bulunmakta olup bugüne kadar yapılmış sadece bir çalışmada bunların artmış ekspresyonlarının podosit hasarına yol açtığı ile ilgili çalışma vardır. Fakat bu çalışmada artmış STİM1 ekspresyonu ile TRPC6 arasında bir ilişki gösterilememiştir. Bizim çalışmamızda ise proteinürik hastalarda kontrol grubuna göre belirgin olarak artmış STİM1 ve ORAi ekspresyon profilleri mevcut idi ve bunların artışı TRPC6 ile yakın ilişki göstermekteydi. Buradan da bu proteinlerin proteinürik böbrek hasarında önemli bir rol oynadığı sonucuna varabiliriz. Yine biz artmış ORAI ekspresyonu ile glomeruloskleroz oranı arasında anlamlı bir ilişki bulduk ki bu sonuçta patogenezi aydınlatmak ve yeni tedavi stratejileri geliştirmek açısından önemli olacağını düşünüyoruz.

Yine sonuçlarımıza baktığımızda literatüre benzer şekilde diyabetik hastalarda TRPC6 ve STİM1 ekspresyon profillerinin artmış olduğunu gördük ki bu hastalarda gelişen podosit hasarında hücre içi kalsiyum yollarının aktive olmuş olduğu bilgisini desteklemektedir.

Sonuç ve Öneriler

Bu çalışmada, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalında glomerülonefrit ön tanısı ile böbrek biyopsisi yapılan 108 hasta ile kontrol olarak 37 tümör nefrektomi olmuş olan hastaların sağlıklı böbrek doku örneklerinde TRPC gen ekspresyon profilleri çalışılmıştır. Çalışma grupları arasında cinsiyet ve diyabet sıklığı açısından fark yoktu. Sadece çalışma grubu hastaları daha genç ve glomerüler filtrasyon oranları daha düşük idi.

Hasta grubunun böbrek biyopsi örneklerinin patolojik incelemesine bakıldığında büyük bir bölümünü proliferatif veya nonproliferatif glomerülonefritli hastalar oluşturmaktaydı.

Sağlıklı böbrek doku örneklerindeki TRPC Gen ekspresyon profilleri ile karşılaştırıldığında proteinürik hastalarda artmış TRPC gen ekspresyon profilleri olduğunu gördük ki bu da bize proteinürik hastaların patogenezinde TRPC ilişkili kalsiyum sinyal yolak aktivitesindeki artışın podosit hasarından sorumlu olduğunu düşündürdü. Fakat bu sinyal yolağının aktivitesinin şiddeti ile proteinüri düzeyi arasında bir ilişki bulunmamaktaydı. proteinüri şiddetini etkileyen başka sinyal yolaklarının olabileceği ve bu konuda ileri araştırmalara gerek olduğu kanısına vardık.

Bizim çalışmamızda gen profillerinin patoloji sonuçları ile birlikte değerlendirilmesi daha önceki çalışmalarda bu konuyla ilgili bilginin olmaması açısından önemlidir. Biz gördük ki, C4d boyaması pozitif olan hastalarda gen ekspresyon profilleri daha düşük idi. Bu da kompleman aracılı glomerülonefrit patogenezinde TRPC aktivasyonunun ön planda olmadığını düşündürmüştür.

Yine diyabetik nefropatili hastalarda belirgin artmış TRPC gen ekspresyon profillerinin bulunması bu hastalarda patogeneze ışık tutması ve kalsiyum aracılı sinyal yolağının podosit hasarına bağlı gelişen proteinüride önemine dikkat çekmiştir.

Gelecekte proteinürik hastalarda TRPC sinyal yolağı aktivitesini düşürücü tedaviler bu bilgilerin ışığında faydalı olabilir fakat bu konuda daha geniş klinik ve laoratuvar çalışmalara ihtiyaç vardır.

Ayrıca glomerüler hastalık tedavisinde kullanılan immunsupresif ilaçların özellikle kalsinörin inhibitör tedavi ajanlarının TRPC sinyal yolağı üzerine nasıl etkisi olacağı konusunda uzun izlem süreli araştırmalara ihtiyaç vardır.

Kaynaklar

- Cybulsky, A. V., Bonventre, J. V., Quigg, R. J., Lieberthal, W., & Salant, D. J. (1990). Cytosolic calcium and protein kinase C reduce complement-mediated glomerular epithelial injury. *Kidney International*, 38(5), 803–811.
- Dryer, S. E., & Reiser, J. (2010, October). TRPC6 channels and their binding partners in podocytes: Role in glomerular filtration and pathophysiology. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*.
- El Hindi, S., & Reiser, J. (2011). TRPC channel modulation in podocytes-inching toward novel treatments for glomerular disease. *Pediatric Nephrology (Berlin, Germany)*, 26(7), 1057–64.
- Gees, M., Colsoul, B., & Nilius, B. (2010). The role of transient receptor potential cation channels in Ca²⁺ signaling. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2(10).
- Hall, G., Wang, L., & Spurney, R. F. (2019). TRPC Channels in Proteinuric Kidney Diseases. *Cells 2020*, Vol. 9, Page 44, 9(1), 44.
- Hur, E., Taskin, H., Bozkurt, D., Sarsik, B., Sen, S., Ertlav, M., ... Duman, S. (2010). BJ BANTAO Journal Adult Native Renal Biopsy Experience of Ege University for 12 Consecutive Years. *BANTAO Journal (Vol. 8)*.
- Ilatovskaya, D. V, & Staruschenko, A. (2015). TRPC6 channel as an emerging determinant of the podocyte injury susceptibility in kidney diseases. *American Journal of Physiology. Renal Physiology*, 309(5), F393-7.
- Ilatovskaya, D. V., & Staruschenko, A. (2015). TRPC6 channel as an emerging determinant of the podocyte injury susceptibility in kidney diseases. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 309(5), F393–F397.

Kim, E. Y., Yazdizadeh Shotorbani, P., & Dryer, S. E. (2018). Trpc6 inactivation confers protection in a model of severe nephrosis in rats. *Journal of Molecular Medicine*, 96(7), 631–644.

Kistler, A. D., Singh, G., Altintas, M. M., Yu, H., Fernandez, I. C., Gu, C., ... Reiser, J. (2013). Transient Receptor Potential Channel 6 (TRPC6) Protects Podocytes during Complement-mediated Glomerular Disease. *Journal of Biological Chemistry*, 288(51), 36598–36609.

Kriz, W., Gretz, N., & Lemley, K. V. (1998). Progression of glomerular diseases: Is the podocyte the culprit? *Kidney International*, 54(3), 687–697.

Möller, C. C., Wei, C., Altintas, M. M., Li, J., Greka, A., Ohse, T., ... Reiser, J. (2007). Induction of TRPC6 channel in acquired forms of proteinuric kidney disease. *Journal of the American Society of Nephrology*, 18(1), 29–36.

Nijenhuis, T., Sloan, A. J., Hoenderop, J. G. J., Flesche, J., Van Goor, H., Kistler, A. D., ... Van Der Vlag, J. (2011). Angiotensin II contributes to podocyte injury by increasing TRPC6 expression via an NFAT-mediated positive feedback signaling pathway. *American Journal of Pathology*, 179(4), 1719–1732.

Nilius, B., Owsianik, G., Voets, T., & Peters, J. A. (2007, January). Transient receptor potential cation channels in disease. *Physiological Reviews*.

Pişkinpaşa, S., Dede, F., Akoğlu, H., Doğru, F., Çoşkun Yenigün, E., Öztürk, R., ... Odabaş, A. R. (2012). Böbrek biyopsilerinin klinikopatolojik değerlendirmesi: Tek merkez deneyimi. *Turkish Nephrology, Dialysis and Transplantation Journal*, 21(2), 167–172.

Riehle, M., Büscher, A. K., Gohlke, B. O., Kaßmann, M., Kolatsi-Joannou, M., Bräsen, J. H., ... Harteneck, C. (2016). TRPC6 G757D loss-of-function mutation associates with FSGS. *Journal of the American Society of Nephrology*, 27(9), 2771–2783.

Sonneveld, R., Hoenderop, J. G., Isidori, A. M., Henique, C., Dijkman, H. B., Berden, J. H., ... Nijenhuis, T. (2017). Sildenafil prevents podocyte injury via PPAR-g-mediated TRPC6 inhibition. *Journal of the American Society of Nephrology*, 28(5), 1491–1505.

Türk Nefroloji Derneği. Erişim adresi:
http://www.nefroloji.org.tr/folders/file/REGISTRY_2018.pdf

Wang, L., Chang, J.-H., Paik, S.-Y., Tang, Y., Eisner, W., & Spurney, R. F. (2011). Calcineurin (CN) Activation Promotes Apoptosis of Glomerular Podocytes Both in Vitro and in Vivo. *Molecular Endocrinology*, 25(8), 1376–1386.

Wang, L., Jirka, G., Rosenberg, P. B., Buckley, A. F., Gomez, J. A., Fields, T. A., ... Spurney, R. F. (2015). Gq signaling causes glomerular injury by activating TRPC6. *Journal of Clinical Investigation*, 125(5), 1913–1926.

Wang, Y., Jarad, G., Tripathi, P., Pan, M., Cunningham, J., Martin, D. R., ... Chen, F. (2010). Activation of NFAT signaling in podocytes causes glomerulosclerosis. *Journal of the American Society of Nephrology*, 21(10), 1657–1666.

Wieder, N., & Greka, A. (2016). Calcium, TRPC channels, and regulation of the actin cytoskeleton in podocytes: towards a future of targeted therapies. *Pediatric Nephrology*, 31(7), 1047–1054.

Yu, S. M. W., Nissaisorakarn, P., Husain, I., & Jim, B. (2018). Proteinuric kidney diseases: A podocyte's slit diaphragm and cytoskeleton approach. *Frontiers in Medicine*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmed.2018.00221>

Ekler

Protokol Adı/Kodu: Klinik olarak glomerülonefrit şüphesi ile böbrek biyopsi yapılan hastalarda “Geçici Reseptör Potansiyel İyon Kanal (TRPC) Gen Ailesinin” farklı ifade profillerinin incelenmesi

OLGU RAPOR FORMU

Tarih:

Olgu No:

Yaş.....:

Cinsiyet.....:

Boy.....:

Kilo.....:

Böbrek biyopsi yapılma nedeni.....:

Eşlik eden hastalıklar.....:

Hipertansiyon öyküsü :

Kardiyovasküler Hastalık Öyküsü.....:

Diyabet Öyküsü :

Geçirdiği Ameliyatlar.....:

Sigara kullanımı..... : Yok Var Varsa :

Süresi.....:

Alkol kullanımı..... : : Yok Var

Varsa:

Süresi.....:

Kullandığı ilaçlar.....:

ilaçların isimleri.....:

İlaç Kullanım Süresi.....:

Yapılacak tetkikler ve tarihi

.....
Tarih

Böbrek biyopsi tarihi

Periferik kan alma

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (FORM 17)

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmevi lütfen dikkatlice okuyunuz. sorularınıza acık vanıtlar

ÇALIŞMANIN AMACI NEDİR?

Mikroskobik ve/veya makroskobik hematüri olsun ya da olmasın proteinüriye sahip olup klinik olarak glomerülonefrit düşünülen ve böbrek biyopsisi yapılan hastalarda “Geçici Reseptör Potansiyel İyon Kanal (TRPC) Gen ailesi” üyelerinin farklı ifade profillerinin incelenmesinin hastaların tanı ve prognozuna katkıda bulunup bulunmadığının araştırılmasıdır.

KATILMA KOŞULLARI NEDİR?

Bu çalışmaya dahil edilebilmeniz için 18 yaş ve üstünde yapılan tetkiklerinizde idrarda gözle görülür veya sadece mikroskobik düzeyde kanama olsun veya olmasın, idrarda protein kaçağınızın anlamlı olup glomerülonefrit ön tanısı ile patolojik olarak tanı konabilmesi için böbrek biyopsisi yapılmasını kabul etmiş olmanız ve yazılı onay vermiş olmanız gerekir.

NASIL BİR UYGULAMA YAPILACAKTIR?

Ege Üniversitesi Nefroloji Kliniğine böbrek biyopsi yapılması için yatan hastalara rutin olarak öncelikle “Ege Üniversitesi Nefroloji Bilim Dalı Böbrek biyopsisi bilgilendirilmiş olur formu” imzalatılır. Siz de patolojik tanı konulabilmesi için öncelikle bu formu okuyup imzalamalısınız. Size Ege Üniversitesi Nefroloji Kliniğine klinik gereklilik nedeniyle böbrek biyopsisi yapılmak üzere yattığınızda, çalışmayı gönüllü olarak katılmayı kabul etmeniz halinde; normal muayeneniz esnasında hastalığınızla ilgili aile öyküsü, bugüne kadar aldığınız tedaviler, ameliyat öykünüz ve hastalık bulgularınız ile ilgili sorular sorulacak ve bu doğrultuda olgu rapor formu doldurulacak.

Sizden patolojik inceleme için alınacak olan böbrek biyopsi dokusundan (yaklaşık 1cm uzunluğunda 2 adet parça) 10mg'lık kısmı (yaklaşık mercimek tanesi büyüklüğünde) çalışma için kullanılmak üzere saklanacak. Ayrıca biyopsi için kliniğe yattığınız gün 1 tüp kan (yaklaşık 3 mililitre) ile de hastalığınızla ilgili gerekli olabilecek biyokimyasal testler ve genetik inceleme yapılacak. Bütün bu uygulamalar 1 defaya mahsus yapılacak ve size ve sosyal güvenlik kurumunuza fatura edilmeyecek.

SORUMLULUKLARIM NEDİR?

Araştırma ile ilgili olarak herhangi bir sorumluluğunuz yoktur.

KATILIMCI SAYISI NEDİR?

Araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı toplam 150'dir.

KATILIMIM NE KADAR SÜRECEKTİR?

Bu araştırmada yer almanız için öngörülen süre 1(bir) gündür.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI YARAR NEDİR?

Bu araştırmada yer almak direk size bir sonuç vermeyecek, yapılan moleküler inceleme ile hastalığınızın nasıl bir moleküler temele dayandığı araştırılacak. Ayrıca eğer sonuçlar arasında anlamlı sonuçlar elde edilir ise verilecek tedavi şekillerinin etkinliği üzerinde daha iyi fikir sahibi olma olasılığımız artacak ve gerekirse kişiye özel tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesinin önünü açılacaktır.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI RİSKLER NEDİR?

Size bu araştırmada, hastalığınızın patolojik tanısının konması için yapılan böbrek biyopsi işleminin "Ege Üniversitesi Nefroloji Bilim Dalı Böbrek biyopsisi bilgilendirilmiş olur formu" da anlatılan risklere ilave getireceği risk olarak sadece biyopsiniz için alınacak parçadan çok az da olsa (mercimek tanesi büyüklüğü) bir parçanın çalışma için ayrılmasının patolojik tanı konması için biyopsi örneğinizi yetersiz kılma riski olabilir ki bu olasılık oldukça düşüktür. Çünkü biyopsi anında patolojide biyopsi örneğinizden ayırdığımız mercimek tanesi kadar parçayı inceleyip tanınız için yeterli doku örneğinizin olup olmadığını söyleyecektir.

Sizden bu araştırma esnasında kan alınacaktır. Kan alma işlemi rutinde yapılan kan tahlillerinizden farklı bir işlem olmayıp size ek bir risk getirmeyecektir. Kan alma işlemi ile ilgili riskler arasında bayılma, ağrı ve/veya kan alınan bölgede morarma sayılabilir. Ender durumlarda iğne deliğinin yerinde enfeksiyon ya da küçük bir kan pıhtısı olabilir. Olası bir soruna karşı gerekli tedbirler tarafımızdan alınacaktır.

Kan alma işlemi ile ilgili riskler arasında bayılma, ağrı ve/veya morarma sayılabilir. Ender durumlarda iğne deliğinin yerinde enfeksiyon ya da küçük bir kan pıhtısı olabilir. Olası bir soruna karşı gerekli tedbirler tarafımızdan alınacaktır.

ARAŞTIRMA SÜRECİNDE BİRLİKTE KULLANILMASININ SAKINCALI OLDUĞU BİLİLEN İLAÇLAR/BESİNLER NELERDİR?

Çalışma süresince birlikte kullanımının sakıncalı olduğu ilaç ve besinler bulunmamaktadır. Çalışmamız ilaç tedavisi içermemektedir.

HANGİ KOŞULLARDA ARAŞTIRMA DIŞI BIRAKILABİLİRİM?

Yazılı onamınızı geri çekmeniz durumunda çalışma dışı kalabilirsiniz.

DİĞER TEDAVİLER NELERDİR?

Çalışmamızda ilaç tedavisi yoktur.

HERHANGİ BİR ZARARLANMA DURUMUNDA YÜKÜMLÜLÜK/SORUMLULUK KİMDEDİR VE NE YAPILACAKTIR?

Araştırmaya bağlı bir zarar söz konusu olduğunda, bu durumun tedavisi sorumlu araştırmacı tarafından yapılacaktır.

ARAŞTIRMA SÜRESİNCE ÇIKABİLECEK SORUNLAR İÇİN KİMİ ARAMALIYIM?

Araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için 0 532 731 79 53 no.lu telefondan Dr. Meltem Seziş Demirci' e başvurabilirsiniz.

ÇALIŞMA KAPSAMINDAKİ GİDERLER KARŞILANACAK MIDIR?

Yapılacak her tür tetkik, fizik muayene ve diğer araştırma masrafları size veya güvencesi altında bulunduğunuz resmi ya da özel hiçbir kurum veya kuruluşa ödetilmeyecektir.

ÇALIŞMAYI DESTEKLEYEN KURUM VAR MIDIR ?

Çalışmayı destekleyen kurum Ege Üniversitesi BAP.

ÇALIŞMAYA KATILMAM NEDENİYLE HERHANGİ BİR ÖDEME YAPILACAK MIDIR?

Bu çalışmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır.

ARAŞTIRMAYA KATILMAYI KABUL ETMEMEM VEYA ARAŞTIRMADAN AYRILMAM DURUMUNDA NE YAPMAM GEREKİR?

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; reddetme veya vazgeçme durumunda bile sonraki bakımınız garanti altına alınacaktır.

Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da araştırıcı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir.

KATILMAMA İLİŞKİN BİLGİLER KONUSUNDA GİZLİLİK SAĞLANABİLECEK MİDİR?

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

Bu bilimsel araştırma sırasında alınan kan ve doku örneklerinin tamamı kullanılmayıp bir bölümü benzeri araştırmalarda kullanılmak üzere saklanabilir. Lütfen aşağıdaki 2 cümleyi okuyarak uygun olanını işaretleyiniz:

- () Kan ve doku örneklerinin sadece bu çalışmayla ilgili olarak kullanılmasını istiyorum. Çalışma bitiminde kalan örneklerin uygun şekilde yok edilmesini istiyorum.
- () Kan ve doku örnekleri bu çalışmada kullanıldığı gibi gelecekteki hastalığımla ilgili diğer bilimsel çalışmalarda kullanılabilir. Ancak kalan örneklerimin hastalığım dışındaki başka bir araştırmada kullanılmasını uygun bulmuyorum.

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren sayfalık metni okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırıcıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

1.6.1. GÖNÜLLÜNÜN		1.6.2. İMZASI
1.6.2.1. ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

VELAYET VEYA VESAYET ALTINDA BULUNANLAR İÇİN VELİ VEYA VASININ		1.6.3. İMZASI
1.6.3.1. ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

ARAŞTIRMA EKİBİNDE YER ALAN VE YETKİN BİR ARAŞTIRMACININ		1.6.5. İMZASI
1.6.4.		
1.6.5.1. ADI & SOYADI		
1.6.5.2. TARİH		

1.6.6. GEREKTİĞİ DURUMLARDA TANIK		1.6.7. İMZASI
1.6.7.1. ADI & SOYADI		
1.6.7.2. GÖREVİ		
1.6.7.3. TARİH		

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (FORM 17)-Kontrol

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz. Sorularınıza acık vanıtlar

ÇALIŞMANIN AMACI NEDİR?

Mikroskopik ve/veya makroskopik hematüri olsun ya da olmasın proteinüriye sahip olup klinik olarak glomerülonefrit düşünülen ve böbrek biyopsisi yapılan hastalarda “Geçici Reseptör Potansiyel İyon Kanal (TRPC) Gen ailesi” üyelerinin farklı ifade profillerinin incelenmesinin hastaların tanı ve prognozuna katkıda bulunup bulunmadığının araştırılmasıdır.

KATILMA KOŞULLARI NEDİR?

Bu çalışmaya dahil edilebilmeniz için 18 yaş ve üstünde böbrek tümörü nedeniyle nefrektomi ameliyatı olacak olmanız ve yazılı onay vermiş olmanız gerekir.

NASIL BİR UYGULAMA YAPILACAKTIR?

Öncelikle yapılacak cerrahi işlem (tümör nefrektomi) ile ilgili onam formuna yazılı onay vermeniz gerekmektedir. Çalışmayı gönüllü olarak katılmayı kabul etmeniz halinde; normal muayeneniz esnasında hastalığınızla ilgili aile öyküsü, bugüne kadar aldığınız tedaviler, ameliyat öykünüz ve hastalık bulgularınız ile ilgili sorular sorulacak ve bu doğrultuda olgu rapor formu doldurulacak. Sizin ameliyat parçanız tanı için patolojiye gittiğinde burada, alınan böbrek dokusunun sağlıklı olan bölgesinden 10mg'lık kısmı (yaklaşık mercimek tanesi büyüklüğünde) çalışma için kullanılmak üzere saklanacak. Ayrıca ameliyat için kliniğe yattığınız gün 1 tüp kan (yaklaşık 3 mililitre, bir tatlı kaşığı kadar) ile de hastalığınızla ilgili gerekli olabilecek biyokimyasal testler ve genetik inceleme yapılacak. Bütün bu uygulamalar 1 defaya mahsus yapılacak ve size ve sosyal güvenlik kurumunuza fatura edilmeyecek

SORUMLULUKLARIM NEDİR?

Araştırma ile ilgili olarak herhangi bir sorumluluğunuz yoktur.

KATILIMCI SAYISI NEDİR?

Araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı toplam 150'dir.

KATILIMIM NE KADAR SÜRECEKTİR?

Bu araştırmada yer almanız için öngörülen süre 1(bir) gündür.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI YARAR NEDİR?

Bu araştırmada yer almak direkt size bir sonuç vermeyecek, yapılan moleküler inceleme ile araştırılan hastalıkların nasıl bir moleküler temele dayandığı araştırılacak. Ayrıca eğer sonuçlar arasında anlamlı sonuçlar elde edilir ise verilecek tedavi şekillerinin etkinliği üzerinde daha iyi fikir sahibi olma olasılığımız artacak ve gerekirse kişiye özel tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesinin önünü açılacaktır.

ÇALIŞMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI RİSKLER NEDİR?

Sizden bu araştırma esnasında kan alınacaktır. Kan alma işlemi rutinde yapılan kan tahlillerinizden farklı bir işlem olmayıp size ek bir risk getirmeyecektir. Kan alma işlemi ile ilgili riskler arasında bayılma, ağrı ve/veya kan alınan bölgede morarma sayılabilir. Ender durumlarda iğne deliğinin yerinde enfeksiyon ya da küçük bir kan pıhtısı olabilir. Olası bir soruna karşı gerekli tedbirler tarafımızdan alınacaktır.

Kan alma işlemi ile ilgili riskler arasında bayılma, ağrı ve/veya morarma sayılabilir. Ender durumlarda iğne deliğinin yerinde enfeksiyon ya da küçük bir kan pıhtısı olabilir. Olası bir soruna karşı gerekli tedbirler tarafımızdan alınacaktır.

ARAŞTIRMA SÜRECİNDE BİRLİKTE KULLANILMASININ SAKINCALI OLDUĞU BİLİLEN İLAÇLAR/BESİNLER NELERDİR?

Çalışma süresince birlikte kullanımının sakıncalı olduğu ilaç ve besinler bulunmamaktadır. Çalışmamız ilaç tedavisi içermemektedir.

HANGİ KOŞULLARDA ARAŞTIRMA DIŞI BIRAKILABİLİRİM?

Yazılı onamınızı geri çekmeniz durumunda çalışma dışı kalabilirsiniz.

DİĞER TEDAVİLER NELERDİR?

Çalışmamızda ilaç tedavisi yoktur.

HERHANGİ BİR ZARARLANMA DURUMUNDA YÜKÜMLÜLÜK/SORUMLULUK KİMDEDİR VE NE YAPILACAKTIR?

Araştırmaya bağlı bir zarar söz konusu olduğunda, bu durumun tedavisi sorumlu araştırmacı tarafından yapılacaktır.

ARAŞTIRMA SÜRESİNCE ÇIKABİLECEK SORUNLAR İÇİN KİMİ ARAMALIYIM?

Araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için 0 532 731 79 53 no.lu telefondan Dr. Meltem Seziş Demirci' e başvurabilirsiniz.

ÇALIŞMA KAPSAMINDAKİ GİDERLER KARŞILANACAK MIDIR?

Yapılacak her tür tetkik, fizik muayene ve diğer araştırma masrafları size veya güvencesi altında bulunduğunuz resmi ya da özel hiçbir kurum veya kuruluşa ödetilmeyecektir.

ÇALIŞMAYI DESTEKLEYEN KURUM VAR MIDIR ?

Çalışmayı destekleyen kurum Ege Üniversitesi BAP.

ÇALIŞMAYA KATILMAM NEDENİYLE HERHANGİ BİR ÖDEME YAPILACAK MIDIR?

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır.

ARAŞTIRMAYA KATILMAYI KABUL ETMEMEM VEYA ARAŞTIRMADAN AYRILMAM DURUMUNDA NE YAPMAM GEREKİR?

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; reddetme veya vazgeçme durumunda bile sonraki bakımınız garanti altına alınacaktır.

Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da araştırmacı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir.

KATILMAMA İLİŞKİN BİLGİLER KONUSUNDA GİZLİLİK SAĞLANABİLECEK MİDİR?

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

Bu bilimsel araştırma sırasında alınan kan ve doku örneklerinin tamamı kullanılmayıp bir bölümü benzeri araştırmalarda kullanılmak üzere saklanabilir. Lütfen aşağıdaki 2 cümleyi okuyarak uygun olanını işaretleyiniz:

() Kan ve doku örneklerinin sadece bu çalışmayla ilgili olarak kullanılmasını istiyorum. Çalışma bitiminde kalan örneklerin uygun şekilde yok edilmesini istiyorum.

() Kan ve doku örnekleri bu çalışmada kullanıldığı gibi gelecekteki hastalığımla ilgili diğer bilimsel çalışmalarda kullanılabilir. Ancak kalan örneklerimin hastalığım dışındaki başka bir araştırmada kullanılmasını uygun bulmuyorum.

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren sayfalık metni okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

1.6.8. GÖNÜLLÜNÜN		1.6.9. İMZASI
1.6.9.1. ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

VELAYET VEYA VESAYET ALTINDA BULUNANLAR İÇİN VELİ VEYA VASININ		1.6.10. İMZASI
1.6.10.1. ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

ARAŞTIRMA EKİBİNDE YER ALAN VE YETKİN BİR ARAŞTIRMACININ		1.6.12. İMZASI
1.6.11.		
1.6.12.1. ADI & SOYADI		
1.6.12.2. TARİH		

1.6.13. GEREKTİĞİ DURUMLARDA TANIK		1.6.14. İMZASI
1.6.14.1. ADI & SOYADI		
1.6.14.2. GÖREVİ		
1.6.14.3. TARİH		

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Böbrek Biyopsisinde, Hızlı İlerleyen/ Kresentrik, Fokal Ve Diffüz Proliferatif Glomerulonefrit Tanısı Alan Hastaların Aldıkları Tedaviye Yanıtlarının Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi		
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Meltem SEZİŞ DEMİRCİ		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UZMANLIK ALANI	Nefroloji		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Anabilim Dalı		
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	-		
	DESTEKLEYİCİ	-		
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. kaynaklardan destek alanlar için)	-		
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-		
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1 <input type="checkbox"/>	FAZ 2 <input type="checkbox"/>	FAZ 3 <input type="checkbox"/>
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Gözetimsel İlaç Çalışması	<input type="checkbox"/>	Tıbbi Cihaz klinik Araştırması	<input type="checkbox"/>
	İn Vitro Tıbbi Tanı Cihazları İle Yapılan Performans Değerlendirme Çalışmaları	<input type="checkbox"/>	İlaç Dışı Klinik Araştırma	<input type="checkbox"/>
	Diğer ise belirtiniz	Retrospektif Çalışma.		
	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>

DEĞERLEN-DİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	02.10.2017	00	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU	-	-	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>

KARAR BİLGİLERİ	Karar Nu: 18-1.1/32	Tarih: 23.01.2018
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak Kurulumuzca incelenmiş, dosya /görüntü kayıtları kullanılarak yapılan retrospektif arşiv taramaları kapsamında değerlendirilmiş ve dosya taraması yapılacak hastalarda verileri toplanacak ilacın ruhsatlı endikasyonunda kullanılmış olması koşuluyla araştırmaya başlanmasının etik açıdan uygun bulunduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.	

EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu, Tıbbi Cihaz Klinik Araştırmaları Yönetmeliği
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Ayşe EROL

Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Ayşe EROL Başkan	Tıbbi Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Mine HEKİMGİL Başkan Yardımcısı	Tıbbi Patoloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji AD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Bülent SEMERCİ Üye	Üroloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Üroloji AD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	TOPLANTIYA KATILMADI
Prof. Dr. Ayça Arzu SAYINER Üye	Mikrobiyoloji	D.E.Ü. Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Mikrobiyoloji AD. Tıbbi Viroloji BD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	

Etik Kurul Başkanının Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Ayşe EROL	İMZA	Araştırma Başvurusu Onay Belgesi	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
			22	17.10.2017/06	1/2



ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Böbrek Biyopsisinde, Hızlı İlerleyen/ Kresentrik, Fokal Ve Diffüz Proliferatif Glomerulonefrit Tanısı Alan Hastaların Aldıkları Tedaviye Yanıtlarının Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi
ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-

KARAR BİLGİLERİ		Karar Nu : 18-1.1/32				
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dali	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (* *)	Kabılm (** **)	İmza
Prof. Dr. Şebnem PIRILDAR Üye	Ruh Sağlığı Ve Hastalıkları	E.Ü. Tıp Fakültesi Ruh Sağlığı Ve Hastalıkları AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Demet ÖZDAMAR Üye	Medeni Hukuk	D.E.Ü. Hukuk Fakültesi Medeni Hukuk AD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	TOPLANTIYA KATILMADI
Prof. Dr. Murat PEHLİVAN Üye	Biyofizik	E.Ü. Tıp Fakültesi Biyofizik AD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Mine DÜNDAR ÇÖMLEKOĞLU Üye	Protetik Diş Tedavisi	E.Ü. Diş Hek. Fakültesi Protetik Diş Tedavisi AD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Nevin ORUÇ Üye	Gastroenteroloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Gastroenteroloji BD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Şafak TANER Üye	Halk Sağlığı	E.Ü. Tıp Fakültesi Halk Sağlığı AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Çağatay ÜSTÜN Üye	Tıp Tarihi ve Etik	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıp Tarihi ve Etik AD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Sema KALKAN UÇAR Üye	Çocuk Metabolizma Hastalıkları	E.Ü. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	TOPLANTIYA KATILMADI
Prof. Dr. Aynur UYSAL TORAMAN Üye	Halk Sağlığı Hemşireliği	E.Ü. Hemşirelik Fakültesi Halk Sağlığı Hemşireliği AD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	TOPLANTIYA KATILMADI
Uzm. Ecz. Ebru BEDİR Üye	Eczacı	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Fatma BÜYÜKAKKUŞ Üye	Ziraat Mühendisi	Emekli	K	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	

* Araştırma ile İlişki
** Toplantıda Bulunma

ASLI GİBİDİR
Sumru FİSCİOĞLU
EÜTE Klinik Araştırmaları
Etik Kurulu Sekreteri

Etik Kurul Başkanının Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Ayşe EROL	İMZA 	Araştırma Başvurusu Onay Belgesi	Belge Kodu 22	Rev. Tarihi / No.su: 26.09.2011/05	Sayfa 2/2
--	----------	----------------------------------	------------------	---------------------------------------	--------------

Teşekkür

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'ndaki doktora eğitimim boyunca başta Danışman hocam Doç. Dr. Buket KOSOVA, Doç. Dr. Çığır Biray AVCI, Doç. Dr. Zuhâl EROL, Doç. Dr. Yasemin TULUM ERAÇ ve Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Cumhur GÜNDÜZ olmak üzere bölümdeki tüm hocalarıma teşekkür ederim.

Doktora eğitimi süresince, bilgi ve tecrübesiyle her zaman ve her konuda destek veren, ayrıca tez çalışmam boyunca yardım eden Sayın Hocam Doç Dr. Buket KOSOVA'ya çok teşekkür ederim. Ayrıca tez süresince desteklerini esirgemeyen tüm tıbbi biyoloji çalışanlarına çok teşekkür ederim.

Tüm eğitim ve çalışma hayatım boyunca destek olan canım aileme sonsuz teşekkürler.

Özgeçmiş

1995 yılında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesinden mezun oldum. 2001 yılında İç Hastalıkları uzmanlığı, 2005 yılında Nefroloji yan dal uzmanlık eğitimini başarıyla tamamladım. 2005 yılından itibaren Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Nefroloji Bilim Dalında çalışmaktayım. 2013 yılında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında doktora eğitimine başladım. Halen Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD, Nefroloji BD'da görev yapmaktayım. 31 Aralık 2018 yılından itibaren Profesör kadrosunda çalışmaktayım.

