

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**NEFROTİK SENDROMLU ÇOCUKLARDA MDR-1 GENİ mRNA
EKSPRESYONUNUN TEDAVİYE CEVABIN
BELİRLENMESİNDE ROLÜ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Özgü HANÇERLİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Metin Kaya GÜRGÖZE**

**ELAZIĞ
2013**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan Orhan

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Erdal YILMAZ

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafınızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Metin Kaya GÜRGÖZE

Danışman (Çocuk Nefroloji Bilim Dalı Başkanı)

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

..... _____
..... _____
..... _____
..... _____
..... _____

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca klinik bilgi ve deneyimlerinden her daim faydalandığım, ileri gürüşüyle zor anlarımda beni destekleyen, hoş görüsü ve sabrıyla beni her zaman etkileyen değerli hocam Prof. Dr. Metin Kaya Gürgöze'ye teşekkür, sevgi ve saygılarımı sunmayı bir borç bilirim. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'ndaki tüm hocalarıma, birlikte çalıştığım çok sevdiğim asistan arkadaşlarıma, klinik personel ve hemşirlerine uzmanlık eğitimimdeki desteklerinden dolayı teşekkür ederim. Her zaman arkamda destek bildiğim sevgili eşim Dr. C. Özgür Hançerli'ye ve beni yetiştiren anneme teşekkür ederim.

ÖZET

Nefrotik sendrom, yoğun proteinüri, hipoalbuminemi, hiperlipidemi ve ödemin görüldüğü çocukluk çağının kronik bir hastalığıdır. Nefrotik sendrom, tedavisinde kullanılan steroid cevabına göre klinik olarak sınıflandırılmaktadır. Steroid direnci gelişmesinde birçok faktör etkilidir, bunlardan biride steroidin hücre içi atılımından sorumlu bir membran proteini olan p-glikoprotein (p-gp) dir. P-gp ilaç eliminasyonundan sorumlu MDR-1 geninin son ürünüdür. Bu nedenle steroid direncinde p-gp'nin etkisi araştırmak için birçok çalışma yapılmıştır. MDR-1 geni mRNA ölçümünün p-gp protein ölçümüne göre daha duyarlı olduğu bildirilmektedir. Bu çalışma nefrotik sendromlu çocuklarda ilaç eliminasyonundan sorumlu MDR-1 geni mRNA ekspresyonunun steroid tedavisine cevabın belirlenmesinde etkili bir faktör olup olmadığını belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Çalışmaya Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Pediatrik Nefroloji polikliniği tarafından nefrotik sendrom tanısı ile izlenen 40 hasta ve kontrol grubu olarak 22 sağlam çocuk dahil edildi. Hastaların demografik verileri, klinik durumları, laboratuvar değerleri ve kullanılmış olan tedaviye ait bilgiler kaydedildi. NS hastalarının tümünde tanı anında MDR-1 geni mRNA ekspresyon düzeyleri değerlendirildi. Steroide duyarlı olan ve steroid tedavisi devam eden hastalar da ise tedavinin dördüncü haftası sonunda ve tedavi bitiminde tekrar MDR-1 geni mRNA düzeyleri değerlendirildi.

Nefrotik sendrom ve kontrol grubu hastalarının yaş ve cinsiyet açısından aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0,05$). NS hastalarında tanı anında mRNA düzeyi $3,03\pm 4,23$ kopya/ μ gr RNA, kontrol grubunda ise $4,78\pm 2,54$ kopya/ μ gr RNA idi. Her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,05$). Steroide duyarlı NS (SSNS) ve steroide dirençli NS (SRNS) gruplar arasında tanı anında mRNA düzeyleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,05$). SRNS hastaların serum kreatinin düzeyleri SSNS hastalara göre daha yüksek, ayrıca hematüri görülme oranları da SRNS hastalarında istatistiksel olarak daha yüksek oranda görüldü ($p<0,05$). Steroide duyarlı hastalarda tanı anında mRNA düzeyi $3,65\pm 3,79$ kopya/ μ gr RNA, tedavinin dördüncü haftasında mRNA $3,15\pm 4,46$ kopya/ μ gr RNA, tedavi sonunda mRNA $2,97\pm 3,01$ kopya/ μ gr RNA olarak bulundu.

Steroid kullanan SSNS hastaların mRNA düzeyleri giderek azalmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p>0.05$).

Sonuç olarak, nefrotik sendrom tedavisinde steroid direncinin gelişmesinde ilaç eliminasyonundan sorumlu gen MDR-1 mRNA ekspresyonunun etkili olmadığı belirlendi. Nefrotik sendromda tedavi cevapsızlığının çok faktörlü olduğu ve uygun tedavi modelinin geliştirilebilmesi için hastalık patogenezini açıklayacak araştırmalara ihtiyaç olduğu görüldü.

Anahtar Kelimeler: Nefrotik sendrom, steroid, MDR-1, mRNA, p-glikoprotein

ABSTRACT

THE ROLE OF MDR-1 mRNA GENE EXPRESSION DETERMINING STEROID TREATMENT RESPONSE IN CHILDREN WITH NEPHROTIC SYNDROME

Nephrotic syndrome is a chronic disease of childhood which is characterized by protein loss with the urine that causes hypoalbuminemia, hyperlipidemia and edema. Nephrotic syndrome is classified as clinically according to the response to steroid treatment. Many factors are effective in the development of steroid resistance, one of them is a membrane protein which is named p-glycoprotein (p-gp) that is responsible for excretion of intracellular steroid. P-gp is the MDR-1 gene's final product which is responsible for drug elimination. Therefore, there have been many studies to investigate the effect of p-gp in steroid resistance. Measurement of MDR-1 gene mRNA is reported to be more sensitive than measurement of p-gp protein. The aim of this study is to evaluate whether MDR-1 gene which is responsible for drug elimination is an effective factor for determining the response to steroid therapy in children with nephrotic syndrome.

A total of 40 children diagnosed with nephrotic syndrome by the Pediatric nephrology division of Firat University Medical Faculty and 22 healthy children who have neither chronic nor renal disease were included in this study. Demographic characteristics, clinical states, laboratory values and information about treatment regimens of the patients were recorded. mRNA expression levels of MDR-1 gene in whole patients with NS were determined at the time of diagnosis. MDR-1 gene mRNA levels were measured again for patients with SSNS (Steroid Sensitive Nephrotic Syndrome) at the end of treatment and fourth week of treatment.

There wasn't any as statistically significant difference between the patients with nephrotic syndrome and control group in terms of age and gender ($p>0,05$). mRNA level of the control group was 4.78 ± 2.54 copies/ μg RNA. mRNA level at the time of diagnosis was 3.03 ± 4.23 copies/ μg RNA in patients with NS. There was no statistically significant difference between the two groups ($p>0.05$). Furthermore, there was no statistically significant difference for mRNA levels between the two groups (SSNS and SRNS) at the time of diagnosis ($p>0.05$). Serum creatinine levels

of patients with SRNS were higher than patients with SSNS, as well as the incidence of hematuria in patients with SRNS was higher as statistically ($p < 0.05$). mRNA levels were 3.65 ± 3.79 copies/ μ g RNA at the time of diagnosis, 3.15 ± 4.46 copies/ μ g RNA at the end of fourth week of treatment and 2.97 ± 3.01 mRNA copies/ μ g RNA at the end of treatment in patients with steroid responsive. Although mRNA levels decrease gradually in patients with SSNS who were used steroid, there was no as statistically significant difference ($p > 0.05$).

As a conclusion; MDR-1 gene mRNA expression which is responsible for drug elimination was determined to be ineffective for the development of steroid resistance. We show that more studies related to pathogenesis will be needed for developing appropriate treatment modality. Because the unresponsiveness of treatment is multifactorial.

Key Words: Nephrotic syndrome, steroid, MDR-1, mRNA, p-glycoprotein

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
TABLO LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
KISALTMALAR LİSTESİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. İdiyopatik Nefrotik Sendrom (İNS)	1
1.2. Nefrotik sendromun histopatolojik sınıflandırması	3
1.2.1. Minimal Lezyon Hastalığı	3
1.2.2. Fokal Segmental Glomerüloskleroz	3
1.2.3. Mezengial Proliferatif Glomerülonefrit	4
1.2.4. Membranoproliferatif Glomerülonefrit	4
1.2.5. Membranöz Glomerülonefrit	4
1.3. Epidemiyolojisi	5
1.4. Klinik Bulguları	6
1.5. Laboratuvar Bulguları	7
1.6. Patogenez	9
1.7. Nefrotik sendromda biyopsi endikasyonları	13
1.8. Nefrotik Sendromun Tedavisi	14
1.8.1. Destek Tedavisi	14
1.8.2. Spesifik Tedavi	17
1.8.2.1. Kortikosteroidler	17
1.8.2.2. Sitotoksik Tedaviler	20
1.8.2.3. Vasküler Dinamizmi Değiştiren ve Antikoagülan İlaçlar	22
1.8.3. Steroid	23
1.9. İlaç taşıyıcı enzimler ve genler	25
1.9.1. Çoklu ilaç direnci-1 geni ve ürünü P-glikoprotein	26

1.9.1.1. P-gp Yapısı	27
1.9.1.2. P-gp yeri ve görevi	28
1.9.1.3. P-glikoprotein'in substratları	28
1.9.1.4. MDR-1 geni mRNA görevi	29
1.9.2. MDR-1 geni polimorfizmi	29
1.9.3. P-glikoprotein	31
1.10. Amaç	33
2. GEREÇ VE YÖNTEM	36
2.1. Kan Örneklerinin Toplanması	38
2.1.1. Ekspresyon Çalışma Yöntemi:	38
2.1.2. Ambion RNA İzolasyon Protokolü (Kan) Katalog No: 12183018A	38
2.2. İstatistiksel Değerlendirme	40
3. BULGULAR	41
4. TARTIŞMA	46
5. KAYNAKLAR	53
6. EKLER	64
7. ÖZGEÇMİŞ	71

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Nefrotik sendromun sınıflandırması	2
Tablo 2.	Çocuklarda primer NS'nin histopatolojik sınıflandırılması	3
Tablo 3.	Normal ve nefrotik proteinüri tanımı	7
Tablo 4.	Nefrotik sendroma neden olan genetik bozukluklar	13
Tablo 5.	İlk Atak (Başlangıç) Tedavisi	18
Tablo 6.	Mendoza protokolü	20
Tablo 7.	Olguların Demografik Özellikleri	41
Tablo 8.	Steroid tedavisine yanıtına göre olguların demografik verileri	42
Tablo 9.	Steroid tedavisine yanıtına göre olguların ailede NS öyküsü, MDR-1 polimorfizmi	42
Tablo 10.	Steroid tedavisine yanıtına göre olguların tanı anında mRNA düzeyi	42
Tablo 11.	Nefrotik Sendrom hastalarının laboratuvar bulguları	44
Tablo 13.	Olguların nefrin ve podosin sonuçları	45
Tablo 14.	Steroid duyarlı hastaların tedavi ile mRNA düzeylerindeki değişim	46

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Glomerül elektron mikroskopik görünümü	13
Şekil 2. Tedavi akış şeması	19
Şekil 3. Kortikosteroidlerin hücresel etki mekanizması	25
Şekil 4. P-glikoprotein'in görevi	29
Şekil 5. Taşıyıcı protein MDR-1 ve MRP-1 yapısı	32
Şekil 6. Kontrol grubu, 27. ve 35.hastaların tedavi öncesi p-gp ekspresyon düzeyinin dağılımı	40

KISALTMALAR LİSTESİ

ABC	Adenosine triphosphate-binding cassette
ABCB1	Adenosine triphosphate-binding cassette B1
ABY	Akut böbrek yetmezliği
ACEİ	Anjiotensin konverting enzim inhibitörleri
ANA	Antinükleer antikör
ANP	Atrial natriüretik peptidin
AP 1	Aktivatör Protein 1
APSGN	Akut poststreptokoksik glomerülo nefrit
ARB	Anjiotensin reseptör blokerleri
ASH	Antijen Sunan Hücreler
ATIII	Antitrombin III
BUN	Kan üre azotu
CBG	kortikosteroid bağlayıcı proteine
CsA	Siklosporin A
CYP	Sitokrom p450
DMS	Diffüz mezengiyal skleroz
ENaC	Epitelyal sodyum kanalları
FGGS	Fokal global glomerüloskleroz
FGS	Fokal glomerüloskleroz
FK506	Takrolimus
FSGS	Fokal segmental glomerüloskleroz
GBM	Glomerül bazal membran
GFR	Glomerül filtrasyon hızı
GK	Glukokortikoid
GR	Glukokortikoid reseptörü
HDL	Yüksek dansiteli lipoprotein
HSD	Hidroksisteroid dehidrogenaz
HSP	Henoch-schonlein purpurası
HT	Hipertansiyon
Ig	İmmüoglobulin

IL	İnterlökin
IM	Intramusküler
IMPDH	inosin monofosfat dehidrogenaz
INF-γ	İnterferon gamma
İNS	İdiopatik nefrotik sendrom
ISKDC	International Study of Kidney Disease in Children
İTP	İdiyopatik trombositopenik purpura
IV	İntravenöz
KBY	Kronik böbrek yetmezliği
KDa	Kilo-dalton
KDIGO	Kidney Disease Improving Global Outcomes
LDL	Düşük dansiteli lipoprotein
LPL	Lipoprotein lipaz
MezPGN	Mezengial proliferatif glomerülonefrit
MGN	Membranöz glomerülonefrit
MDR-1	Çoklu ilaç direnç-1
MLH	Minimal lezyon hastalığı
MMF	Mycophenolate mofetil
MP	Metil prednizolon
MPA	Mycophenolic asid
MPGN	Membranoproliferatif Glomerulonefrit
NCBI	National Center for Biotechnology İnfancy
NK-kb	Nuklear Faktör kapa-beta
NS	Nefrotik sendrom
OD	Otozomal dominant
OR	Otozomal resesif
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
p-gp	p-glikoprotein
PAN	Poliarteritis nodosa
PLCϵ1	Fosfolipaz C epsilon 1
RTX	Rituksimab
SAP	Shrimp alkaline phosphatase

SD	Slit diyafram
SDBY	Son dönem böbrek yetmezliği
SLE	Sistemik Lupus Eritematozis
SNP	Single nucleotide polymorphisms
SRNS	Steroid dirençli nefrotik sendrom
SSNS	Steroid duyarlı nefrotik sendrom
TMD	Transmembran alan
WT1	Wilms tümör süpressör gen
VLDL	Çok düşük dansiteli lipoprotein

1. GİRİŞ

Nefrotik sendrom (NS), birçok nedenle oluşan proteinüri, hipoalbuminemi, ödem ve hiperkolesterolemi ile karakterize çocukluk çağının en sık görülen böbrek hastalıklarından biridir (1, 2).

Çocuklarda NS çoğunlukla primer (idiopatik) nefrotik sendrom olarak görülmektedir. Sekonder nedenler erişkinde daha sık NS'ye neden olmaktadır. Klinisyenler NS'nin steroide verdiği yanıtı göre yapılan sınıflamayı daha çok kullanmaktadır. Çocukluk çağı NS'lerinin büyük çoğunluğu steroid tedavisine iyi yanıt verir.

Steroid yanıtı hastalığın prognozunu belirlemede en önemli göstergelerden birisidir. Steroide dirençli hastalarda sıklıkla diğer immünsüpresiflere de yanıt alınamamakta ve kronik böbrek yetmezliği gelişme riski artmaktadır (3). Steroid direnci son yıllarda genellikle podosit proteinlerindeki mutasyonların glomerüler bazal membranda yapısal değişikliklere neden olması ile açıklanmaya çalışılmaktadır (4). Ancak aynı podosit mutasyonu taşıyan farklı bireylerde steroid cevabının farklı olduğu görülmektedir. Podosit mutasyonu taşıyan bir NS olgusu steroide yanıt verirken aynı mutasyonu taşıyan diğer kişiler steroid dirençli olabilmektedir. Bu nedenle steroid direncinde, ilaçların bireyler arasındaki farklı yanıtlarının da etkili olabileceği düşünülmektedir. Özellikle ilaç taşıyıcı enzimler ve ilacın eliminasyonu ile ilgili farklılıklarda, genetik polimorfizmlerin etkili olduğu bildirilmektedir. Taşıyıcı enzimlerden P-glikoprotein (p-gp) ve steroid metabolizmasından sorumlu en önemli enzimlerden olan Sitokrom P450 ilaç duyarlılığında göz önünde bulundurulması gereken faktörlerdir. Bu enzimleri kodlayan çoklu ilaç direnç-1 (MDR-1) polimorfizmi ilaç yanıtının değişmesine neden olurlar (5, 6).

1.1. İdiyopatik Nefrotik Sendrom (İNS)

Çocuk yaş grubunda görülen nefrotik sendromların % 90'ı İNS grubunda yer alır. İNS hastalarının % 85'ini minimal lezyon hastalığı (MLH), % 10'unu Fokal segmental glomerüloskleroz (FSGS), % 5'ini mezangial proliferasyon oluşturur (7). Membranoproliferatif glomerülonefrit, membranöz glomerülonefrit ve diğer kronik nefritler ise çocukluk dönemi NS nedenleri içinde % 10'luk bir grubu oluşturur. MLH'li çocukların % 60'ının 2-6 yaş arasında olduğu gösterilmiştir. FSGS ve MLH'nin en sık görüldüğü yaş grubu okul öncesi dönemdir.

Tablo 1. Nefrotik sendromun sınıflandırması (8–10)

I.Primer Nefrotik Sendrom	1. Minimal lezyon hastalığı	
	2. Fokal segmental glomerüloskleroz	
	3. Diffüz mezangial proliferasyon (Mez PGN)	
	4. Membranoproliferatif glomerülonefrit (MPGN)	Tip I: Subendotelyal depolanma Tip II: İntramembranoz yoğun depolanma Tip III: Transmembranoz depolanma
	5. Membranöz glomerülonefrit (MGN)	
II.Sekonder Nefrotik Sendrom	1.Böbrek hastalıkları	Hemolitik üremik sendrom Antiglomerüler bazal membran hastalığı Hızlı ilerleyen glomerülonefrit Diffüz mezangial skleroz
	2.Enfeksiyon hastalıkları	Bakteriyel (poststreptokoksik, enfektif endokardit, lepra, sifiliz) Viral (Hepatit B, hepatit C, sitomegalovirus, Epstein-Barr virus, HIV) Protozoal (toksoplazmozis, şistozomiyazis, filariyazis)
	3.Neoplastik hastalıklar	Lenfoma, lösemi, Wilms tümörü
	4. İlaçlar	Cıva ve altın bileşikleri, penisilamin, interferon, steroid dışı antiinflamatuvar ilaçlar, lityum, kaptopril
	5. Sistemik hastalıklar	Sistemik lupus eritematozis (SLE), Henoch-Schonlein purpurası (HSP), Poliarteritis nodoza (PAN), takayasu sendromu, diabetes mellitus, amiloidoz, sarkoidoz
	6. Kalıtsal hastalıklar	Alport sendromu, Fabry hastalığı, orak hücreli anemi
	7.Allerjik reaksiyonlar	Arı sokması, serum hastalığı, besin alerjileri

Tablo 2. Çocuklarda primer NS'nin histopatolojik sınıflandırılması (11)

1. Minimal lezyon Hastalığı (MLH)	
2. Fokal Glomerüloskleroz (FGS)	a.Fokal segmental glomerüloskleroz (FSGS) b.Fokal global glomerüloskleroz (FGGS)
3. Diffüz mezangial proliferasyon (MezPGN)	a.Saf diffüz mezengial proliferasyon b.Sklerozan glomerülo nefrit
4. Membranoproliferatif glomerülo nefrit (MPGN)	a.TipI MPGN:Subendotelyal depolanma b.TipII MPGN:intramembranöz yoğun depolanma c.TipIII MPGN:transmembranöz depolanma
5. Membranöz glomerülo nefrit (MGN)	
6. Kronik Glomerülo nefrit	

1.2. Nefrotik sendromun histopatolojik sınıflandırması

Işık mikroskopunda görülen glomerüller değişikliklere göre yapılmaktadır (12). Sınıflandırma daha sonra immüno floresan ve elektron mikroskopik incelemelerle desteklenmiştir. NS'nin histopatolojik sınıflandırması Tablo 2'de verilmiştir.

1.2.1. Minimal Lezyon Hastalığı

Minimal lezyon hastalığında glomerüllerde histolojik değişiklik olmadığı kabul edilmektedir. Bazı vakalarda fokal mezengial hücre artışı, minimal mezengial kalınlaşma ve bazal membranın kalınlaşması görülebilir. İmmüno floresan mikroskopta genellikle immüno depozit birikimi görülmez. Ancak nadir de olsa IgM ve komplemandan oluşan mezengial depolanma bulunabilir. Elektron mikroskopta podositlerde hipertrofi ile ayaksı süreçlerde genişleme gözlenir (9–11, 13).

1.2.2. Fokal Segmental Glomerüloskleroz

Fokal glomerülosklerozda (FGS) bazı glomerüllerde kapiller kollaps ve obliterasyon olan segmental alanlar, matrikste artma ve hiyalen depolanma görülür. Yaygın tutulum olduğunda fokal global glomerüloskleroz (FGGS) olarak tanımlanır. Lezyonların çoğunda podosit hiperplazisiyle sklerotik alanlar birliktedir. Etkilenen glomerüller daha çok jukstamedüller bölgede olsa da buraya sınırlı değildir. FGGS, FSGS'nin ilerlemiş şekli olabileceği gibi, NS ile ilgisiz bağımsız olarak da oluşabilir.

Genellikle FSGS tübüler atrofi ile beraber gider. Steroide yanıtı MLH'dan kötü, FGGS'den iyidir ve progresif seyirlidir (9–11, 14).

1.2.3. Mezengial Proliferatif Glomerülonefrit

Mezengioproliferatif glomerulonefritte mezengial hücrelerin sayısında belirgin derecede artış (mezengial proliferasyon), lökosit infiltrasyonu (eksudasyon), kapiller kıvrımların obliterasyonu ile birlikte artmış mezengial matriks (skleroz) ve bowman kapsülünün iç yüzeyinde fibroepiteliyal proliferasyon (kresent ve adezyon) bir arada bulunur. İmmunofloresan mikroskopide genellikle özellik yoktur, fakat postinfeksiyöz glomerülonefrit, Berger hastalığı (İmmünglobülin A nefropatisi) ve sistemik hastalığa sekonder NS bulguları bulunabilir (9–11).

1.2.4. Membranoproliferatif Glomerülonefrit

Membranoproliferatif glomerülonefrit üç histolojik alt grupta tanımlanmıştır. Tip-I MPGN'de temel lezyon subendotelial immünglobülin (Ig) G ve kompleman toplanmasıdır. Tip-II MPGN'de intramembranöz dens depolanma ile bazal membran kalınlaşması vardır. Tip-III MPGN morfolojik olarak transmembranöz depolanma ile karakterizedir. Bütün tiplerde mezengial proliferasyon, kresent oluşumu, hiperlobülasyon ve epimembranöz depolanma görülür (10–12).

1.2.5. Membranöz Glomerülonefrit

Membranöz glomerülonefritte subendotelial depozitler bazal membranda genellikle düzenli, bazen de düzensiz şekilde dağılım gösterir. Işık mikroskopisinde lamina densaya girinti yapmış bazal membran çıkıntıları şeklinde görülür. Bu görüntü de dantel tarzı görünüm olarak tarif edilir. Genelde depolanmalar hafif mezengial proliferasyonla birlikte bulunur (15).

Nefrotik sendromlu hastaların steroid tedavisine verdikleri yanıtı göre, klinik durumlarını değerlendirmede bazı tanımlamalar yapılmıştır (8, 16).

Remisyon: Üç gün arka arkaya idrarda dipstik yöntemi ile proteinin negatif veya eser olması; veya idrar proteinin $<4 \text{ mg/m}^2/\text{saat}$; veya spot idrarda protein/kreatinin oranının <0.2 olmasıdır.

Relaps: Daha önce remisyonunda olan hastanın idrarında üç gün arka arkaya $>3+$ protein çıkması; veya idrar proteinin $>40 \text{ mg/m}^2/\text{saat}$; veya $>50 \text{ mg/kg/gün}$;

veya 1 gr/m²/gün; veya idrarda protein/kreatinin oranının >2 olmasıdır.

Steroid dirençli nefrotik sendrom: International Study of Kidney Disease in Childrena (ISKDC) göre (17): Dört hafta boyunca 60 mg/m²/gün (2 mg/kg/gün) prednizolon tedavisine rağmen remisyon olmaması;

Society of French Speaking Pediatric Nephrologists'e göre (18): Dört haftalık 60 mg/m²/gün (2 mg/kg/gün) prednizolon tedavisi ve ardından üç kez intravenöz pulse metilprednisolon tedavisine rağmen remisyon olmaması durumudur.

Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO)'a göre (19): Kortikosteroidlerle minimum sekiz hafta tedaviye rağmen remisyon olmaması durumudur.

Steroid yanıtli nefrotik sendrom: 60 mg/m²/gün prednisolon tedavisinin dört hafta kullanılması ile idrar proteininin ardışık üç gün ya da bir hafta içinde bakılan üç ayrı idrar tetkikinde ≤ 4 mg/m²/saat olması; veya dipstik ile 0 veya eser olmasıdır.

Steroid bağımlı nefrotik sendrom: Steroide önceden yanıt alınan ve proteinürisi kaybolan bir hastada, steroid dozu azaltılırken proteinürinin yeniden çıkması veya remisyona girdikten sonra steroid kesilmesini takip eden 14 gün içinde relaps gözlenmesi ve bu durumun iki kez tekrarlanması durumudur.

Sık relaps: Başlangıçta remisyona girmiş hastada, ilk altı aylık izlemde en az iki relaps veya herhangi bir 12 aylık izlemde en az dört relaps gözlenmesidir.

Erken yanıtızsızlık: İlk epizot sırasında steroid direnci olması.

Geç yanıtızsızlık: Daha önce steroid tedavisine yanıtli olan hastada steroid direnci olmasıdır.

Geç cevap verme: Hastanın steroid dışında başka bir ilaç kullanmaksızın dört haftalık 60 mg/m²/gün prednizolon tedavisinden sonra remisyona girmesidir.

En sık görülen İNS nedeni olan MLH steroide %85–90 oranında cevap verirken, bu oran FSGS'de %30, MGN de ise %5 kadar düşük düzeyde görülmektedir (9, 13).

1.3. Epidemiyolojisi

İdiopatik NS insidansı coğrafi bölgeye, ırka ve yaşa göre farklılık gösterebilmektedir (16). Amerika Birleşik Devletleri veya Avrupa'da NS insidansı

16 yaş altında 1–3/100.000, prevalansı 16/100.000 olarak bildirilmiştir (16, 20, 21). Coğrafik ve etnik farklılıklar görülebilmektedir. Örnek verecek olursak; NS insidansı İngiltere’de yaşayan Asya kökenlilerde, Avrupa kökenlilere göre altı kat daha fazladır. Afrika’da NS daha nadir olarak görülmektedir. Etnik köken, histolojik tipi ve hastalığa immünsüpresif yanıtı etkilemektedir. Siyahi ırkta steroide dirençli NS daha fazla görülmektedir (16). Erkeklerde kız çocuklara göre iki kat fazla görülüp, adolesan dönemde ise eşit oranda görülmektedir (10, 16). NS en sık iki yaşında bulgu verir ancak olguların % 70–80’i altı yaşından önce başvurmaktadır (8).

İdiyopatik NS eş yumurta ikizlerinde de bildirilmiştir. Benzer şekilde hastalık kardeşlerde aynı yaşlarda, benzer biyopsi bulguları ile ve benzer klinik gidişle kendini gösterebilmektedir (10).

Nefrotik sendrom insidansı son 30 yıl içinde değişmemekle birlikte histopatolojik bulgular değişim göstermektedir. Son yıllarda steroide dirençli nefrotik sendromlu (SRNS) hastalara yapılan böbrek biyopsi oranlarındaki artışla birlikte FSGS olguları artmaktadır (8).

1.4. Klinik Bulguları

Nefrotik sendromlu hastalar ödem, iştah azalması, irritabilite, gastrointestinal rahatsızlık ve enfeksiyonlara yatkınlık gibi tipik bulguları vardır. Ödem başlangıcının glomerüler hastalığa spesifikliğı olmamasına rağmen, MLH’li çocuklarda hızlı ve progresif ödem gelişirken, MPGN gibi diğer glomerüler lezyonlarda ödemin gelişimi yavaştır. Ödem pozisyonla yer değiştirir, sabah göz kapaklarında sınırlıyken, gün boyu ayakta durmakla alt ekstremitelere kayar. Asit, labial veya skrotal şişlik ve plevra efüzyonu ileri derecedeki ödem tablosunda görülür. Jeneralize ödemin uzun süre devam etmesi halinde ödem batına sınırlanır, vücudun diğer bölgelerindeki ödem kaybolabilir (9, 12, 13).

Gastrointestinal bozukluklar arasında asit, bağırsak duvarı ödemi sonucu oluşan ishal, artmış albumin sentezine bağlı hepatomegali ve spontan peritonite bağlı akut batın tablosu bulunabilir. Aşırı asit ve plevral efüzyon solunum sıkıntısı oluşturabilir (11, 12). Hipertansiyon MLH dışındaki diğer glomerüler lezyonlardan birine sahip hastalarda sık karşılaşılan bulgulardan biridir. Hipertansiyon çok basit şikâyetten ensefalopatiye kadar uzanan klinik tabloyla karşımıza çıkabilir (9, 12, 13).

Hematüri; MLH'de beklenmese de görülebilir; ancak MLH dışındaki glomerülonefritli hastalarda daha sık görülmektedir (11–13).

Minimal lezyon hastalığı başlangıcında birçok çocukta kan basıncı normaldir, fakat orta derecede bir hipertansiyon % 15 oranında görülebilir. Yüksek ve ısrarlı hipertansiyonda MLH tanısından uzaklaşılır.

1.5. Laboratuvar Bulguları

İdrarda artmış proteinüri temel bulgusudur. Hastaların takibindeki en önemli diagnostik bulgudur. MLH'de görülen proteinüri ise selektif proteinüridir ve idrar yüksek oranda albumin içerir (22, 23). Sabah idrarında protein/kreatinin oranının >2, veya albumin/kreatinin oranının >200 mg/mmol veya idrarda 4 mg/m²/saat veya üstünde ise minimal proteinüri; 40 mg/m²/saat veya 1gr/m²/gün üstünde ise nefrotik proteinüri (masif) olarak adlandırılmaktadır. Nefrotik sendrom tanısı için bu değerlerin kantitatif olarak gösterilmesi gerekir.

İdrar çubuğu (stick) ile bakılan ve (+) ile belirtilen miktarları tanı kriteri olarak kullanılmaz. Başlangıçta ve hastanın izleminde proteinüri derecesine aynı parametre ile bakılmasına özen gösterilmelidir.

Tablo 3. Normal ve nefrotik proteinüri tanımı (12)

1. Kalitatif	Dansitesi 1015'in altında olan üç idrar örneğinin ikisinde dipstik yöntemiyle 1+ (30 mg/dl) protein varlığı. Dansitesi 1015'in üzerinde olan idrar örneklerinde 2+ (100 mg/dl) protein varlığı
2. Semikantitatif; sabah idrarında protein/kreatinin oranı (mg/mg)	0,2'in altında normal 0,2–2 hafif 2'nin üzerinde ağır proteinüri
3. Kantitatif	Normal: 12–24 saatlik idrar örneklerinde <4 mg/m ² /saat Anormal: 12–24 saatlik idrar örneklerinde 4–40 mg/m ² /saat Nefrotik sınır: 12–24 saatlik idrar örneklerinde >40 mg/m ² /saat

İdrarda protein ile birlikte idrar sedimentinde hyalen, granüler silendirler, serbest lipid damlacıkları, yağ silendirleri yüksek oranda saptanabilmektedir. Mikroskopik hematüri MLH'li vakaların %15'inde, makroskopik hematüri ise %1.6'sında saptanmaktadır (2). Nefrotik sendromlu hastalarda hipertansiyon, makroskopik hematüri veya renal fonksiyonlarda azalma varsa mutlaka serum kompleman (C3) seviyesini incelemek gerekmektedir. MLH'de serum kompleman

seviyesi normaldir, ancak MPGN'de, SLE'de, poststreptokokal nefritte ve şant nefritinde serum C3 seviyeleri düşüktür (10). Hematüri ve düşük C3 seviyeleri bulunduğunda, antinükleer antikor ve anti-DNA için serolojik testler, sistemik lupus eritematosus nefritine sekonder nefrotik sendrom açısından yapılmalıdır (23). Albumin sentezi artmıştır, fakat kaybı karşılamak için yeterli düzeyde olmadığı için normal düzeyini sürdüremez ve hipoalbuminemi görülür. Tanı için kriter olarak 2.5 gr/dl veya düşük değerleri alınmaktadır (22).

Hiperlipidemi, nefrotik sendromun önemli bulgularından birisidir. Bu durum trigliserit, total kolesterol, çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) ve düşük dansiteli lipoprotein (LDL) kolesterol seviyelerinde yükselme ile karakterizedir. Hiperlipidemi kolesterolün, trigliseritlerin ve lipoproteinlerin artmış hepatik sentezine, azalmış lipoprotein lipaz (LPL) aktivitesine bağlı lipoproteinlerin katabolizmasının azalmasına, azalmış LPL reseptör aktivitesine ve yüksek dansiteli lipoprotein (HDL)'lerin idrarla artmış kaybına bağlı görülmektedir. Total kolesterol ve LDL kolesterol artarken HDL kolesterol değişmeden kalır veya düşer. Ağır hipoalbuminemisi olan hastalarda trigliseritler ve çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL), apoproteinler (apo B, apo CII, apo CIII) artar. Ancak nefrotik hastalarda kardiyovasküler ve trombotik komplikasyonları artıran lipoprotein (a) düzeyleride artar (16).

Serum elektrolitleri genellikle normal aralıkta izlenir. Düşük sodyum düzeyi, hipovolemi ve uygunsuz antidiüretik hormon sekresyonuna bağlı suyun renal retansiyonuna bağlı olarak görülebilir. Sıklıkla hiperlipidemiye bağlı plazma sodyum konsantrasyonunda hafif düşüklük görülebilir. Serum potasyumu, oligürik hastalarda yüksek bulunabilir. Hipoproteineminin sonucunda serum kalsiyumu düşük bulunabilir. İyonize kalsiyum ise genellikle normal olsada; idrarla 25 OH D₃ kaybına bağlı düşük bulunabilir. Kan üre azotu (BUN) ve kreatin konsantrasyonları genellikle normal aralıktadır veya glomerül filtrasyon hızındaki (GFR) hafif düşüğe bağlı ılımlı artmış olabilir (16).

Nefrotik sendrom hastalarında total kan proteinleri 5.0 gr/dl'nin, albumin ise 2,5 gr/dl'nin altına düşmüştür. Alfa-2 globulinler artmış, gama globulinler azalmıştır. Nefrotik sendromlu hastaların ödemli dönemlerinde hemokonsantrasyona bağlı olarak hemoglobin ve hematokrit düzeyleri yüksek bulunabilir. Akut atakla

gelen hastaların serum kreatinin ve BUN düzeyleri geçici olarak yüksek bulunabileceği gibi nadiren birlikte gelişen akut böbrek yetmezliğine de bağlı olabilir.

Hemoglobin ve hematokrit seviyesi artmış olsada idrarla siderofilin kaybına bağlı olarak mikrositik anemi gözlenebilir. Eritropoietinin idrarla kaybı da anemiye neden olabilmektedir. Trombositoz da sık görülebilir. Trombositler 5.10^8 veya $10^9/l$ 'ye ulaşabilir (16).

1.6. Patogenez

Patogeneizde rol oynayan etkenler dört ana grupta ele alınmaktadır:

1. İmmün etkenler
2. Hemodinamik etkenler
3. Podosit zedelenmesi
4. Genetik predispozisyon

Hastaların tümünde temel anormallik masif proteinürinin ortaya çıkmasıdır.

Nefrotik sendrom patogenezinde bağışıklık sisteminin kontrolünün bozulmasının (özellikle hücreli immünite) rolü olduğu düşünülmektedir. Nefrotik sendromun viral enfeksiyonlar ve atopi atakları ile ortaya çıkması ya da tekrarlaması, HLA antijenleri ve immünolojik hastalıklarla ilişkisi (lenfoma, timoma), steroid ve siklosporin A tedavisi ile düzelmesi bu verileri desteklemektedir. Kızamık sonrası uzun süreli remisyonların görülmesi bu hipotezi desteklemektedir (9, 24). Minimal değişiklik NS'li hastaların bazılarında T hücre alt gruplarında ve/veya T hücre işlevlerinde bozukluklar tanımlanmıştır (24, 25). Humoral mekanizmayı destekleyen bulgular Ig M ve C3 içeren depozitlerin renal biyopsi örneklerinde saptanması ve immünsüpresifler ve plazmaferez gibi tedavi yaklaşımları ile proteinürinin azalmasıdır. Ayrıca bazı hastaların serumlarından "FSGS Faktör" izole edilmiş ve bu ratlara enjekte edildiğinde proteinüriye yol açtığı gözlenmiştir (26). Primer immün mekanizmada hangi sitokinlerin ve lenfokinlerin etkili olduğu relaps ve remisyonadaki rolleri konusunda pek çok çalışma olsa da esas ilişki aydınlatılamamıştır.

Hemodinamik faktörlerin glomeruler hipertansiyon ve artmış transmural basınç gradiyenti ile FSGS gelişimine katkıda buldukları düşünülmektedir (26).

Ayrıca, apolipoprotein bileşenlerinden olan glomerüler permeabilite inhibitörleri de FSGS'li hasta çocuk serumlarında gösterilmiş ve esas nedenin permeabilite faktörleri ile permeabilite inhibitörleri arasındaki dengenin bozulması olduğu vurgulanmıştır (27). Geçirgenliği etkileyen bu faktör ya da faktörlerin yapıları halen bilinmemektedir. Bazı çalışmalarda vasküler endotelial büyüme faktörü, heparanaz ve hemopeksin gibi çeşitli faktörlerin geçirgenliği arttırabileceği belirtilmiştir (24).

Böbreğin en önemli işlevlerinden birisi kanı glomerüllerden filtre ederek sıvı ve artık ürünlerin atılımını sağlarken kan proteinlerinin büyük bir bölümünü ve kan hücrelerini dolaşıma geri vermektir. Bu filtrasyon işlemi özelleşmiş fenestre endotel hücreleri, glomerül bazal membran (GBM) ve distal ayaklı çıkıntıları GBM'ye yapışık glomerüler epitelyum hücrelerinden (podositlerden) oluşan glomerüler filtrasyon bariyeri ile gerçekleştirilir. Bu bariyerden 42 Å⁰ çapından ya da 200 kilodaltondan (kDa) küçük olan moleküller geçebilirler (8). Slit diyafram (SD) glomerül filtrasyon bariyerinin biyolojik olarak aktif bir komponentidir. SD; böbrekteki en önemli seçici filtrasyon bariyeri olarak kabul edilmektedir. Podosit ve SD yapısında bulunan proteinlerde fonksiyon kaybı sonucu ortaya çıkan podosit ayaklı çıkıntılarında birleşme veya silinme esas bozukluktur (8).

Familiyal NS'li hastaların genetik incelemelerinden yola çıkılarak günümüzde yirmiden fazla gen ve pek çok lokus tanımlanmıştır. Slit diyafram ve podosit iskeleti (NPHS1, NPHS2, PLCE1, CD2AP, TRPC6 ve ACTN4) glomerüler bazal membran (LAMB2) ve mitokondrilerde (COQ2) eksprese olan genler ve podosit fonksiyon ve gelişiminde etkili olan transkripsiyonel faktörler (WT1 ve LMX1B) İNS'nin patogenezinde ve klinik seyrine etkisinde araştırılmakta ve genotip-fenotip ilişkileri değerlendirilmektedir (16).

Hereditör SRNS'de ilk tanımlanan gen nefrini kodlayan NPHS1 olup 1998 yılında bulunmuştur. Bu gendeki mutasyonlar erken ve ciddi klinikle bulgu verirler (21). Bu gen 185 kDa ağırlığında, hücre adezyon moleküllerinin immünglobulin ailesine ait olan bir transmembran protein olan nefrini kodlar. NPHS1 geni 19q13.1. kromozomda yer alır. Nefrin, podositlerdeki SD üzerinde yerleşik önemli bir sinyal proteindir. NPHS1 genindeki mutasyonlar defektif nefrin molekülüne neden olur ve bu da glomerüler filtrasyon bariyerinin yapısını ve fonksiyonunu bozar. Nefrin yokluğu plazma proteinlerinin idrara çıkmasına neden olur. İnsidansı 8200 canlı

doğumda 1'dir. En yüksek insidans 1/500 ile Pensilvanya'nın Lancaster şehrinden bildirilmiştir. Otozomal resesif (OR) kalıtılmaktadır. Renal histopatolojisinde değişik derecelerde glomerüller ve tübüler etkilenmeler görülebilir. Glomerüller lezyonlar mezengiyal hipersellülariteden diffüz mezengiyal skleroz (DMS)'a kadar değişiklik gösterebilir (8, 16, 21).

Podosit proteini podosini kodlayan NPHS2 genindeki mutasyonlar ilk kez 2000 yılında tanımlanmış olup, SRNS'li çocuklarda yaygın bir nedendir. Sporadik vakaların %28'inde, familial vakaların %40'ından fazlasında görülmektedir (16, 21). NPHS2 geni, sekiz ekzonlu olup hem matür hem de fetal böbrekte eksprese olan 42 kD büyüklüğündeki integral membran proteini podosini kodlar. Podosin, büyüklük ve elektriksel yüke selektif filtrasyonun gerçekleştiği SD içindeki podositlerin ayaksı çıkıntılarına lokalizedir (28, 29). Podosin bir adaptör protein olup, nefrinin SD ile uygun şekilde eşleşmesi için gerekmektedir (16, 21). Günümüzde, tüm sekiz ekzonun ve intronların dahil edildiği genetik çalışmalarda 80'e yakın mutasyon bildirilmiştir. Podosin geninde tanımlanmış olan mutasyonlar etnik kökene göre farklı fenotiplere neden olabilsede de proteinüri ortalama 14 yaşından önce gözlenir. Histopatolojik görünüm; ağırlıklı olarak FSGS olsa da, Ig M nefropatisi, MLH ve DMS gösterebilir. Son dönem böbrek yetmezliğine ilerleme ya da tedavi yanıtı mutasyon tipleriyle değişiklik gösterebilir (30).

Wilms tümör süpressör gen (WT1), 11p13'de lokalizedir ve nükleer WT1 proteinini kodlar. WT1 böbreklerin ve genitalyanın embriyonik gelişiminde kritik rol oynar. Matür böbrekte, WT1 podositlerdeki nükleusta eksprese olur ve SD proteinleri ve nefrinin ekspresyonunu kontrol eder (16, 21). Wilms tümöründen sonra WT-1 gen mutasyonları, Denys-Drash sendromu, Frasier sendromu ve izole NS ile beraber DMS'li olgularda da gösterilmiştir. Denys-Drash sendromu erken başlangıçlı NS, erkek psödohermafroditizmi, gonadal disgenezi ve Wilms tümör gelişimi ile karakterize olup SRNS hayatın ilk aylarında başlar ve hızla son dönem böbrek yetmezliği (SDBY)'ne ilerler. Frasier sendromu, progresif glomerülopati ve erkek psödohermafroditizmi ile karakterize bir sendromdur. Ancak, geç çocukluk döneminde proteinüri görülür ve yavaş gidişli olup SRNS tipik olarak FSGS görünümündedir (8).

Laminin $\beta 2$ gen mutasyonları'na 3p21'de yerleşmiş LAMB2 genindeki resesif mutasyonlar neden olur. Bu gen laminin $\beta 2$ zincirini kodlar, bu da özellikle GBM'da, oküler yapılarda ve nöromüsküler sinapslarda eksprese edilir. Laminin ekstra sellüler matrix proteini olup, hücre adezyonunda, diferansiasyon ve proliferasyonunda önemli rol oynar. Laminin $\beta 2$ proteini, podositin bazolateral membranını GBM'na bağlayan proteindir. Laminin $\beta 2$ zincirindeki hasar, glomerüler filtrasyon bariyerinin fonksiyonunu bozar ve GBM'dan protein kaçağına neden olur. Pierson sendromu, konjenital NS kliniğinde ve DMS histolojisinde SRNS ile tipik mikrokori ve eşlik eden diğer lens ve kornea anomalileri ile karakterize bir sendromdur (8, 16).

Fosfolipaz C epsilon 1 (PLC $\epsilon 1$) veya NPHS3 gen mutasyonları son zamanlarda bildirilmiş, erken başlangıçlı NS'nin OR bir nedenidir. PLC $\epsilon 1$, anjiotensin-2 dahil bir çok G protein reseptörünün sinyalizasyonundan sorumlu bir fosfolipaz enzimdir. PLC $\epsilon 1$, böbrek glomerülünde bulunup, podosit sitoplazmasında lokalizedir (16). Hastalığın otozomal dominant ve ressesif formları daha önce bildirilmiştir (31).

Nail-patella sendromu, otozomal dominant (OD) geçiş gösteren 9q34.1'de lokalize LMX1B geni mutasyonları ile oluşan hipoplastik tırnak, patella yokluğu ve tek form renal displazi ile karakterize bir sendromdur (8). Hafif bir proteinüriden, NS'ye ve SDBY'ye kadar değişen bir klinik gösterebilir.

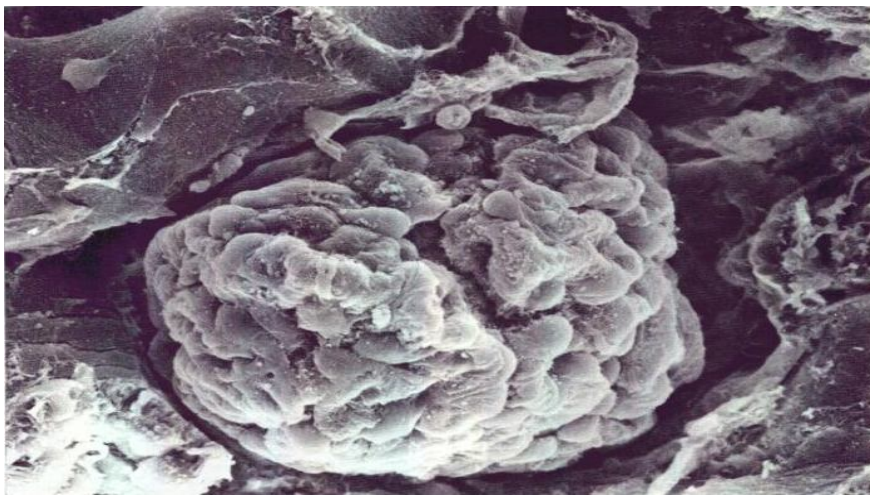
Geç başlangıçlı NS ile birlikte olan bozukluklar, erişkin dönemde bulgu veren bozukluklardır. Kalıtsal, geç başlangıçlı FSGS genellikle otozomal dominant (OD) geçiş gösteren heterojen bir gruptur. Etkilenen aile bireylerinde üç tane hastalık yapıcı lokus tanımlanmıştır: bunlar sırasıyla ACTN4, TRPC6 ve CD2AP olup; sırasıyla FSGS1, FSGS2 ve FSGS3'e neden olurlar (8).

Tablo 4'de ailesel nefrotik sendromla ilişkili genler ve kodladıkları proteinler görülmektedir (21).

Tablo 4. Nefrotik sendroma neden olan genetik bozukluklar

Protein	Gen	Sendrom	Kalıtım	Histoloji
Nefrin	<i>NPHS1</i>	Konjenital NS,	OR	Tübüllerde mikrokistik dilatasyon ve progresif mezengiyal skleroz,
		SRNS	OR	MPGN, MCD, FSGS
Podosin	<i>NPHS2</i>	Konjenital NS,	OR	FSGS
		SRNS		
PLCe1	<i>NPHS3</i>	SRNS	OR	FSGS
CD2AP	<i>CD2AP</i>	SRNS	OD/OR	FSGS
TRPC6	<i>TRPC6</i>	SRNS	OD	FSGS
WT1	<i>WT1</i>	Denys-Drash	OD	DMS
		Frasier	OD	FSGS
		İzole SRNS	OR	DMS, FSGS
LIM homeobox transkripsiyon faktör 1β	<i>LMX1B</i>	Nail-Patella sendromu	OD	FSGS
SMARCA benzeri protein	<i>SMARCA1</i>	Schimmke immünoosöz displazi	OR	FSGS
α-actinin-4	<i>ACTN4</i>	Erişkin başlangıçlı SRNS	OD	FSGS
NMMHC-A	<i>MYH9</i>	FSGS	-	FSGS
Arhgap24	<i>ARHGAP24</i>	SRNS	OD	FSGS
Non-muscle clas1 myozin 1e	<i>Myo1e</i>	SRNS	OR	FSGS
Inverted formin 2	<i>INF2</i>	SRNS	OD	FSGS
Laminin β2	<i>LAMB2</i>	Pierson sendromu	OR	DMS, FSGS
tRNA-LEU	<i>MTTL1</i>	MELAS	?	FSGS
COQ6	<i>COQ6</i>	SRNS ve SNIK	OR	FSGS
β1,4 Mannosil-transferaz	<i>ALG1</i>	Glikozilasyon konjenital defekti	OR	FSGS
GLEPP1	<i>PTPRO</i>	SRNS	OR	FSGS
Glypican-5	<i>GPC5</i>	SRNS	OR	FSGS

(OR: Otozomal resesif, OD: Otozomal dominant, *NPHS1*: Nefrin, *NPHS2*: Podosin, *ACTN4*: Alfa aktinin 4, *WT1*: Wilms tumor 1, *DMS*: diffüz mezengiyal skleroz, *MELAS*: Mitokondriyal myopati-ensefalopati-laktik asidoz-stroke benzeri epizotlar, *SNIK*: Senserinöronal işitme kaybı)

**Şekil 1.** Glomerül elektron mikroskopik görünümü

1.7. Nefrotik sendromda biyopsi endikasyonları

Çocukluk çağı NS'de, spesifik bulguların olduğu aşağıdaki durumlarda biyopsi yapılır (10, 17).

- **Steroide Cevapsızlık:** 60 mg/m²/gün prednizolon tedavisinden 4–8 hafta sonra halen idrarda protein atılımı devam ediyorsa steroide cevapsız kabul edilir.
- **C3 Düşüklüğü:** C3 düşüklüğü genellikle SLE, MPGN ve Akut poststreptokoksik glomerülo nefritde (APSGN) görüldüğünden bu hastaların renal patolojileri biyopsi ile gösterilmelidir.
- **Yaş:** 12 ay altı ve 11 yaş üstü çocukta NS bulgusu ortaya çıkmışsa biyopsi yapılmalıdır. Çünkü bu yaş sınırları dışında MLH olasılığı oldukça azalmaktadır (17).
- **Makroskopik Hematüri, ciddi hipertansiyon ve GFR Düşüklüğü:** Bazı MLH vakalarında mikroskopik hematüri ve GFR düşüklüğü gözlenebilir; ancak bu oran diğer NS yapan patolojilerle karşılaştırıldığında oldukça düşüktür. Bu nedenle kliniğinde makroskopik hematüri ve GFR azalması olan tüm hastalarda biyopsi yapılması önerilmektedir. MLH'de hipertansiyon görülebilir ancak ciddi hipertansiyon varlığı biyopsi yapılmasını gerektirmektedir (17).
- **Sistemik tutulum:** Böbrek dışı organ tutulum bulguları (döküntü, eklem ağrısı gibi) sekonder NS nedenlerini ön planda düşündürür. Bu yüzden böbrek biyopsisi ile tanı doğrulanmalıdır.

1.8. Nefrotik Sendromun Tedavisi

Nefrotik sendromda destek tedavisi ve spesifik tedavi üzere iki tedavi yaklaşımı bulunur (12).

1.8.1. Destek Tedavisi

Nefrotik sendromlu çocukların destek tedavisinde önemli olan faktörler diyet, aktivite ve diüretik tedavisidir (9, 11–13).

- **Diyet:** Şiddetli ödem olduğunda tuz kısıtlamasına gidilir. Bu kısıtlama hastanın iştahını kaçırarak düzeyde olmamalıdır. Hasta isteğine bağlı sıvı alımı serbest bırakılmalıdır. Ancak sıvı kısıtlaması şiddetli hiponatremide (Na: 125 mEq/l altında) önerilmektedir. Protein alımında artış yapmaya veya kısıtlamaya gerek yoktur (11). Yaşa göre alınması gereken protein miktarının %130–140'ı arasında olmalıdır. Karbonhidrat olarak nişasta veya dekstrin-maloz tercih edilmeli; sukrozdan ise lipidleri arttırdığı için kaçınılmalıdır. Diyetteki doymuş yağ asidi miktarında azaltılmalıdır.
- **Aktivite:** Aktivite kısıtlamasının hastalığın ilerlemesine veya prognoza etkisi olmayıp, çocukları yatağa bağımlı kılmak zor olacağından aktivite kısıtlaması gereksizdir (11–13).
- **Diüretik tedavisi:** Respiratuvar ve gastrointestinal bulgular veren masif ödem durumunda, gözlerin açılmadığı, aktivitenin kısıtlandığı, striaların olduğu, akut böbrek yetmezliği olan vakalarda ve ödeme bağlı olduğu düşünülen deri ve periton infeksiyonu varlığında diüretik tedavisi endikedir. Ayrıca diüretikler biyopsi öncesi ödemi azaltmak için verilir. Dirençli ödemli vakalarda devamlı diüretik tedavisi verilmektedir. Komplikasyonlarından dolayı albümin tedavisi seçilmiş vakalarda uygulanabilir (11, 12).
- **Hipovolemi:** Protein kaybına bağlı meydana gelen hipovolemi bazen de diüretik kullanımıyla ağırlaşabilmektedir. Tedavide plazma (20 ml/kg) veya %20 albümin (1gr/kg), kalp hızı, solunum sayısı ve kan basıncı kontrol edilerek verilmelidir.
- **Tromboemboli:** Nefrotik hastalar tromboembolik komplikasyonlar açısından risk altındadırlar. Bu nedenle mobilizasyon, hipovolemiye bağlı hemokonsantrasyondan kaçınma önemlidir. Risk altındaki hastalarda düşük doz aspirin ve dipiridamol tedavileri verilebilir. Trombüs olduğu durumlarda başlangıçta heparin verilebilir. Azalmış antitrombin III (ATIII) düzeyi nedeniyle terapötik etki için gerekli heparin dozu normal kullanımdan daha fazladır. Plazma albümin konsantrasyonu 2 g/dl altında, fibrinojen düzeyi 6 gr/l üzerinde veya ATIII düzeyi normalin %70 altında olduğu durumlarda profilaktik warfarin tedavisi verilebilir.

- **Antihipertansif ilaçlar:** Arteriyel hipertansiyon (HT) akut atak sırasında β -bloker veya kalsiyum kanal blokerleri verilerek kontrol altına alınabilir. Kalıcı hipertansiyonda ise anjiotensin konverting enzim inhibitör (ACEİ)'leri tercih edilmelidir. Antihipertansif tedavinin amacı tansiyonu <90th persentil altında tutabilmektir. Anjiotensin konverting enzim inhibitörleri FSGS'ye sekonder oluşan renovasküler HT'ye bağlı proteinüriyi büyük ölçüde düşürmektedir. Uzun dönemde kan basıncını düşürmeye bağlı olarak böbreği korur (32). SRNS'de 0.95 g/gün olacak şekilde proteinüriyi azaltır. ACEİ'lerinin anjiotensin reseptör blokerleri (ARB) ile kombinasyonu antiproteinürik etkileri arttırmaktadır (33).
- **Enfeksiyonlar ve İmmünizasyon:** Peritonit durumunda, peritoneal sıvı incelenmesi ve kültür yapılmasında sonrasında *S.pneumonia* ve gram (-) mikroorganizmalara yönelik antibiyotik başlanmalıdır. Başlangıç kortikosteroid tedavisi sırasında *Streptococcus pneumonia* proflaksisi için oral penisilin tedavisi sıklıkla tercih edilmektedir. Kortikosteroid tedavisi veya immünsüpresif tedavi alan hastalarda ciddi bir hastalık olan varisellaya maruziyet durumunda asiklovir tedavisi verilmelidir. Varisella aşılması hasta remisyonda iken yapılmalıdır.
- **Hiperlipidemi:** Deneysel hayvan modelleryle yapılan çalışmalarda hiperlipideminin glomerüler skleroza ilerlemeyi arttırdığı gösterilmiştir (16). Nefrotik sendromda oluşan hiperlipidemi sekonder olduğundan tedavi ile hiperlipidemi düzelir. Total kolesterol >200 mg/dl, LDL kolesterol >130 mg/dl ise öncelikle diyet tedavisi başlanır. Persistan hiperlipidemi ateroskleroz için bir risk faktörü olup; kronik böbrek yetmezliği (KBY) gelişiminde rol oynamaktadır. Steroide dirençli NS olgularında LDL kolesterol >160 mg/dl ısrar ederse farmakolojik tedavi başlanmalıdır. Hiperlipidemik ilaçlardan ise en çok statinler, SRNS'de total kolesterolü %45 azaltır. Ayrıca statinler tübüler protein reabsorbsiyonunu azaltır ve ek renal hasarı önlerler (34).

1.8.2. Spesifik Tedavi

Kortikosteroid tedavisi NS'li çocuklarda remisyonu sağlamak için ilk kullanılacak ilaçtır. Sitotoksik ilaçlar ise steroide yanıt vermeyen vakalarda kullanılmaktadır. Son 40 yıldır bu iki grup ilacın kullanılmasıyla NS'li çocukların klinik seyrinde büyük iyileşme sağlanmıştır (9, 11–13).

18.2.1.Kortikosteroidler

Günümüzde NS tedavisinde steroidlerin değişmez yeri bulunmaktadır. *ISKDC*'ye göre tedavi rejimi: 60 mg/m²/gün prednizolon, maksimum 80 mg/gün, bölünmüş dozlar şeklinde dört hafta; takiben 40 mg/m²/gün, maksimum 60 mg/gün bölünmüş dozlar şeklinde haftada üç gün ardışık dozlar halinde dört haftadır. *ISKDC*'ye göre yanıt alınan hastaların yaklaşık %90'ı ilk dört hafta içinde, %10'u ise altı–sekiz hafta içerisinde remisyona girmektedir (16, 19). İlk dört haftada remisyona girmeyen hastalara (1gr/1.73 m² veya 30 mg/kg) pulse metilprednizolon verilmektedir. Başlangıç steroid tedavisinin süresi relaps riskini etkilemektedir (16).

Hasarlanma bölgesinde lökosit toplanmasında azalma, membran stabilizasyonu, monosit ve lenfosit sayısında azalma, immünoglobülinlerin ve komplemanların konsantrasyonlarında azalma ve bunun gibi etkiler steroidin etki mekanizmalarıdır (10). NS'de steroidlerin hangi mekanizma ile etki gösterdikleri bilinmemektedir. Steroid tedavisine cevap altta yatan glomerüler patolojiye göre değişmektedir.

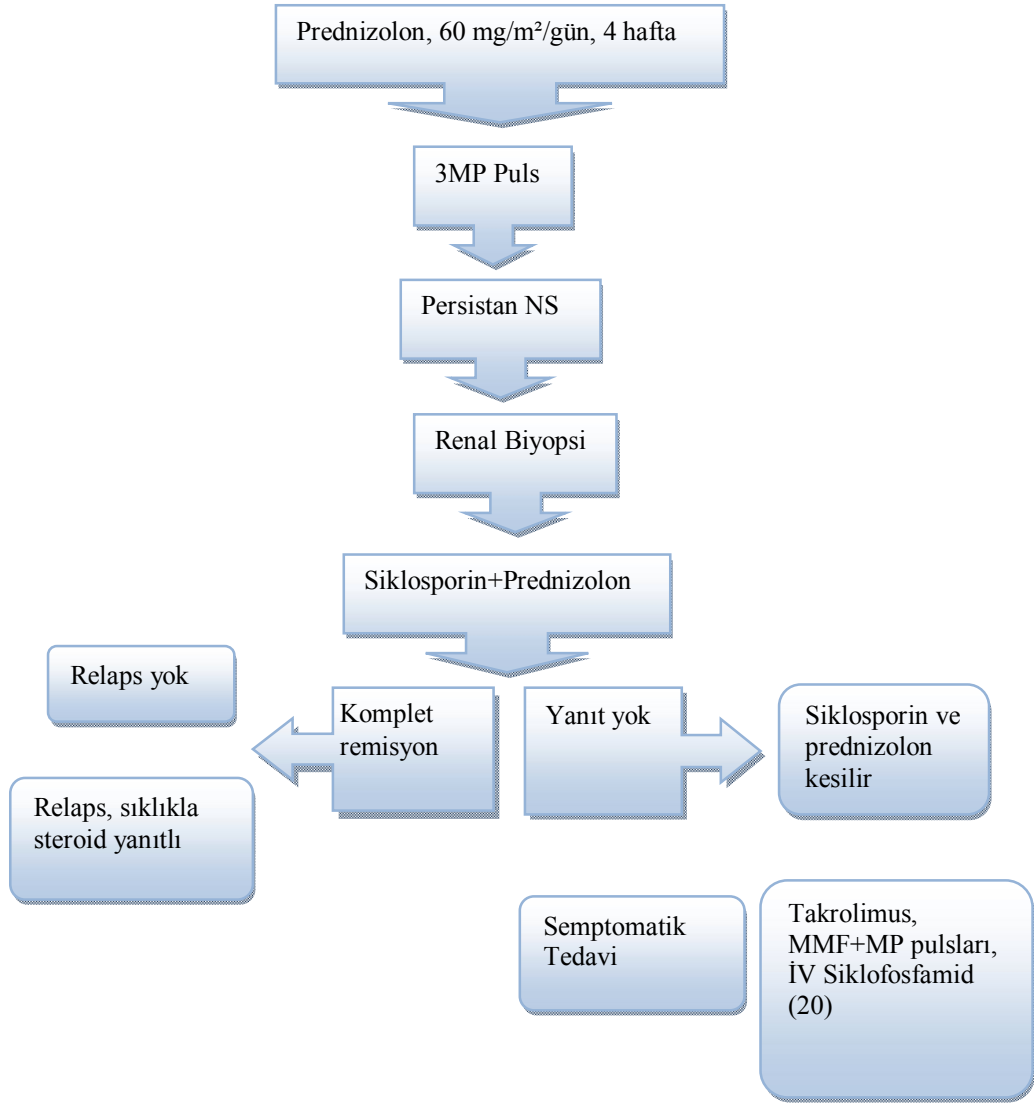
Relaps Tedavisi: NS'li çocukların %30'u tek atak geçirir ve tek kür steroidden sonra tamamen iyileşmektedir. Tedavi bitiminden sonraki 18–24 ay boyunca relaps olmaması durumunda persistan remisyona kabul edilmektedir. Bu durumda geç relaps riski düşüktür. Hastaların %10–20'si tedavi bitiminden birkaç ay sonra relaps olur ve de üç–dört kez tekrarlar. Hastaların kalan %50–60'ı ise steroid tedavisi bitiminden hemen sonra veya doz azaltılırken relaps gösterir. Bazı vakalarda ise geçici proteinüri ve spontan remisyona atakları gösterebilirler. Başlangıç yaşı beş yaş altı olan çocuklarda ve erkeklerde relaps riski yüksektir (16). Relaps olan hastaların %71'inde bir üst solunum yolu öyküsü olduğu bildirilmiştir (35).

Tablo 5. İlk Atak (Başlangıç) Tedavisi (16, 36)

I. ŞEMA		
Süre	Prednizolon dozu	Sıklığı
4 hafta	2 mg/kg/gün	(1 veya 2 dozda) (60 mg/m ² /gün) (Maksimum 60 mg)
4 hafta	2 mg/kg/gün	gün aşırı tek dozda (60 mg/m ² /gün) (Maksimum 60 mg)
2 hafta	1,5 mg/kg/gün	gün aşırı tek dozda (40 mg/m ² /gün)
2 hafta	1.0 mg/kg	gün aşırı/tek dozda
2 hafta	0.5 mg/kg	gün aşırı/tek dozda
2 hafta	0.25 mg/kg	gün aşırı/tek dozda

II.ŞEMA		
Süre	Prednizolon dozu	Sıklığı
4 hafta	2 mg/kg/gün	(2 veya 3 dozda) (60 mg/m ² /gün) (Maksimum 60 mg)
4 hafta	1,5 mg/kg	gün aşırı tek dozda (40 mg/m ² /gün)
4 hafta	1 mg/kg	gün aşırı tek dozda
4 hafta	0,5 mg/kg	gün aşırı tek dozda
8 hafta	0,25 mg/kg	gün aşırı tek dozda

Steroid rezistan INS tedavisi: Steroid tedavisinin 60 mg/m²/gün bir ay boyunca kullanılmasına rağmen yanıt vermeyen hastalarda steroid rezistansı olarak tanımlanır. Bu durumda yazarların bir kısmı tedaviye bir veya iki hafta daha devam ederken, bir kısmı da üç metilprednizolonu yüksek dozda vermektedirler (1000 mg/1.73 m²). Tedaviden bir hafta sonra proteinürinin devamı steroid direnci olarak tanımlanmaktadır. SRNS'in prognozu kötüdür ve genellikle SDBY'ye ilerler. NS patogenezinde yer alan podositlerin %20 veya daha fazla kaybı ve tübülointerstisyel skarlanmaya neden olan inflamatuvar değişiklikler SDBY'ye gidişte önemli rol tutmaktadır (37). Genetik form NS'li çocuklar immünsüpresif tedavilere rağmen sıklıkla tedavilere yanıt vermemektedir (16).



Şekil 2. Tedavi akış şeması

Mendoza ve ark. (38–40) tarafından FSGS'ye bağlı SRNS'li hastaları yüksek doz metil prednisolon (MP) ve oral alkilleyici ajanlarla tedavi edilmiştir. Takipte 23 çocuğun 12'si komplet remisyona girdiğini, altısı hafif–orta proteinürik ve dördü nefrotik düzeyde kaldığını görmüşlerdir. Tüm çocukların GFR'si normal sınırlardadır. Bir çocuk KBY'ye girmiştir. Prospektif randomize kontrollü çalışma bildirilmese de; birçok merkez bunu kriter alıp, *Mendoza protokolü* olarak kullanmıştır.

Tablo 6. Mendoza protokolü

Süre	Sıklık	Metilprednizolon dozu
2 hafta	gün aşırı	30 mg/kg İV
8 hafta	haftada bir	30 mg/kg İV
8 hafta	gün aşırı hafta	30 mg/kg İV
9 ay	ayda bir	30 mg/kg İV
6 ay	gün aşırı ay	30 mg/kg İV+ oral steroid

Pulse Metilprednizolon: Fokal segmental glomerüloskleroz gibi steroidlere cevapsız bazı vakalarda yararlı olduğu gösterilmiştir (12, 41). Pulse metilprednizolon dozu 20–30 mg/kg intravenöz (IV) 3–6 kez yada bazı protokollerde daha uzun süreli önerilmektedir (9, 12, 13).

1.8.2.2. Sitotoksik Tedaviler

Uzun süre steroid kullanımına bağlı yan etkilerin azaltılması, steroidlere cevap vermeyen vakalarda remisyonun sağlanması ve sık relaps olanlarda uzun vadeli remisyonun sağlanması amacıyla NS'de sitotoksik ilaçlar kullanımı gündeme gelmiştir (12). Tedaviye başlamadan önce bu ilaçların yan etkileri hakkında hastalara bilgi verilmeli ve onay alınmalıdır.

Siklofosfamid: Siklofosfamid hem immünoşüpresif hem de sitotoksik etkilerini DNA üzerinden hücrenin mitotik aktivitesini engelleyerek gösteren alkilleyici bir ajandır. Hem hümmoral hem de hücrel immüniteyi etkilese de daha çok B hücreleri üzerine etkilidir. Atılımı böbrek yoluyla olduğundan böbrek yetmezliği durumlarında ilacın atılımı gecikir ve toksik etkileri artar (12). 2–3 mg/kg/gün oral doz başlanıp 8–12 hafta süre ile verilir. Birikmiş doz 168 mg/kg'ı geçmemelidir. Son yıllarda özellikle yan etkilerinin daha az görülmesi ve oral tedavi ile aynı derecede etkinliğe sahip olması nedeni ile ayda bir verilen 500 mg/m²/doz IV pulse tedavi oral tedavinin yerini almaya başlamıştır. İlk altı ayda cevap yoksa tedavinin kesilmesi, cevap varsa iki ayda veya üç ayda bir aynı doz ile 12–24 ay kadar daha tedavinin devam ettirilmesi önerilmektedir (22, 42). Hemorajik sistit siklofosfamid kullanımında sık görülen bir komplikasyondur. Siklofosfamidin gonadal toksisitesi de çok önemlidir (43). Gonadal toksisitenin IV pulse kullanım ile daha azaldığı bildirilmektedir (42).

Klorambusil: Etkisi siklofosfamide benzeyen alkilleyici bir ajandır. Ağızdan emilim hızlıdır ve karaciğerde hızla metabolize edilir. İdrarla atılımı gözardı edilecek kadar çok azdır (30). Tedavide 0,1–0,2 mg/kg/gün birikmiş dozu 7–10 mg/kg'ı geçmeyecek şekilde 8–10 hafta süre ile verilir (44, 45).

Alkilleyici ajanların yan etkileri hızlı bölünen hücreler üzerinde çok belirgindir. Sıklıkla lökopeniye neden olduklarından beyaz küre hücre sayımı haftalık yapılmalıdır. Beyaz küre hücre sayımı 4000/mm³'ün altına düşerse tedavi kesilmelidir. Genellikle bu süpresyon geri dönüşümlüdür. Bulantı, kusma, alopesi ilacın diğer yan etkilerindendir. Bu ilaçlarla lösemi gelişimi de bildirilmiştir (9, 43).

Azotiopirin: Dokularda altımerkaptopürine transforme olarak etki gösterir. IV ve oral kullanılabilir. Oral alımda emilimi oldukça iyidir. Azotiopirin karaciğerde metabolize edilip böbrekler yoluyla atılır. Kemik iliği süpresyonu sonucu lökopeni gelişimi en sık yan etkisidir. İnfeksiyonlara duyarlılıkta artma, hepatit ve makrositoz diğer yan etkilerdir (12).

Levamisol: T–hücre stimülasyonu yapan immünomodülatör etkili antihelmintik bir ilaçtır. Bazı steroidde duyarlı ve bağımlı vakalarda remisyon sağladığı bilinmektedir. Önerilen doz 2 mg/kg gūnaşırı olup, 1–18 ay süre ile verilmektedir (12).

Siklosporin A (CsA): T–hücrelerini aktive eden çeşitli sitokin genlerini down regülasyona uğratarak immün yanıtı baskılama özelliğine sahip bir kalsinörin inhibitörüdür. Önerilen tedavi dozu 4–20 mg/kg/gün altı ay süre ile ardından uzun süre 2 mg/kg/gün'dür. Nefrotoksisite, hepatotoksisite, gingival hiperplazi, tremor ve nadiren konvülsyon gibi nörolojik bulgular, infeksiyon insidansında artış, hiperürisemi ve gut yan etkilerindendir. Siklosporinin renal podositlerdeki aktin iskeletini stabilize ederek antiproteinürik olduğu da bildirilmiştir (46, 47). Yapılan çalışmalarda başlangıç tedavide siklosporinin, siklofosfamide göre daha etkin olduğu bildirilmiştir (48). Siklosporin A (CsA), steroid rezistan FSGS'lerin %20'sinde tam remisyon sağlar. Tedavi başlandıktan 12 saat sonra CsA düzeyi (poliklonal antikor ile) 500 ng/ml'yi geçmemelidir. Bu izlem haftalık olarak yapılmalıdır. Serum kreatin haftalık ölçülmeli ve iki ölçümde bazal değerin üzerine çıkarsa doz %25 azaltılmalıdır. İki defa doz azaltılmasına rağmen kreatinde düşme gözlenmezse protokol bırakılmalıdır (3). Siklosporinin düşük doz prednizon ile (10–15 mg/gün)

birlikte kullanımı daha etkilidir. Böbrek fonksiyonlarında hızlı bozulma, 4 ay süresince verilen siklosporine yanıtızsızlık veya 6 aylık renal biyopsilerde siklosporin toksisitesine ait bulgu olması durumunda siklosporin tedavisi sonlandırılmalıdır (3).

Takrolimus (FK506): Interlökin 2 ve İnterferon gamma (IFN- γ) transkripsiyonunu baskılayan, CD4 T helper hücrelere seçici inhibitör etkiye sahip bir kalsinörin inhibitörüdür. Sitokinler üzerinde siklosporinden daha fazla süpresör etkisi vardır. İlk kez organ nakli hastalarında immünsüpresyonu sağlamak için kullanılmıştır. Son zamanlarda diğer tedavilere cevapsız nefrotik sendromlarda alternatif tedavi olarak kullanılmaya başlanmıştır. Plazma takrolimus seviyesini 50–100 $\mu\text{g/L}$ de tutacak şekilde 0,1 mg/kg/gün iki eşit dozda verilmesi önerilmektedir. Yan etkileri nefrotoksisite, tremor, başağrısı, trombotik mikroanjiopati, hepatotoksisite, hiperlipidemi, hipomagnesemi ve hiperkalemi, saç dökülmesi sayılabilir. Yan etkileri siklosporinle benzese de nefrotoksisitenin daha az şiddette olduğu kabul edilmektedir (49).

Mikofenolat Mofetil (MMF): Mikofenolat mofetil özellikle organ naklinde kullanılan immünsüpresif bir ilaçtır. Özellikle lupus nefritinin tedavisinde etkili olduğu ortaya konmuştur. Ancak çoklu ilaç direnci olan nefrotik sendromların tedavisinde de kullanılmaya başlanmıştır. Çocuklarda 15–30 mg/kg bölünmüş dozların yeterli olacağı ileri sürülmektedir (50).

Ritüksimab (RTX): CD20 aracılı B hücre proliferasyon ve diferansiasyonunu inhibe eden monoklonal antikordur. Akut anaflaksi, hipogammaglobinemi, infeksiyon, virüslerin reaktivasyonu, progresif multifokal lökoensefalopati yan etkileri görülebilir. 375 mg/m²/hafta dozunda kullanılır. Yapılan çalışmalarda hem SRNS'li, hem de steroid bağımlı NS'li hastalarda etkin ve de güvenilir bir biçimde uzun süreli remisyona yol açtığı gösterilmiştir (51). Yine de ritüksimab için ileri çalışmalara ihtiyaç olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (52).

1.8.2.3.Vasküler Dinamizmi Değiştiren ve Antikoagulan İlaçlar

Anjiotensin Konverting Enzim İnhibitörleri (ACE): Antihipertansif etkiye sahip ACE'nin kullanılmasıyla hayvan modellerinde proteinürinin azaldığı gösterilmiştir. Proteinüriyi azaltma etkisi başlangıçta %10–20 iken tedaviye devam

edilirse %50'ye kadar çıkmaktadır. Etki mekanizması tam bilinmemekle birlikte hemodinamik değişiklikler üzerinden etkili olduğu sanılmaktadır (53, 54).

Nonsteroid Antienflamatuvar İlaçlar: Bu grup ilaçların proteinürüriyi azalttığı ilk defa 1955 yılında gözlenmiştir. Özellikle indometazinin proteinürüriyi azalttığına dair yayınlar olmasına rağmen sonuçlar pek ümit verici değildir (55).

Antikoagülan ve Antitrombotik İlaçlar: Son 20 yıldır glomerüler hastalıkların ilerlemesinde koagülasyon sisteminin ya da trombositlerin etkilerinin olup olmadığı tartışma konusudur. Ancak hayvan ve insan modellerinde antikoagülan tedavinin yeri halen açıklanamamıştır. Donadio ve arkadaşları aspirin ve dipiridamolle MPGN'de iyi sonuçlar bildirmişlerdir. Kincaid-Smith ve ark. siklofosfamid, kumadin ve dipiridamol ile MPGN'de böbrek sağ kalımında belirgin düzelme göstermişlerdir (12).

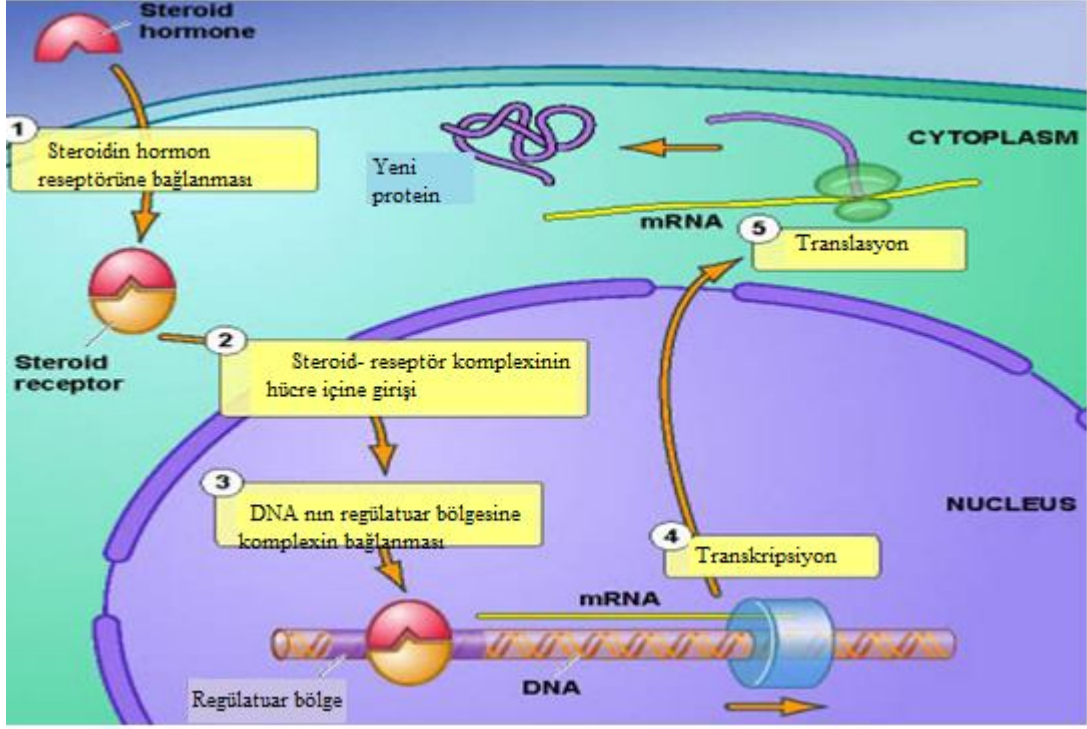
1.8.3. Steroid

Glukokortikoid (GK) hormon veya ilaçların oral preparatları hızlıca fakat kısmen, intramusküler (İM) ve İV verilenler yavaş fakat tam olarak emilirler. Emilim diyet, gastrik asidite, incebarsak geçiş süresi ve diğer bireysel faktörlere bağlı olarak önemli ölçüde değişebilmektedir. Kortizol serumda (%75) kortikosteroid bağlayıcı proteine (CBG–transcortin) ve daha az ölçüde (%15) albumine bağlanır. Bazal şartlarda % 10'u serbest ve biyolojik olarak aktiftir. Prednizolon dışındaki sentetik steroidler CBG'e önemli ölçüde bağlanmazlar, albumine bağlanırlar. CBG östrojen fazlalığında (gebelik, östrojen kullanımı), hipertiroidi ve diyabette artar; hipotiroidi ve protein eksikliği durumlarında (karaciğer hastalığı, nefrotik sendrom) azalır. Kortizon ve prednizon hepatik 11-β HSD (hidroksisteroid dehidrogenaz) tarafından aktif form olan kortizol ve prednizolona dönüşür. Karaciğerde Δ4 redüktaz ile irreversibl inaktivasyon, 3 HSD ile tetrahidrokortizole dönüşüm, ayrıca kortoik asid, kortolonlara dönüşüm ve 6-β hidroksikortizole dönüşüm (suda eriyen ve idrarla değişmeden atılabilen metabolit) gibi metabolik olaylar gerçekleşir. Kortizol ve metabolitlerinin %95'den fazlası karaciğerde konjuge olarak yeniden dolaşıma girer ve idrarla atılırlar (glukuronik asid yoluyla). Renal dönüşüm de 11-β HSD yoluyla inaktivasyon önemli bir yoldur. Ancak buna dirençli metabolitler mineralokortikoid reseptörlere (Tip II Glukokortikoid Reseptörler) bağlanabilirler. Kronik karaciğer

hastalıkları, hipotiroidi, açlık, anoreksi, gebelik, östrojen kullanımı metabolizma ve klirensi azaltır. Hipertiroidi, hepatik mikrozomal enzim indüksiyonu ise metabolizma ve klirensi hızlandırır.

Glukokortikoidler etkilerini tüm dokularda bulunan glukokortikoid reseptörler yoluyla gösterirler. Bu reseptörlere bağlanarak DNA, RNA ve protein sentezini inhibe eder, protein katabolizmasını hızlandırırlar. Karaciğer de ise aksine RNA ve protein sentezini artırırılar. Serbest formdaki kortikosteroid hormonlar ve ilaçlar hedef hücrelerde hücre membranını aşır sitoplazmik kortikosteroid reseptörlere bağlanırlar. Kortikosteroid–reseptör kompleksi konformasyonel değişikliğe uğrar ve sitoplazmadan ayrılarak nükleusa doğru hareket eder. Nükleusta kromatinin spesifik bölgesine reversibl olarak bağlanır. Bu olay, çeşitli enzim veya proteinleri kodlayan mRNA üretimiyle sonuçlanır ve hormonal etkiler ortaya çıkar. Glikokortikoidler hedef hücrelerde fonksiyonel önemi olan enzimleri ve proteinleri kodlayan genlerin transkripsiyonunu genellikle arttırırlar. Ancak glikokortikoidler az sayıdaki protein türlerini kodlayan genleri de inhibe edebilirler (POMC, ACTH, PRL gibi). Bu kural dışı inhibitör etkinin lipokortin gibi inhibitör proteinlerin sentezinin arttırılması ile oluşabileceği ileri sürölmüőtür. Glikokortikoidlerin etkisi ile ilişkili düzenleyici faktör adayları olarak Fos ve Jun grubuna ait transkripsiyonel düzenleyici proteinler gösterilmiştir. Bu grubun üyesi olan Aktivatör Protein 1 (AP 1) immün ve inflamatuvar reaksiyonlara aracılık eden bir dizi sitokin ve inflamatuvar artritlerde eklem harabiyeti yapan kollejenaz ve stromelisin enzimlerinin genlerinin transkripsiyonunu indükler (56–60).

Glukokortikoidler hepatik glukoneogenezi uyarırlar, periferik dokulardan (özellikle kaslar) glukoneogenez için substrat (laktat) salınımını arttırırlar, periferik aminoasit alımı ve protein sentezini azaltırlar, lipoliz yoluyla gliserol ve serbest yağ asidi salınımını arttırırlar, hepatik glikojen sentezi ve depolanmasını arttırırlar. Renal fonksiyonlar üzerine artmış kardiak output nedeniyle glomerüler filtrasyonu arttırarak, mineralokortikoid etkisi olmayan betametazon ve deksametazon su ve tuz atılımını arttırarak etki gösterirler.



Şekil 3. Kortikosteroidlerin hüresel etki mekanizması

Glikokortikoidler kısa süreli tedavide gastrit, büyümenin durması, iştah artışı, hiperkalsüri, glukozüri, infeksiyon bulgularının maskelenmesi, immün supresyon, toksik psikoz; uzun tedavide gastrik ülser, kısa boy, obesite, osteoporoz, kırıklar, iskemik kemik nekrozu, yara iyileşmesinde gecikme, deri bulguları, hipofizer-adrenal supresyon, katarakt, toksik psikoz komplikasyonları oluşur.

Glukokortikoidlerin ani kesilmesi durumunda kan basıncında ani düşmeler, halsizlik, iştahsızlık, bulantı, kusma, letarji, başağrısı, ateş gibi surrenal yetmezliği bulguları oluşur.

1.9. İlaç taşıyıcı enzimler ve genler

Son yıllarda ilaçların alım ve dağılım süreçlerine bakışta önemli değişiklikler olmuştur. Yakın zamana kadar gastrointestinal sistemden vücuda alım ilacın kristal boyutuna, çözünürlüğüne, ilacın pK'sına ve barsak sıvısının pH'sına bağlı pasif bir süreç olarak görülüyordu. Bir ilaç emildikten sonra, kandan dokulara transferinin; ilacın fizikokimyasal özellikleri ve protein bağlarıyla ilgili olduğu düşünülüyordu (61). Günümüzde değişik dokuların plazma zarında yer alan taşıyıcı proteinlerin, ilaçların farmakokinetiğinde ana belirleyici olduğu düşünülmektedir. Barsaklarda, hepatik ve böbrek epitel hücrelerindeki yerleşiminden dolayı, bu taşıyıcı proteinler

ilaçların emilmesi, biyoyararlanım ve eliminasyonu açısından önemlidir. Bunların dışında kan-beyin ve kan-plasenta bariyerleri ilaçların organlara transferinde önemlidir. Sadece endojen bileşenleri ve ilaçları da içeren ekzojen substratları taşıyan MDR, MRP, OATP, OCT, OAT ve nükleosit taşıyıcı proteinleri arasından Çoklu ilaç direnç-1 (MDR-1) geninin permeabilite (p)-glikoproteini (P-gp) en çok dikkati çeker. Bunun nedeni pek çok tedavide ilaçların P-glikoprotein substratlarının olması ve bazı hücrelerde P-glikoproteini etkileyen mutasyonların görünmesidir (61).

1.9.1. Çoklu ilaç direnci-1 geni ve ürünü P-glikoprotein

Çoklu ilaç direnci-1 geni ürünü olan P-gp, hücrelerden ksenobiyotiklerin (organizmanın doğal bileşenlerinden olmayan maddelerin) ATP'ye bağımlı dışarı atılmasını sağlayan bir zar proteinidir. Tümör hücrelerin çeşitli kanser karşıtı elementlere karşı çoklu ilaç direnci gelişimindeki rolünden dolayı önemi anlaşılmıştır. Bu proteinin sadece tümör hücrelerinde değil, aynı zamanda normal dokularda da (barsak, karaciğer, böbrek) bulunabildiği görülmüştür. P-glikoprotein çok geniş bir substrat özgüllüğüne sahip olduğundan, çok çeşitli ilaçların atılmasında görev yapmaktadır (62, 63). Üstelik bu efluks taşıyıcının ekspresyonu, gastrointestinal sistem ve beyin kılcal damar endotel hücreler gibi bazı doku bölümlerinde oral absorpsiyon yoluyla da merkezi sinir sistemine birçok ilaçların girişini sınırlamaktadır (64). 2000'de Hoffmeyer MDR-1 polimorfizmleri ile ilgili sistemik bir çalışma yapmış ve 12 tek nükleotit polimorfizmi tespit etmiştir (SNP, Single Nucleotide Polymorphisms) (65). Çok sayıda çalışma MDR-1 genindeki SNP'lerin bulunması, bunların ciddi ilaç düzeylerinde değişmelere neden olduğunu ve ilaca hassasiyet oluşturduğu bulunmuştur. Yine de, MDR-1 genindeki SNP'lerin etkilerinin değişken ve bazı durumlarda ise çelişkili olduğu belirtilmiştir (64). MDR hücredeki ilaç birikimini engeller. P-glikoproteinler çeşitli çoklu ilaç direncinde rol alan proteinlerdir. P-glikoprotein MDR'de önemli olarak açıklanan ilk proteindir. Bu hücre zarına yerleşiktir ve enerji bağımlı glikoproteindir. ATP'ye bağlanan kaset ailesinin bir üyesidir. P-glikoprotein ilaçları değişmez bir forma dönüştürür. İlacın hücre içi konsantrasyonunu ilacın etkisiz dozuna indirir ve böylece hidrofobik anti-kanser ilaçlarına ve aynı zamanda birçok hidrofobik ajanlara direnç sağlar (66).

1.9.1.1. P-gp Yapısı

1976 yılında kolkişine dirençli Çin hamsterinin yumurta hücrelerinden glikosilleştirilmiş membran proteini, izole edilmiştir. Bu glikoprotein değişmiş ilaç alışkanlığını gösteren bölgeler içinde eşsiz görüldüğünden P-glikoproteini ismi verilmiştir. Lösemi dirençli fare P338 bölgesinde, önemli ölçüde düşük danarubisin ve adrimisin alımı ve saklanması görülmüştür. Yaklaşık 10 yıl sonra insan MDR-1 geni, çoklu ilaç direncine sahip karsinoma hücrelerinden izole edilmiş ve insan P-glikoproteinini kodladığı gösterilmiştir. İlerleyen yıllarda çeşitli p-glikoprotein izoformları bulunmuş ve yakın ilişkili gen ailesi tarafından sınıflanmıştır.

Üç alt sınıfta incelenir;

- Sınıf 1: insan MDR-1'i, fare MDR-1a'sı (veya MDR-3), hamster p-gp 1'i ve sıçan P-gp 1'i
- Sınıf 2 : fare MDR-1b'den, hamster ve sıçan p-gp 2 (veya MDR-1b)'den oluşan
- Sınıf 3: insan MDR-3'ü (veya MDR-2), fare MDR-2'si, hamster ve sıçan p-gp 3 (65).

P-glikoprotein 7. kromozom üzerinde bulunur ve yirmidokuz eksondan oluşur. Fosforilleştirilmiş ve glikosilleştirilmiş 1280 aminoasitten oluşan bir proteindir. Altı hidrofobik transmembran segmenti ve bir intraselüler ATP bağlanma alanı içerir. Bunlar esnek bağlayıcı bir polipeptit tarafından ayrılır (66). İnsan P-glikoproteini yaklaşık olarak çapı 10 nm ve uzunluğu maksimum 8 nm olan bir silindirdir. Molekülün yarısı membranın içindedir. P-glikoproteini hücre içindeki substratları hidrofobik (su geçirmeyen) etkiyle hücre dışına atan bir pompa gibi işlem görür. P-glikoproteini ortak yapısal ve işlevsel özellikleri taşıyan ATP bağlama zinciri üst ailesine aittir (65).

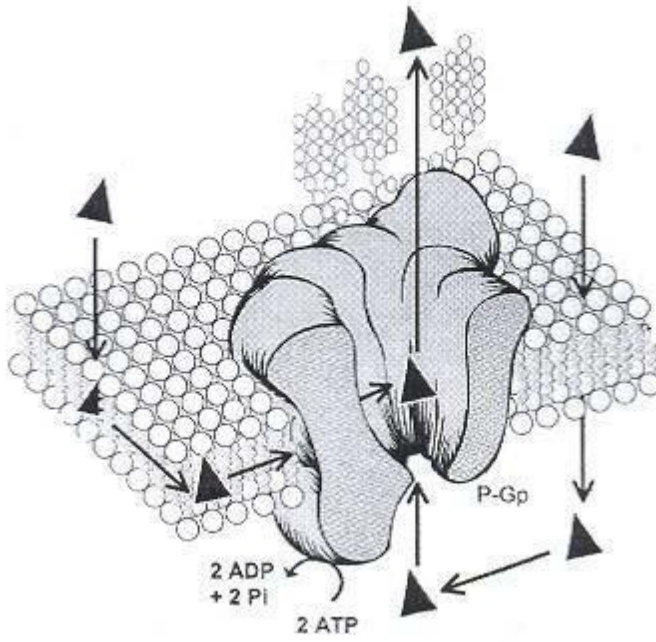
Günümüze kadar, kırkdan fazla ABC (Adenosine triphosphate binding cassette) taşıyıcı geni kimliklendirilmiş ve sınıflandırılmıştır. Genelde tüm ABC tarayıcıları iki transmembran alandan (TMD) oluşmaktadır. Her TMD altı zarlı heliks kemer içerir. ABC tarayıcıları ABCA'dan ABCG'ye kadar yedi alt ailede sınıflandırılmıştır. Bu sisteminde, P-glikoproteini Adenosine triphosphate-binding cassette B1 (ABCB1) olarak tanımlanır. Son zamanlarda MDR-1 terimi, P-glikoproteini yerine kullanılmaya başlanmıştır (65).

1.9.1.2. P-gp yeri ve görevi

P–glikoprotein sadece tümör hücrelerinde değil aynı zamanda normal dokularda da bulunmaktadır. Normal dokularda görevi hücreyi toksik maddelerden korumaktır. İnsanlarda P–glikoprotein, yüksek düzeyde böbrek üstü bezlerinde, orta düzeyde göğüste, akciğerlerde (solunum epiteli), mide, kalın barsak, ince barsak, rektum, karaciğer, pankreas, böbrek, prostat, idrar kesesi ve plasentada, düşük düzeyde ise beyinde, özafagus, yumurtalık, testis, dalak, timus, ilik, kalp, yumuşak kaslar ve deride bulunur. Beyinde, testislerde ve plasentada bulunan kılcal endotelial hücrelerin varlığı beyinden ve fetustan toksik maddelerin alınmasını engelleyen bir bariyer olarak düşünülmektedir (66). P–glikoprotein aynı zamanda hemotopoetik kök hücrelerde, periferik kan hücrelerinde, antijen üreten hücrelerde, T ve B lenfositlerde de bulunmaktadır. P–glikoprotein hem hücre içi hem hücre dışı bölgelerden ilaçları atabilen etkili bir pompa görevi görmektedir. ATP hidrolizi ile aşırı konsantrasyon değişimlerine karşı transport fonksiyonu sağlayarak aktif ilaç transportu için enerji sağlar (64).

1.9.1.3. P–glikoprotein’in substratları

P–glikoprotein yapısal olarak olan çok farklı bileşenleri taşır. P-gp tarafından taşınan substratlar çok geniştir ve kanser kemotrapisi, hipertansiyon, alerjide, enfeksiyonda, bağışıklık sisteminin bastırılması, nöroloji ve iltihaplanma için kullanılan çeşitli farmakolojik ajanları içerir. Bu maddeler genellikle hidrofobik ve amfipatiktir. Aynı zamanda p-gp’in birçok ilaç substratı özellikle sitokrom P450 3A4 gibi ilaç metabolizma enzimlerinin de substratıdır. Her iki gende birbirine çok yakın olan 7q22.1 ve 7q21.1 kromozomunda yer alır (64).



Şekil 4. P–glikoprotein’in görevi (64).

1.9.1.4. MDR-1 geni mRNA görevi

Çoklu ilaç direnç geni hücrede aktive olduğunda çekirdekte önce mRNA oluşturmaktadır. Oluşan mRNA sitoplazmaya geçtiğinde (tRNA olarak isimlendirilir) ribozomda protein sentezine katılır. Üretilcek olan MDR–1 gen ürünü p-gp dir. Bu nedenle birçok çalışmada p-gp ölçümü yapılsada, MDR–1 geni mRNA düzeyinin ölçümü daha sensitif bulunmaktadır (67). Dolayısıyla çalışmalarda MDR–1 geni mRNA ekspresyonu p-gp ekspresyonunu değerlendirmek için bakılabilir.

1.9.2. MDR–1 geni polimorfizmi

Çoklu ilaç direnç-1 geni 7p21’de lokalize olup 28 ekzon içermektedir (68). MDR–1 geninde yapısal varyasyonların bulunduğu ilk olarak çok sayıda örnek üzerin de yapılan Rnase koruma (RNase protection) ve dizi analizleri sonucunda ortaya konmuştur. Bu çalışmalar sonucunda G2677T ve G2995A polimorfizmleri tanımlanmıştır (69). MDR–1 geninde ilave tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) varlığını göstermeye yönelik ilk sistematik çalışma Hoffmeyer ve ark. tarafından yapılmıştır. Söz konusu çalışmada 28 ekzonun tamamı, korpromotor bölge ve ekzon–intron sınırları dizi analizi ile incelenmiş ve üçü amino asit değişimine neden olan toplam 15 SNP tanımlanmıştır (70). Günümüzde MDR–1 geninin kodlayıcı bölgesi için NCBI (National Center for Biotechnology Information) veritabanında kayıtlı

SNP'lerinin sayısı 60'dan fazladır. Bu polimorfizmlerden en yaygın olarak gözlenenleri Tablo 2'de özetlenmiştir. Literatürde MDR-1 geni SNP'leri arasında en yaygın olarak bildirilen ve üzerinde en çok araştırma yapılan polimorfizmler C3435T, G2677T/A ve C1236T'dir. Sözkonusu polimorfizmlerin p-gp aktivitesini ve ifade seviyesini etkileyerek fonksiyonu üzerinde önemli rol oynadığı yönün de ki kanıtlar her geçen gün artmaktadır (71).

İnsan MDR-1 genindeki polimorfizmler: Çoklu ilaç direnci-1 genindeki genetik değişkenlik etkili tedaviyi de değiştirebilmektedir. P-gp'nin fonksiyonunun tamamen olmadığı bir durum yoktur ancak fonksiyon görmemesine benzer genetik etkilerin varlığı kabul edilmektedir. Sonuçta P-gp fonksiyonunun olmayışıyla birlikte ilave fenotipler ortaya çıkarılmıştır. Örneğin MDR-1a deney fareleri arasında insanlarda görülen iltihaplı barsak hastalıklarına benzer collitis ortaya çıkmıştır. İltihabın normalde barsak duvarında bulunan MDR-1a p-gp işlevi olan barsak bakterisinden gelen toksinlerden meydana geldiği düşünülmüştür (64).

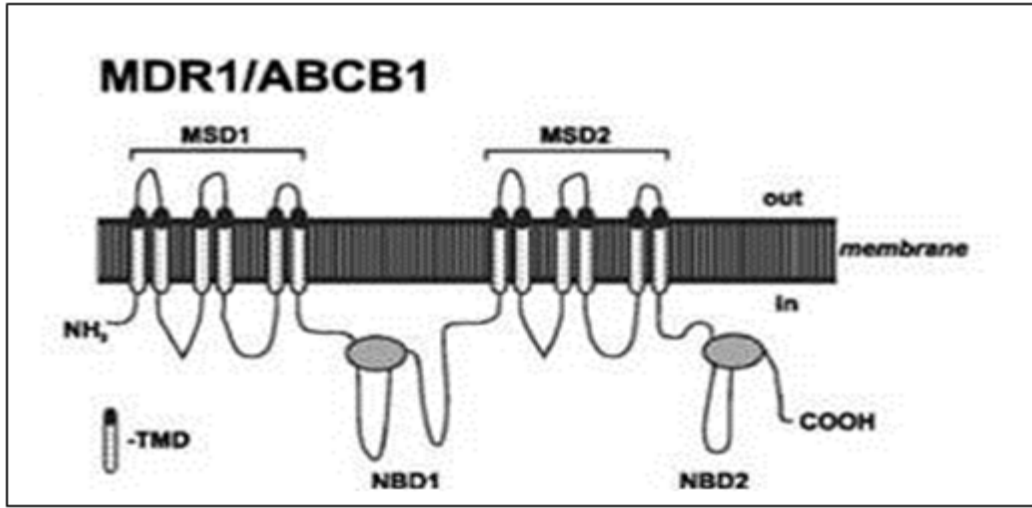
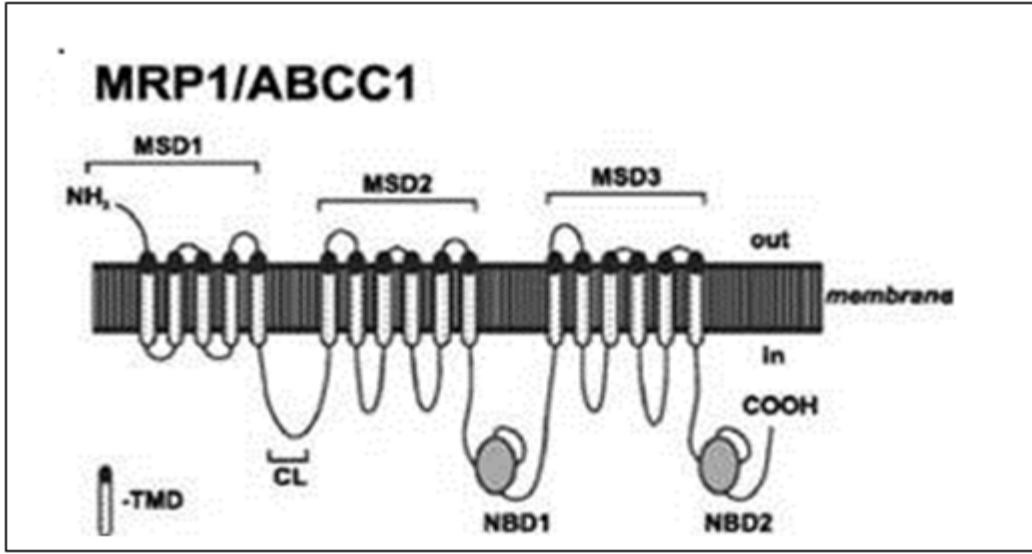
Single nucleotide polymorphisms bireyler arasındaki nükleotid farklılıklarını belirler ve insan genomundaki en çok bilinen bir grup dizin (sıra) değişimlerini belirtir. İnsandaki MDR-1 geni 29 eksondan meydana gelmektedir. Genetik 26 polimorfizm ilk olarak Kioka'nın kanserli hücrelerde yaptığı çalışmalarla belirlenmiştir. Daha sonra, Hoffmeyer'in de içinde bulunduğu bazı gruplar tüm MDR-1 kodlama bölgesini açığa çıkarmışlardır. 19 SNP eksonik bölgelerde, 11 SNP birbirinden farklı yerlerde bulunmaktadır. İlginç bir şekilde, ekson 21'deki 2677 pozisyonundaki SNP'lerin 2 farklı aminoasit değişimine sebep olabildiği, isimlerinin Ala893Ser ve Ala893Thr olduğu belirtilmiştir. Ancak, ekson 26'daki SNP, kodlanmış aminoasiti değiştirmesede değişken protein ekspresyonu ile ilişkili ilk varyanttır. Aynı çalışmada, homozigot T alelinin bulunduğu bireylerdeki duodenumdaki p-gp'nin C alelinin bulunduğu bireylerle karşılaştırıldığında ekspresyonunun azaldığı gözlenmiştir. Diğer çalışmalar, ekson 21 ile ekson 1b'de bulunan SNP'lerin belki de değişik transport ve ekspresyonlarla birleştirilmiş olabileceğini göstermiştir. P-gp'deki fonksiyonel farklılıkları bularak ilk olarak ekson 26'daki benzer SNP'leri bağlamış ve belki de ekson 21'deki farklı polimorfizminlerin birleşmesine neden olmuştur. Bu tip farklı haplotiplerin varlığı daha sonradan bazı gruplarca onay görmüştür. Tüm etnik gruplarda üç ortak haplotip

ortaya çıkmaktadır. Ekson 26 ve ekson 21'deki SNP'ler arasındaki güçlü bir bağıl dengesizlik olduğu kabul edilerek, haplotip kombinasyonları çoğu çalışmada kişilerin %70'inden fazlasında bulunmuştur. Son günlerde ekson 12'deki benzer SNP'lerin ekson 26 ve 21'deki SNP'lerle bağıl olduğu görülmüştür. Benzer olarak, ekson 26, 21 ve 12'deki MDR-1 polimorfizimlerinin olağan genotipik kombinasyonları incelendiğinde %50'den fazla çalışma, bireylerdeki üç yerde güçlü bir bağıl dengesizlik ortaya çıkarmıştır (64).

En sık görülen sessiz mutasyonların MDR-1 C3435T ve MDR-1 G2677T (Ala893Ser) gen polimorfizimlerinin immünsüpresif ilaçların farmakokinetiğini etkileyebileceği vurgulanmıştır. Özellikle ekson 26 (C3435T) ve ekson 21 (G2677T)'deki polimorfizimlerin takrolimusun farmakokinetiği ve fonksiyonu ile ilgili olduğu bildirilmiştir (72, 73).

1.9.3. P-glikoprotein

Taşıyıcı bir protein olan p-gp karaciğer, böbrek, bağırsak, testis ve beyin kapillerleri gibi çeşitli doku ve organ hücrelerinde bulunan ve ATP bağlayan kaset B1 (ATP Binding Cassette B1) alt ailesine (ABCB1, MDR/TAB) ait olan geçirgenlik düzenleyici bir proteindir. P-gp çeşitli ksenobiyotik ve endojen maddeleri hücrelerden uzaklaştıran bir pompa gibi çalışır ve bu yüzden dışarı atım proteini olarak da adlandırılır. Kan-beyin ve kan-testis bariyerleri gibi kan-doku bariyerlerinin oluşumunda önemli rol oynadığı için doku koruyucusu olarak kabul edilir. P-gp'nin pek çok substratı vardır ve bu substratlardan bazıları p-gp'nin işlevlerini değiştirebilir. P-gp'nin engellenmesi gibi farklılıklarının da, klinik yönden önemli olan ilaç-ilaç/ilaç-gıda etkileşimlerine neden olabilen farmakokinetik parametrelerde değişikliklere yol açtığı gösterilmiştir. Çeşitli deneysel çalışmalar p-gp'deki değişikliklerin ilaç davranışında, ilaç-ilaç/ilaç-gıda etkileşimlerinde, ilaç cevabında tür ve ırk farklılıklarında, kanser ve enfeksiyöz hastalıkların tedavisindeki başarısızlıkta, kanser hücresi ve mikroorganizmalardaki direnç gelişiminde ve bazı hastalıkların etiolojisinde önemli etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur (74, 75).



Şekil 5. Taşıyıcı protein MDR-1 ve MRP-1 yapısı

P-glikoprotein, birçok ilacın transportunu gerçekleştiren ATP bağımlı bir transmembran proteinidir. Tümör hücrelerinde eksprese olmasının ve çoklu ilaç rezistansında rol oynamasının yanı sıra karaciğer, böbrek, ince bağırsak, kolon, beyin, kalp, periferel sinirler, plasenta, adrenal bezler ve testis gibi normal dokularda da bulunduğu gösterilmiştir. Ayrıca kan-beyin ve kan-testis bariyeri gibi kan-doku bariyerlerinde de bulunmaktadır. Özellikle ince bağırsak, santral sinir sistemi, karaciğer ve böbrek gibi ilaç emilimi, dağılımı ve atılımında rol oynayan dokularda yüksek oranda eksprese edilmesi p-gp'in substratı olan ilaçların farmakokinetiğinde, toksikokinetiğinde kritik bir rol oynayabilme özelliği kazandırmaktadır. Aralarında çeşitli antineoplastikler, HIV proteaz inhibitörleri, immüsupresanlar, kardiyovasküler sistem ilaçları ve antimikrobiyal ilaçlar gibi klinik pratikte sıkça

kullanılan ilaçların da bulunduğu birçok ilaç molekülü p-gp substratı olma özelliği göstermektedir. Günlük aldığımız gıdaların bileşenleri ve çevresel olarak maruz kaldığımız ksenobiyotikler de p-gp substratı, aktivatörü ya da inhibitörü olabilmektedir. Bu bileşikler, p-gp'in dokulardaki aktivitesinde değişikliğe yol açabilmekte ve substratı olan ilaç ya da bileşenlerin farmakokinetik ve toksikokinetik parametrelerinde klinik açıdan önemli sonuçlara yol açabilecek değişiklikler (tedavi edici etkinliklerinde azalma veya toksik etkilerinde artış) meydana getirebilmektedir. P-gp'in yapısı ve işlevini daha ileri düzeyde inceleyecek çalışmalar hiç şüphesiz ilaçların farmakokinetiği ve toksikokinetiği hakkında daha fazla bilgi sahibi olmamızı sağlayacaktır. Yine bu çalışmalar belki de kanser tedavisindeki en önemli sorunlardan biri olan çoklu ilaç rezistansının aşılmasına önemli katkılar yapabilecek ve kanser dışı endikasyonlarda kullanılan ilaçların da tedavi edici etkililiklerini p-gp inhibisyonu yolu ile arttırabilecek yeni tedavi stratejilerinin geliştirilebilmesini mümkün kılacaktır (76, 77).

1.10. Amaç

Nefrotik sendrom, birçok nedenle oluşan proteinüri, hipoalbuminemi, ödem ve hiperkolesterolemi ile karakterize çocukluk çağının en sık görülen böbrek hastalıklarından biridir (1, 2).

Bu hastaların tedavisinde ilk seçenek olarak steroid başlanır. Steroid tedavisine verilen cevaba göre hastanın izlemi planlanır. Nefrotik sendromlu çocuklar genellikle steroid tedavisine iyi cevap verir. Ancak geri kalan kısmı steroid tedavisine cevap vermez (78). Glikokortikoidlerin hedef hücrelerdeki etkisi glikokortikoid reseptör afinite ve sayı artışı ile belirlenmiştir (79). Steroid bu hastalarda immünsüpresif etki göstererek proinflamatuvar sitokinleri azaltır, antiinflamatuvar sitokinleri artırarak etki göstermektedir (80). Steroidler bu etkilerini özellikle lökositlerdeki sitoplazmadan çekirdeğe taşınarak göstermektedir. Steroid tedavisine cevabın gözlenmesinde, steroidlerin hücre içine alınmasında ve hücre stoplazmasından atılmasında sorumlu faktörlerin etkili olduğu bilinmektedir.

P-glikoprotein glukortikoidin hücre içinden atılımında, adrenal korteksten sentezinde temel rol oynar (81). P-gp aynı zamanda glikokortikoidleride içeren ilaçların dağılımında anahtar role sahiptir (82). Yapılan bir çalışmaya göre steroid

duyarlı nefrotik sendromlularda tanı, relaps ve tam remisyon sırasında p-gp'nin steroid gereksinim dozunda değişiklikte rol oynadığı bildirilmiştir (83). P-gp'nin yüksek ekspresyonu, prednisolonun hücre stoplazmasından ekskrete eden pompa fonksiyonu göstermesiyle glikokortikoid resistansını oluşturur (83). P-gp ATP bağlama ailesine ait bir taşıyıcıdır. P-gp MDR-1 geninin kodladığı yaklaşık 1200 aminoasit içeren membran geçişini düzenleyici bir glikoproteindir.

Bir çok çalışmada T lenfosit fonksiyonu gibi immünolojik bozuklukluğun steroid duyarlı nefrotik sendrom oluşumuyla yada relapsla güçlü ilişkisinden bahseder (84). Aktive T hücrelerin sitokin, interlökin, vasküler ve glomerüler permeabilite faktörleri oluşturarak nefrotik sendrom patogenezinde önemli bir role sahip olduğu sanılmaktadır (79, 81-84).

Funaki ve ark.'nın (83) yaptığı bir çalışmada periferal kandaki çekirdekli hücrelerin hedef hücre olarak aktive T hücrelerini içermesinden dolayı nefrotik sendrom patogenezinde önemli rol oynadığı hipoteziyle bu hücrelerde MDR-1 mRNA seviyeleri gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak ölçülmüştür. Sonuç olarak MDR-1 mRNA seviyeleri her hastada tam remisyondan önce değişkendir, tam remisyon sonrası periferal kan çekirdekli hücrelerinde MDR-1 gen ekspresyonunda anlamlı bir düşüklük olduğunu bulmuşlardır.

Shimoyama ve ark.'ı (85) yaptığı çalışmada IL 2 ekspresyonunun komplet remisyonda iyileştirici olduğu gösterilmiştir. Nefrotik sendromlu çocuklarda steroid yanıtını belirlemede solubl IL-2 Reseptör ve MDR-1 gen ekspresyon düzeylerinin değerlendirildiği bir çalışmada solubl IL-2 Reseptör ve MDR-1 gen ekspresyon düzeylerinin nefrotik sendromda steroid direncinin erken belirleyicileri olduğu bildirilmiştir (86).

Jafar ve ark.'nın (5) yaptığı çalışmada steroide yanıtı ve yanıtızsız nefrotik sendromlu 216 çocukta MDR-1 gen polimorfizmi çalışılmış ve G2677T/A single nükleotid polimorfizm mutasyonunu homozigot olarak taşıyan nefrotik sendromlu hastaların steroid direnci geliştirme riskinin fazla olduğu saptanmıştır. G2677T/A ve C3435T SNP mutasyonlarını birlikte taşıyan hastalarda steroid dirençli nefrotik sendrom riskini artmış olarak belirlenmiştir.

Yine bir başka çalışmada MDR-1 aktivitesi ve mRNA ekspresyonu steroid, siklofosfamid veya siklosporin dirençli NS'lu hastalarda, sensitif olanlara göre daha yüksek bulunmuştur (87).

Daha önceden yapılan çalışmada nefrotik sendromlu 14 hastada MDR-1 gen mRNA düzeyleri komplet remisyon öncesi ve remisyonda çalışılmış ve MDR-1 gen mRNA düzeylerinin komplet remisyon öncesi değişken olduğunu fakat remisyondan sonra MDR-1 gen ekspresyonunda belirgin azalma olduğunu bulmuşlardır (83).

Bu çalışmada steroid verilen nefrotik sendromlu çocuklarda tanı anında, remisyona giren olgularda ve steroide dirençli olgularda MDR-1 geni mRNA çalışılarak, MDR-1 geni mRNA ekspresyonunun steroid tedavisine cevabın belirlenmesinde etkili olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Nefroloji Bilim Dalında izlenen masif proteinüri (40 mg/m²/saat veya 1 gr/m²/gün düzeyi üzerindeki proteinüri), hipoalbuminemi (serum albumin düzeyinin 2,5 g/dl düzeyinin altında olması), hiperlipidemi ve ödem ile karakterize nefrotik sendrom tanısı almış 40 hasta ve kontrol grubu olarak herhangi bir kronik hastalığı olmayan 22 sağlam çocuk dahil edildi. Çalışma öncesi fakülte etik kurulundan 22.05.2012 tarih ve 2011-2012/29 sayılı kurul kararı alındıktan sonra çalışmaya katılan tüm ailelerden aydınlatılmış onam belgesi alındı (Ek.1) (8).

Çalışmaya NS tanısı ile Çocuk Nefroloji polikliniği tarafından izlenen ve yaşları 1 ile 18 arasında değişen 40 çocuk alındı. Hastaların demografik verileri, klinik durumları, laboratuvar değerleri ve kullanılmış olan tedavi rejimlerine ait bilgiler kaydedildi. Her hasta için hasta değerlendirme formu (Ek.2) hazırlandı. Bu formda hastaların ad-soyad, yaş, cinsiyet, hastalık başlama yaşı, boy, kilo, kan basıncı, ailede benzer hastalık öyküsü, anne-baba arasında akrabalık gibi demografik verileri kaydedildi. Çalışmaya alınan tüm hastalar aynı hekim tarafından değerlendirildi. Ayrıntılı öyküsü alınan hastaların fizik muayenesi yapılarak patolojik bulgular kaydedildi. Hastalığına özgü tanı ve izlem için laboratuvar tetkikleri planlandı. Proteinüri ve hematüri varlığı idrarda tetkik edildikten sonra 24 saatlik idrar toplandı. Alınan kan örneklerinden beyaz küre sayısı, hemoglobin, trombosit sayımı, üre, kreatin, total protein, albümin, kolesterol ve lipid değerleri çalışıldı. Ayırıcı tanı açısından antinükleer antikor (ANA), antiglomerüler bazal membran antikoru, C3, C4 değerlerine bakıldı. Tüm hastaların ultrasonografi ile böbrekleri değerlendirildi. Nefrotik sendrom tanısı konulduktan sonra steroid tedavisi başlandı. Tüm hastaların almış olduğu tedaviler ve bu tedavilere yanıtları, relaps sayısı, böbrek yetmezliği varlığı ve biyopsi sonuçları kaydedildi.

Nefrotik sendrom ve steroide dirençli NS tanımlamaları *International Study of Kidney Disease in Children*'a (17) göre yapılmıştır. Nefrotik sendrom, ağır proteinüri (> 50 mg/kg/gün veya > 40 mg/ m²/ saat), hipoalbuminemi (< 2.5 gr/ dl) ve ödem ile karakterize klinik tablo olarak tanımlanmıştır. Steroid duyarlı NS ise 4 haftalık 60 mg/m²/gün steroid tedavisine yanıt olması olarak kabul edildi. Steroid direnci ise dört hafta süre ile verilen 60 mg/m²/gün (maksimum 60 mg) steroid

tedavisine yanıt alınamama, steroid bağımlı nefrotik sendrom ise steroide önceden yanıt alınan ve proteinürisi kaybolan bir hastada, steroid dozu azaltılırken proteinürinin yeniden çıkması veya remisyona girdikten sonra steroid kesilmesini takip eden 14 gün içinde relaps gözlenmesi ve bu durumun iki kez tekrarlaması durumu olarak tanımlanmıştır (16, 17). Böbrek biyopsisi NS tanısı alan makroskobik hematürisi olan hastalara, hipertansiyonu devam eden hastalara, C3 düşüklüğü olan hastalara, persistan böbrek yetmezliği olan hastalar ile kortikosteroid tedaviye yanıtız veya steroid tedavisine bağımlı olan hastalara yapıldı (16).

Yirmi dört saatlik idrar sabah ilk idrar atıldıktan sonra gün boyunca toplandı ve ertesi gün sabah ilk idrar da kaba eklendi. 24 saatlik idrar volümü ile oranlanarak günlük proteinüri mg/m²/saat olarak belirlendi.

Glomerüler filtrasyon hızı (GFR) ölçümü; Schwartz yöntemi kullanılarak aşağıdaki formüle göre hesaplandı (88).

$$GFH = [\text{boy (cm)} \times 0.55 / \text{serum kreatinin (mg/dl)}].$$

Çalışmaya alınan NS'li tüm hastaların NPHS1 ve NPHS2 gen mutasyonları Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Genetik Laboratuvarında çalışıldı.

Nefrin için 3 polimorfizm bakıldı: NEFRIN A1105G, NEFRIN T763C, NEFRIN T741C. Podosin için 2 polimorfizm bakıldı: Podosin G346A ve Podosin T318C.

Hastalardan ilk tanı anında, tedavinin dördüncü haftasında ve remisyonda rutin tetkikleri yapılırken aynı zamanda alınacak yaklaşık 2 cc venöz kan örneğinden, genomik RNA purifikasyon kiti kullanarak RNA izole edilmiş ve çalışmalar yapılana kadar -80 derecede saklanmıştır. Ayrıca pediatrik sağlam çocuk poliklinğine izlem amacıyla başvuran steroid, immünsüpresif ve benzeri ilaçları kullanmayan; ailelerinden aydınlatılmış onam ile izin alınan sağlıklı çocuklardan 22 vaka kontrol grubu olarak alınmıştır. Gerekli malzemeler Fırat Üniversitesi Blimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) Koordinasyon Birimi'nin TF.12.52 proje nolu desteği ile temin edildikten sonra çalışma tıbbi genetik laboratuvarında primer dizileri kullanılarak uygun sıcaklıklarda real time polimeraz zincir reaksiyonuyla (polymerase chain reaction: PCR) MDR-1 geni mRNA ekspresyonu bakılmıştır.

2.1. Kan Örneklerinin Toplanması

Çalışma grubu bireylerinden EDTA'lı tüplere 2-3 cc kan alınıp, Tıbbi Genetik Laboratuvarında RNA izolasyon kiti (PureLink™ RNA izolasyon kitleri) izolasyonu yapıldı. Çalışma yapılana kadar -80 derecede saklandı. Hasta RNA'ları eşitlenerek cDNA elde edildi ve cDNA'ları -20 derecede saklandı.

2.1.1. Ekspresyon Çalışma Yöntemi:

Bu çalışma için kullanılan örnekler -80 derecede saklanmıştır. Örnekler önce kandan spin-kolon yöntemi ile çalışan bir RNA izolasyon kiti ile kitin protokolü aynen uygulanarak ayrıştırılmıştır (Invitrogen Ambion® RNA Mini Kit- Katalog No: 12183018A). RNA izolasyon kiti kullanılmadan önce kırmızı kan hücreleri RBC Lysis Buffer (eBioscience Katalog No: 00-4333-57) kullanılarak yok edilmiş ve en yüksek seviyede beyaz kan hücreleri kullanılmıştır.

Çalışmaya başlamadan önce hazırlananlar;

- 100 ul Lysis Buffer başına 1 ul B-mercaptoethanol eklenir. (Örneğin; 1000 ul Lysis Buffer +10 ul B- mercaptoethanol)
- %75 ethanol hazırlanmalı: 10 ml kadar %75 ethanol ihtiyacımız vardı;
- %100 ethanolxA ml = %75 ethanol x 10 ml (A ml=7,5 ml 7,5 ml %100 ethanol alındı. 10 ml'ye tamamlamak için 2,5 ml RNase free water eklendi.)
- 60 ml %100 ethanol Wash Buffer II'ye eklendi.

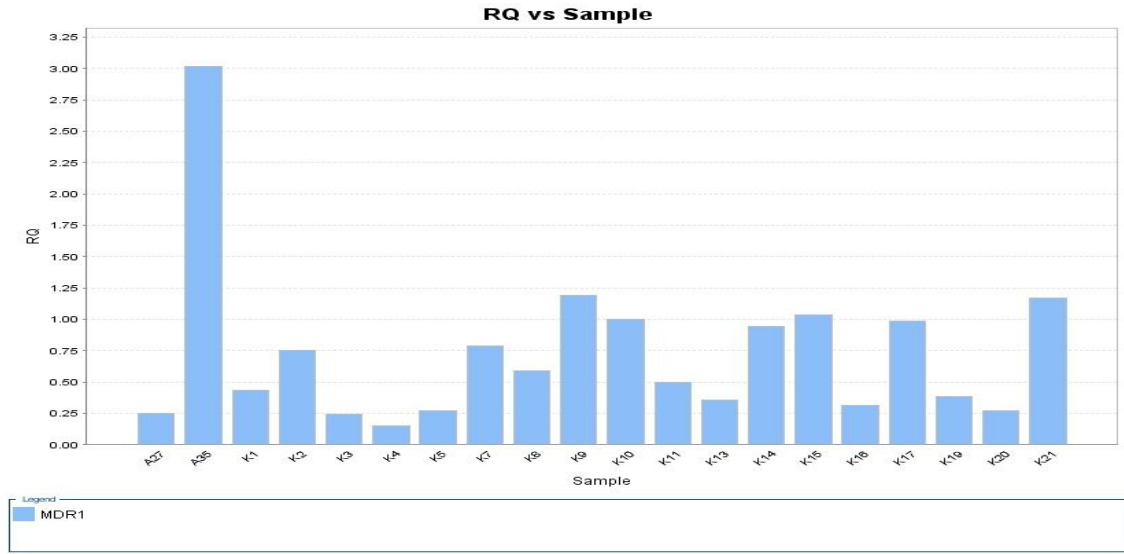
2.1.2. Ambion RNA İzolasyon Protokolü (Kan) Katalog No: 12183018A

- 1- -80'den çıkarılan kanın çözülmesi beklenir.
- 2- 500 ul kan + 900 ul Sigma Red Blood Cell Lysis buffer 2 mL santrifüj tüpüne koyulur.
- 3- 15.000 x g'de 1 dakika oda sıcaklığında santrifüje edilir.
- 4- Supernatant atılır ve beyaz presipitat vortekslenir.
- 5- 2, 3 ve 4. Basamaklar tekrarlanır ve beyaz presipitatlar karıştırılır.
- 6- 600 ul Lysis Buffer (%1 B-mercaptoethanol eklenmiş), kanın bulunduğu santrifüj tüpüne koyulur.
- 7- Mix, enjektörle 8 kez çekilip bırakılır.
- 8- 2 dakika 12.000 x g'de santrifüje edilir.

- 9- Supernatant, 2 mL'lik RNase-free santrifüj tüpüne aktarılır.
- 10- 600 ul %100 ethanol, santrifüj tüpüne aktarılır ve vortekslenir.
- 11- Kalan parçacıklarla beraber, 600 ul ethanol+mix karışımı, toplayıcı tüpe bağlı spin kartuşa aktarılır.
- 12- Spin kartuş, 15 saniye 12.000xg'de oda sıcaklığında santrifüje edilir. Toplayıcı tüp boşaltılır ve Spin kartuş aynı toplayıcı tüpe eklenir.
- 13- 11 ve 12. basamaklar tekrar edilir.
- 14- 700 ul Wash Buffer I, spin kartuşa eklenir.
- 15- 15 saniye 12.000xg'de oda sıcaklığında santrifüje edilir.
- 16- Toplayıcı tüp atılır. Spin kartuş yeni bir toplayıcı tüpe bağlanılır.
- 17- 500 ul Wash Buffer II (ethanol eklenmiş) spin kartuşa eklenir.
- 18- Spin kartuş, 15 saniye 12.000 x g'de oda sıcaklığında santrifüje edilir.
- 19- Toplayıcı tüpün içindeki sıvı boşaltılır ve Spin kartuş aynı toplayıcı tüpe yerleştirilir.
- 20- 17, 18 ve 19. basamaklar tekrar edilir.
- 21- Spin kartuş, 1 dakika 12.000xg'de oda sıcaklığında santrifüje edilir
- 22- Toplayıcı tüp atılır. Spin kartuşlar recovery tüplere yerleştirilir.
- 23- 20 ul RNase-free water eklenir.
- 24- 1 dakika oda sıcaklığında beklenir.
- 25- Spin kartuş, 2 dakika 12.000xg'de oda sıcaklığında santrifüje edilir.
- 26- İzole edilmiş RNA, recovery tüpün içindedir.

Örnekler önce Qubit® RNA Assay Kit (Invitrogen, Katalog No: Q32852) kullanılarak 10 ul'de eşit miktarda RNA bulunacak şekilde eşitlenmiştir. Sonrasında cDNA sentez kiti (Applied Biosystems, Katalog No: 4368814) kullanılarak, RNA örneklerinden cDNA sentezlendi. 10×RT Buffer'dan 2 ul, 25×dNTP Mix (100 mM)'dan 0.8 ul, 10×RT Random Primers'den 2 ul, Multi Scribe™ Reverse Transcriptase'den 1 ul, Nuclease- free H₂O'dan 4.2 ul ve İzole edilen RNA örneğinden 10 ul koyulmuştur. PCR çalışma koşulları 10 dakika 25° C, 120 dakika 37° C, 5 dakika 85° C ve 4° C olacak şekilde ayarlanıp çalıştırıldı. Real Time PCR çalışması için çalışma esnasında kullanılan master mix'in protokolü uygulanmıştır. (ABI Taq Man Gen expression Master Mix-Katalog No: 4369016) ve ABI marka StepOne Plus model Real Time PCR cihazı kullanılmıştır. DNA

örnekleri ve Master Mix, plate'e yüklendikten sonra, cihazın hazır menüsünden Gen expression protokolü (Holding: 95° C 10:00, Denature: 92° C 00:15, Anneal: 60° C 01:00) seçilmiş ve plate isimlendirmeleri ve numaralandırılmaları yapılmıştır. Ardından plate'in her kuyucuğuna konulan malzemelerinin toplam hacmi bir sonraki sayfada cihaza kaydedilmiştir. Sonrasında, kullanılan gen expression assayinin floresans boyalarının, cihazın hafızasında kayıtlı olan floresans boya ile aynı olduğu doğrulanmıştır. PCR reaksiyonu başlatılmış ve bitiminde çıkan sonuçlardan Δ CT değerleri alınmıştır (EK-3).



Şekil 6. Kontrol grubu, 27. ve 35. hastaların tedavi öncesi p-gp ekspresyon düzeyinin dağılımı

2.2. İstatistiksel Değerlendirme

Olguların verileri SPSS (statistical package for social sciences) 15.0 programında oluşturulan veri tabanına girildi ve verinin istatistiksel analizleri yine aynı program ile yapıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu tek örneklem kolmogorov-smirnov testi ile değerlendirildi. Parametrik sonuçlar (ikili grupların normal dağılım gösteren veriler yönünden ortalamaları arasındaki farkın anlamlı olup olmadığına ortalama±SD değeri verilerek) standart t testi ile parametrik olmayan sonuçlar (normal dağılım göstermeyen veriler yönünden ortalamaları arasındaki farkın anlamlı olup olmadığına ortanca (minimum-maksimum) değeri verilerek) Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı. Oranların karşılaştırılması Ki-kare (χ^2) testi ile değerlendirildi. P değerinin <0,05 olması istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Çocuk Nefroloji Bilim Dalı'nda izlenen 40 NS tanılı çocuk ile kronik hastalığı olmayan 22 sağlıklı çocuk çalışmaya dahil edildi.

Hastalarımızın yaş aralığı 1-18 yıl ($7,23\pm 4,13$) arasında değişiyordu. Çalışmaya alınan NS'li 40 çocuğun 30'u (%75) erkek, 10'u (%25) kız olup, erkek/kız oranı 30/10=3 idi. Hastaların ortalama tanı yaşı $4,45\pm 3,01$ yıl olarak bulundu. Hastaların ortalama vücut ağırlığı $26,15\pm 11,9$ kg ve ortalama boyları $116\pm 25,43$ cm idi.

Nefrotik sendrom olguları ve kontrol grubu hastalarının yaş ve cinsiyet açısından aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0,05$). Olgularımızın demografik verileri Tablo 7'de verildi.

Tablo 7. Olguların Demografik Özellikleri

	Nefrotik Sendrom n=40	Kontrol n=22	P değeri
Yaş (yıl)	$7,23\pm 4,13^*$	$7,14\pm 4,64^*$	$>0,05$
Cinsiyet (kız/erkek)	10/30	9/13	$>0,05$

* Değerler ortalama±SD verilmiştir.

Nefrotik sendromlu grubun tanı anındaki mRNA düzeyi $3,03\pm 4,23$ kopya/ μ gr RNA iken kontrol grubunda mRNA düzeyi $4,78\pm 2,54$ kopya/ μ gr RNA olup her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,05$).

Olgularımız steroid tedavisine verdikleri yanıtı göre stereoide duyarlı ve dirençli olarak iki grupta değerlendirildi. Nefrotik sendrom tanılı 40 hastanın 29'u (%72,5) stereoide duyarlı, 11'i (%27,5) stereoide dirençli idi. Kontrol grubunda ise 22 hasta vardı. Stereoide duyarlı grubun yaş ortalaması $7,52\pm 3,51$ yıl, stereoide dirençli grubun yaş ortalaması $6,45\pm 5,59$ yıl, kontrol grubunun yaş ortalaması ise $7,14\pm 4,64$ olup her üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,05$).

Stereoide duyarlı gruptaki 29 hastanın 8'i (%27,6) kız, 21'i (%72,4) erkek idi. Stereoide dirençli gruptaki 11 hastanın ise ikisi (%18) kız, 9'u (%82) erkek idi. Kontrol grubundaki 22 hastanın ise 9'u (%40,9) kız, 13'ü (%59,1) erkek olup her üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,05$). Steroid tedavisine yanıtına göre olgularımızın demografik verileri Tablo 8'de verildi.

Tablo 8. Steroid tedavisine yanıtına göre olguların demografik verileri

	Steroide dirençli n=11	Steroid duyarlı n=29	P değeri
Yaş (yıl)	6,45±5,59*	7,52±3,51*	>0.05
Cinsiyet (kız/Erkek)	2/9	8/21	>0.05
Vücut ağırlığı (kg)	21.16±12,04*	28,04±11,53*	>0.05
Boy (cm)	98,86±33,40 *	123,20±18,25*	<0.05

* Değerler ortalama±SD verilmiştir.

Steroide duyarlı 29 hastanın 14'ünde (%48) MDR-1 polimorfizmi bakılmıştı. Hastaların 12'sinde (%85) MDR-1 polimorfizmi varken, iki (%15) hastada yoktu. Steroide dirençli 11 hastanın 5'inde (%45) MDR-1 polimorfizmi vardı. Her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$).

Steroide duyarlı 29 hastanın ikisinde ailesinde NS öyküsü varken, 27'sinde yoktu. Steroide dirençli 11 hastanın birinde ailesinde NS öyküsü varken, 10'unda yoktu. Her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$) (Tablo 9).

Tablo 9. Steroid tedavisine yanıtına göre olguların ailede NS öyküsü, MDR-1 polimorfizmi

	Steroide dirençli n=11	Steroid duyarlı n=29	P değeri
Ailede NS öyküsü (var/yok)	1/10	2/27	>0.05
MDR-1 polimorfizmi (var/yok)	5/0	12/2	>0.05

Steroide duyarlı grubun tanı anındaki mRNA düzeyi $3,15\pm 4,05$ kopya/ μ gr RNA iken steroide dirençli grubun tanı anındaki mRNA düzeyi $2,27\pm 4,86$ kopya/ μ gr RNA olup her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$) (Tablo 10).

Tablo 10. Steroid tedavisine yanıtına göre olguların tanı anında mRNA düzeyi

	Steroide dirençli n=11	Steroid duyarlı n=29	P değeri
Tanı anında mRNA düzeyi (kopya/ μ gr RNA)	2,27±4,86*	3,15±4,05*	>0.05

* Değerler ortalama±SD verilmiştir.

Hastalık başlangıcında bir hastada hipertansiyon (%2,5) belirlendi. Bu hasta steroide dirençli gruptandı ancak her iki grup arasında kan basıncı yükseklikleri bakımından istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

Steroide duyarlı gurubun tanı anındaki protein/kreatin oranı $8,21\pm 5,56$ mg/dl ve günlük proteinüri miktarı $132,70\pm 100,92$ mg/kg/gün iken steroide dirençli grubun tanı anındaki protein/kreatin oranı $9,44\pm 5,62$ mg/dl ve günlük proteinüri miktarı $91,6\pm 73,39$ mg/kg/gün olup her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$).

Hematüri görülme sıklığı erkeklerde daha fazla olup kızlarda 4 hastada, erkeklerde ise 6 hastada hematüri belirlendi. Nefrotik sendromlu hasta grubunda iki hastada (%5) makroskobik hematüri ve 8 hastada (%20) mikroskobik hematüri saptandı. Steroide dirençli grupla duyarlı grup arasında hematüri saptanması açısından anlamlı farklılık görüldü ($p<0,05$). Steroide yanıtı grupta 29 hastanın 5'inde (%17,2) hematüri saptandı; bunların 4'ünde mikroskobik hematüri, birinde makroskobik hematüri tespit edildi. Steroide dirençli grupta ise 4 hastada (%36,3) mikroskobik hematüri, birinde (%9) makroskobik hematüri saptandı.

Nefrotik sendromlu hastaların total protein değeri $4,23\pm 0,70$ g/dL, albümin değeri $2,09\pm 0,35$ g/dL, üre $30,07\pm 16,25$ mg/dL ve kreatin $0,41\pm 0,42$ mg/dL idi. Steroide duyarlı grupta total protein değeri $4,32\pm 0,65$ g/dL, albümin değeri $2,01\pm 0,35$ g/dL, üre $27,03\pm 12,37$ mg/dL ve kreatin $0,34\pm 0,18$ mg/dL iken; steroide dirençli grupta total protein değeri $3,99\pm 0,78$ g/dL, albümin değeri $2,05\pm 0,39$ g/dL, üre $38,09\pm 22,43$ mg/dL ve kreatin $0,58\pm 0,73$ mg/dL idi. Serum total protein, albümin, üre değerlerinde steroide duyarlı ve dirençli gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0,05$). Serum kreatin değerleri steroide dirençli grupta daha yüksekti ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($p<0,05$).

Steroide dirençli ve duyarlı gruplar arasında laboratuvar tetkiklerinden beyaz küre, hemoglobin ve trombosit, total protein, albümin, kolesterol, trigliserit, üre, idrarda protein/kreatin, günlük proteinüri değerleri arasında istatistiksel anlamlı farklılık yoktu (Tablo 11).

Steroide duyarlı gurupta tanı anında 12 (%41) hastada ANA negatif, bir (%3) hastada pozitif iken; steroide dirençli grupta tanı anındaki 9 (%81) hastada ANA negatif, bir (%9) hastada pozitif bulundu. Her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$).

Tablo 11. Nefrotik Sendrom hastalarının laboratuvar bulguları

	Steroide duyarlı n=29	Steroide dirençli n=11	P değeri
Beyaz küre (K/uL)	10.623,10±4.330,91*	13.590,90±7.180,46*	>0.05
Hemoglobin (g/dL)	13,7±1,58*	21,21±33,28*	>0.05
Trombosit (/mm ³)	464.448,28±110.024,21*	424.636,36±201.445,41*	>0.05
Serum üre (mg/dL)	27,03±12,37*	38,09 ±22,43*	>0,05
Serum kreatin (mg/dL)	0,34±0,18*	0,58 ±0,73*	<0,05
Total protein (g/dL)	4,32±0,65*	3,99±0,78*	>0.05
Albümin (g/dL)	2,11±0,35*	2,05±0,39*	>0.05
Total kolesterol (mg/dL)	388,64±133,05*	322,20±85,38*	>0.05
Trigliserit (mg/dL)	275,67±163,84*	324,50±158,00*	>0.05
İdrar Prot/kreatin (mg/dL)	8,21±5,56*	9,44±5,62*	>0.05
Proteinüri (mg/kg/gün)	132,70±100,92*	91,60±73,39*	>0.05
Hematüri (var/yok)	5/24	5/6	<0,05

* Değerler ortalama±SD verilmiştir.

Tanı anında bakılan antiglomerüler bazal membran antikorları tüm hastalarda negatif bulundu. Steroide duyarlı 29 hastanın 8'inde (%27) C3, üçünde (%10) C4 yüksekliği bulunurken; Steroide dirençli grupta 11 hastanın üçünde (%27) C3 yüksek bulundu. Dirençli grubun hiçbirinde C4 yüksek değildi. Her iki grupta da C3 düşüklüğü gözlenmedi. Her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p>0.05).

Tanı anında steroide yanıtı grupta 29 hastanın birinde (%3) böbrek yetmezliği varken, steroide dirençli grupta 11 hastanın ikisinde (%18) böbrek yetmezliği vardı. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı (p>0,05).

Böbrek biyopsisi yapılan 19 hastanın 10'unda (%52,6) FSGS, 4'ünde (%21) MLH, 4'ünde (%21) MezPGN, birinde (%5,2) konjenital NS (Deny Drash Sendromu) ve birinde (%5,2) C1Q Nefropati saptanmıştı. FSGS bulunan 10 hastanın 7'si, MezPGN olan üç hasta ve konjenital NS olan hasta dirençli gruptandı (Tablo 12).

Tablo 12. Nefrotik Sendrom olgularının böbrek biyopsi sonuçları

BİYOPSİ SONUÇLARI					
	C1Q Nefropatisi	MezPGN	FSGS	Konjenital NS	MLH
SSNS (n=8)	1	0	3	0	4
SRNS (n=11)	0	3	7	1	0
Tüm NS'li hastalar (n=19)	1	3	10	1	4

Her iki grup arasında podosin ve nefrin mutasyonları değerlendirildi. Nefrin için A1105G, T763C, T741C olmak üzere üç mutasyon, podosin için ise G346A ve T318C olmak üzere iki mutasyon bakıldı. Steroide dirençli ve duyarlı hastaların tümünde podosin ve nefrin mutasyonu bakıldı. Tablo 13'de steroide duyarlı ve dirençli hastaların nefrin (A1105G, T763C, T741C) ve podosin (G346A ve T318C) mutasyonları ayrı ayrı verildi.

Tablo 13. Olguların nefrin ve podosin sonuçları

	SSNS n=26	SRNS n=9	P değeri
NEFRİN A1105G mutasyonu	24 (%92)	7 (%77,7)	>0,05
NEFRİN T763C mutasyonu	3 (%11,5)	1 (%11,1)	>0,05
NEFRİN T741C mutasyonu	1 (%3,8)	1 (%11,1)	>0,05
PODOSİN G346A mutasyonu	1 (%3,8)	1 (%11,1)	>0,05
PODOSİN T318C mutasyonu	25 (%96)	9 (%100)	>0,05

Nefrotik sendromlu 29 hastanın 9'unda (%31) hiç relaps görülmezken; relaps olan 20 (%68.9) hastadanın 4'ünde bir kez, 4'ünde iki kez, 4'ünde üç kez, ikisinde 4 kez, ikisinde 5 kez, birinde 6 kez, birinde 7 kez, birinde 8 kez, birinde de 9 kez relaps olmuştu.

Siklosporin tedavisi alan ise toplam 13 hasta vardı. Bunların 6'sı (%46) siklosporin tedavisine yanıt vermezken 7 hastada (%53,8) ise remisyon gözlemlendi.

Steroid tedavisi verilen 40 hastanın 22'si Elazığ ilinde, 18'i ıldışında ikamet etmekteydi. Steroide dirençli grupta 7 (%63,6) hasta Elazığ ilinde, 4 (%36,4) hasta ıldışında ikamet ediyordu. Steroide duyarlı grupta 15 (%52) hasta Elazığ ilinde, 14 (%48) hasta ıldışında yaşıyordu. İki gurup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$).

Steroid verilen nefrotik sendromlu çocuklarda MDR-1 geni mRNA ekspresyonunun steroid tedavisine cevabın belirlenmesinde etkili olup olmadığının belirlenmek amacıyla; tanı anında, tedavinin dördüncü haftasında, remisyonu giren olgularda ve steroide dirençli olgularda MDR-1 geni mRNA düzeyi bakıldı. Steroide duyarlı hastalarda tanı anında mRNA düzeyi $3,65\pm 3,79$ kopya/ μ gr RNA, tedavinin dördüncü haftasında mRNA $3,15\pm 4,46$ kopya/ μ gr RNA, tedavi sonunda mRNA $2,97\pm 3,01$ kopya/ μ gr RNA olarak bulundu. mRNA düzeyleri tedavi ile azalmasına rağmen aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$) (Tablo 14).

Tablo 14. Steroid duyarlı hastaların tedavi ile mRNA düzeylerindeki değişim

	Steroide duyarlı n=40	P değeri
Tanı anında mRNA (kopya/ μ gr RNA)	$3,65\pm 3,79^*$	>0.05
Tedavinin dördüncü haftası mRNA (kopya/ μ gr RNA)	$3,15\pm 4,46^*$	
Tedavi sonunda mRNA (kopya/ μ gr RNA)	$2,97\pm 3,01^*$	

* Değerler ortalama \pm SD verilmiştir.

4. TARTIŞMA

Nefrotik sendrom terimi idrarla protein kaybı, hipoalbuminemi, hiperkolesterolemi ve ödemin görüldüğü klinik durumu anlatır. Yetişkinlerin tersine çocuklarda idiopatik nefrotik sendrom daha siktir. İNS'nin en sık formuda MLH ve FSGS'dir (89). Çocukluk çağında iki ile altı yaş arasında en sık görülmektedir. Olgularımızın yaş ve cinsiyet dağılımı literatür bilgileri ile uyumlu idi (24, 90).

Çalışmalarda nefrotik sendromlu hastalarda steroid tedavisine yanıt %63,4-%88 arasında bildirilmiştir. Çalışmamızda SSNS'li hastalar %72,5 oranında olup önceki çalışmalarla benzer oranlarda idi (5, 90).

Stereoide dirençli NS'li hasta grubunun ortalama yaşı 6,45 yıl, SSNS'li grubun ortalama tanı yaşı 7,5 yıl olup, her iki grup için literatürde bildirilen ortalama yaşla uyumlu bulundu (5, 83, 86, 89).

Hem SRNS hem de SSNS'li hastalarda erkek cinsiyetin daha fazla olduğunu gösteren diğer çalışmalar gibi çalışmamızda da benzer şekilde erkeklerde NS'nin kızlardan daha fazla oranda görülmüştür (86, 48, 91). 18 sporadik NS'li çocuğun dahil edildiği bir çalışmada çalışmamızın aksine kız hastaların prevalansı erkek hastalardan daha fazla idi ve aynı çalışmada SRNS'li hastaların ortalama yaşı çalışmamıza benzer bulunmuştu (89).

Jafar ve ark. (5) 216 NS'li çocuk üzerinde yaptıkları çalışmada serum kreatin değerlerini SRNS'li grupta SSNS'li gruba göre anlamlı olarak daha yüksek saptamışlar, serum üre değerlerini ise iki grup arasında benzer bulmuşlardır. Aynı çalışmada serum total protein düzeyi ve idrar proteininin kreatine oranı SRNS'li hastalarda daha yüksek, kan hemoglobin ve albümin düzeyleri her iki grup arasında benzer olarak bulunmuştur. Çalışmamızda ise sadece serum kreatinin değerleri SRNS'li grupta SSNS'li gruba göre anlamlı olarak yüksek iken ($p<0,05$), kan hemoglobin, total protein, albümin, üre düzeyi ve idrar protein/kreatin oranı iki grup arasında benzerdi.

Mortazavi ve Khiavi (90), hematüri görülme sıklığının kızlarda erkeklerle göre daha yüksek olduğunu bildirirken, yaptığımız çalışma hematüri görülme sıklığının erkeklerde daha fazla olduğunu gösterdi.

Çalışmalarda hematürinin görülmesi steroid rezistansını gösteren bir bulgu olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda da 10 hastada hematüri gözlenmiş olup 5 (%50) hasta SRNS'li hasta olarak değerlendirildi (86, 90).

Çalışmamızda SRNS'li 11 hastanın ikisi (%18), son dönem böbrek yetmezliğine ilerledi. Bu sonuç önceki çalışmalarla benzerdi (48).

Farklı çalışmalar renal biyopsi ihtiyacı gösteren hastaların oranını %7-42 arasında bildirmektedir (92-95). Çalışmamızda %47 olup bildirilen diğer çalışmalardan yüksektir. Steroid dirençli nefrotik sendromlu olgularda bildirilen baskın histoloji FSGS'dir (5). Çalışma grubumuzda da böbrek biyopsilerinde %52,6 oranı ile ilk sırada FSGS saptanmıştır. Ejaz ve ark.'nın (96) biyopsi yapılan nefrotik sendromlu hastaları değerlendirdikleri çalışmada, biyopsi sonuçları kıyaslandığında en sık %42 ile FSGS, ikinci sırada %22 ile MLH, üçüncü sırada %14 ile MPGN ve %12 ile en az oranda Mezengiyoproliferatif glomerulonefrit saptanmıştır. Çalışmamızda elde ettiğimiz biyopsi sonuçları ile kıyaslandığında; Böbrek biyopsisi yapılan 19 hastanın 10'unda (%52,6) FSGS, 4'ünde (%21) MLH, 4'ünde (%21) MezPGN, birinde (%5,2) konjenital NS (Deny Drash Sendromu) ve birinde (%5,2) C1Q Nefropati saptanmıştır. FSGS bulunan 10 hastanın 7'si, MezPGN olan 3 hasta ve konjenital NS olan hasta dirençli gruptandı.

Youssef ve ark. (86) 40 NS'li hasta ve 20 sağlıklı kontrol grubunda yaptıkları çalışmada; kontrol grubuna göre ilk hastalıkta ve remisyonda IL2 ve MDR-1 gene ekspresyonunun artmış olduğu hatta ilk hastalıkta remisyona göre anlamlı yüksek olduğu tesbit edilmiş. Bu çalışmanın çalışmamızla yaş ve cinsiyet dağılımı benzerdi. P-glikoprotein ölçümüne göre MDR-1 ekspresyonunun PCR ile ölçümü daha duyarlı olduğundan her iki çalışmada p-gp yerine MDR-1 gene ekspresyonu çalışılmıştır (20). Çalışmamızda Youssef ve ark. (86)'nın aksine ilk tanı anındaki hastaların ve steroid dirençli grupla kontrol grubu arasında bakılan MDR-1 ekspresyonu düzeyinde anlamlı fark bulunamamıştır.

İdiopatik nefrotik sendrom şuan da T hücre ilişkili bağışıklık sisteminin aracılık ettiği bir hastalık olarak da kabul edildiğinden; T hücre aktivitesini gösteren en önemli mediatörlerden IL2 gibi faktörlerin etkisi açısından NS'li hastalarda IL2 ve etkinliğini göstermede daha duyarlı olduğundan IL2 reseptör düzeyi çeşitli çalışmalarda bakılmıştır (48). Ancak çalışmamızda IL2 veya IL2 reseptör düzeyi

bakılması laboratuvar koşullarının yetersizliğinden mümkün olamamıştır. Bazı çalışmalarda IL2 veya bileşiği IL2 reseptörünün artışının sadece NS patofizyolojisi ile değil aynı zamanda MDR-1 gen ve ürünü p-gp ekspresyonunu artırarak steroid direnci oluşturduğundan bahsetmektedir (97).

Çoklu ilaç direnci hem klinisyenler hem de kanser alanındaki araştırmacılar tarafından yaygın olarak araştırılan bir konu olmuştur. Ancak steroid direncini değerlendirmede NS'li hastalar üzerinde yapılan çalışmalar çok sınırlıdır ve hala veriler çok yeterli değildir.

İnsan MDR-1 geni ilaçların etkinliğinde görev alan p-glikoproteini kodlar. MDR-1 polimorfizmi p-glikoproteinin ekspresyonunu ve fonksiyonunu etkileyebileceği gibi ilaç rezistansında kişisel değişiklikleri belirler (98).

P-glikoproteini (p-gp) kodlayan insan MDR-1 geni kemoterapötik ajanlara karşı gelişen çoklu ilaç direncinde rol oynamaktadır. P-gp pekçok ilaç ve ksenobiyotiğin farmakokinetiklerini de etkilemektedir. Bugüne kadar MDR-1 geninin kodlayıcı bölgesinde P-gp fonksiyonunu etkileyebilen 60'dan fazla tek nükleotid polimorfizmi (SNP) tanımlanmıştır. Ancak bu polimorfizmlerin P-gp fonksiyonu üzerine etkisinin klinik önemi tam olarak anlaşılamamıştır. Chiou ve ark. (99) yaptıkları çalışmada 58'i steroide duyarlı, 16'sı dirençli 74 İNS'li çocuğu değerlendirmişlerdir. Çalışmamızda olduğu gibi MDR-1 G2677T/A, C3435T, CYP3A5 ve A6986G polimorfizmlerinde iki grup arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır.

P-glikoprotein ekspresyonu siklosporin A tarafından modifiye edilebilir. Literatür verileri siklosporin A'nın p-gp substratı ve yarışmalı inhibitörü olduğunu göstermektedir (80, 81). Glukokortikoid tedavisi p-gp ekspresyonunu indükleyebildiğinden uzun süre steroid tedavisi alan hastalarda tedaviye kötü cevaba veya steroid direncine sebep olabileceği bildirilmiştir. Klinik çalışmalar oral prednizolon tedavisine cevapsız olgularda pulse metilperdnizolonun etkili olduğunu göstermiştir. Prednizolon tedavisi sırasında p-gp ekspresyonun 8 kattan fazla arttığı ve remisyonda glukokortikoid kesilmesinden 8 hafta sonrasına kadar yüksek kalmaya devam ettiğide bildirilmiştir (100).

Wasilewska ve ark. (91) yaptığı çalışmada 20 NS'li hastanın prednizolon dozu azaltılırken oluşan relapsda verilen siklosporin ve ACE inhibitörü tedavisi öncesinde, 3. ayında ve 12 ay sonrasında flow sitometri ile CD3/p-gp düzeyleri ölçülmüştür. CD3/p-gp düzeyleri ile siklosporin konsantrasyonu arasında güçlü bir negatif korelasyon tesbit edilmiş ve siklosporin+ACE inhibitörünün SRNS'li hastalarda p-gp ekspresyonunu inhibe ettiği sonucuna varılmıştır. Yine bu çalışma diğer bir çalışma daki gibi ilk kez relaps olan hastaların kontrol grubu ile karşılaştırıldığında p-gp düzeylerinin benzer olduğu tesbit edilmiştir (89). Çalışma steroid tedavisi sırasında p-gp düzeylerinde anlamlı artıştan bahsetmektedir. Çalışmamızda da hastaların tedavi başında MDR-1 ekspresyonları kontrol grubuna benzer düzeyde iken tedavi sonunda azalmakta ancak bu değişim istatistiksel olarak anlamlı değildi.

P-glikoproteinin HIV infeksiyonunda, inflamatuvar barsak hastalıklarında, SLE ve ITP gibi otoimmün olaylarda da rolü vardır (101-104). Çoklu ilaç direnç geni romatoid artirit gibi otoimmün hastalıklarda da bahsedilmektedir. Jorgensen ve ark. (105) üç immünsüpresif ilaçla tedavi edilen romatoid artiritli hastalarda sinovyumda yüksek p-gp mRNA düzeylerini bildirmişlerdir.

Diğer araştırmacılar astım ve inflamatuvar barsak hastalıklarında immün hücrelerde p-glikoprotein yüksek ekspresyonu sonucu steroidin hücre dışına atılıp; azalmış sitoplazmik steroid konsantrasyonu nedeniyle yetersiz terapatik etki ve direnç gelişiminden bahsetmektedir (102, 106).

Wasilewska ve ark. (89) yaptığı çalışmada 18 NS'li çocuk hasta steroid tedavisi almadan, tedavinin 3-4. haftasında, tedavi bitiminden iki ay sonrasında ve 18 sağlıklı kontrol grubunda CD3 lenfositlerde flow sitometriyle p-gp düzeyleri değerlendirilmiştir. NS'li grupta atakta kontrol grubuna göre p-gp düzeyleri anlamlı yüksek iken remisyonda azaldığı ancak kontrol grubundaki düzeye kadar düşmediği bulunmuştur. Çalışmamızda daha duyarlı olan PCR yöntemi ile ölçülen MDR-1 ekspresyonu düzeylerinin tedavi başında kontrol grubuna benzer bulunan değerlerin tedavinin dördüncü haftasında ve sonunda giderek azaldığı ancak bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü. Aynı çalışmada NS ilk atakta NS'li hastaların p-gp ekspresyonlarının sağlıklı gruptan farklı olmadığı, ancak relaps sıklığı arttıkça p-gp ekspresyonunun anlamlı arttığı görülmüştür. Çalışmada total prednisolon dozu ile p-

gp ekspresyonu arasında pozitif korelasyonunda olduğu doğrulansa da, çalışmamızda steroid tedavisi altındaki hastalarda tedavinin dördüncü haftasında bakılan değerlerin tedavi başındaki değerlere göre giderek azaldığı ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü.

Aktive T hücreleri sitokin, interlökin, vasküler ve glomerüler permeabilite faktörleri gibi birçok faktör oluşturarak nefrotik sendrom patogenezinde önemli bir rol almaktadır (84, 107). Çalışmada aktive T hücrelerini içeren periferik kandaki lenfositlerin nefrotik sendrom patogenezinde önemli rol oynadığını düşünerek; periferik kanda protein ölçümüne göre daha duyarlı bir yöntem olan PCR ile MDR-1 geni mRNA düzeylerine bakılmıştır. 2008 yılında yapılan benzer bir çalışmada ilk atak sırasında mRNA düzeylerinin remisyondan yüksek olduğu bulunmuştur (83). IL-2 MDR-1'e özel transkripsiyonal faktörleri sitoplazmadan çekirdeğe geçişini artırarak MDR-1 ekspresyonunun artışı indükler (108). NS'nin ilk fazında IL-2 yüksek seviyelerde olduğu bilinmekte; buna göre hastalığın aktivitesi MDR-1 ekspresyonunu artırarak steroid duyarlı NS'li hastaların steroid duyarlılığını etkileyebilir (83). Aksine yapılan çalışmalarda IL-2 nin komplet remisyonda düzeldiği gösterilmiştir (85). MDR-1 mRNA ekspresyonunun NS'li hastalarda çalışmamızda olduğu gibi kontrol grubuna benzer değerlerde olduğu gösterilmiştir (83).

Nefrotik sendromlu hastaların tedavisinde ilk seçenek olarak steroid başlanır. Steroid tedavisine verilen cevaba göre hastanın izlemi planlanır. Steroid bu hastalarda immünsüpresif etki göstererek proinflamatuvar sitokinleri azaltır, antiinflamatuvar sitokinleri artırarak etki göstermektedir (80). Steroidler bu etkilerini özellikle lökositlerdeki sitoplazmadan çekirdeğe taşınarak göstermektedir. Steroid tedavisine cevabın gözlenmesinde, steroidlerin hücre içine alınmasında ve hücre stoplazmasından atılmasında sorumlu faktörlerin etkili olduğu bilinmektedir. Bu aşamada rol alan p-glikoprotein glukortikoidin hücre içinden atılımında temel rol oynar (81). P-gp aynı zamanda glikokortikoidleride içeren ilaçların dağılımında anahtar role sahiptir (82). Yapılan bir çalışmaya göre steroid duyarlı nefrotik sendromlularda tanı, relaps ve tam remisyon sırasında P-gp'nin steroid gereksinim dozunda değişiklikte rol oynadığı bildirilmiştir (83). P-gp'nin yüksek ekspresyonu, prednisolonun hücre stoplazmasından dışarı atılımını sağlayan pompa fonksiyonu göstermesiyle glikokortikoid resistansını oluşturur (83). P-gp MDR-1 geninin

kodladığı membran geçişini düzenleyici bir glikoproteindir. Çalışmamızda nefrotik sendrom patogenezinde önemli rol oynadığı hipoteziyle periferik kan hücrelerinde MDR-1 geni mRNA seviyeleri gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak ölçülmüştür. Steroid verilen nefrotik sendromlu çocuklarda tanı anında, remisyona giren olgularda ve steroide dirençli olgularda MDR-1 geni mRNA çalışılarak, MDR-1 geni mRNA ekspresyonunun steroid tedavisine cevabın belirlenmesinde etkili olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmanın sonucunda steroid tedavisinde direnç gelişmesinde katkısı olduğu düşünülen p-glikoproteini kodlayan MDR-1 geni mRNA düzeyi hem sağlıklı kontrol grubunda hemde SRNS ve SSNS grubunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi. Ancak MDR-1 geni mRNA ekspresyonu ile birlikte p-glikoprotein düzeyinin aynı anda bakılmaması çalışmanın bir eksiğidir.

Bundan sonraki çalışmalarda daha çok olguda MDR-1 geni mRNA'sı ile birlikte p-glikoprotein düzeyinin çalışılması yararlı bilgilere ulaşılmasını sağlayacaktır.

5. KAYNAKLAR

1. Nash MA, Edelman CM, Bernstein J, Barnett HL. The nephrotic syndrome. *Pediatric Kidney Disease*. Edelman CM (Editor), Boston: Little, Brown and Co, 1992: 1247–1290.
2. Vogt BA, Avner ED. Nephrotic Syndrome. Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB (editors). *Nelson Textbook of Pediatrics*. 17th Edition 2011: 1801–1807.
3. Charmandari E, Kino T, Chrousos GP. Familial/sporadic glukokortikoid resistance: clinical phenotype and molecular mechanisms. *Ann NY Acad Sci* 2004; 1024: 168–181.
4. Fan Q, Xing Y, Ding J, Guan N, Zhang J. The relationship among nephrin, podocin, CD2AP, and alpha-actinin might not be a true ‘interaction’ in podocyte. *Kidney Int* 2006; 69: 1207–1215.
5. Jafar T, Prasad N, Agarwal V, Mahdi A, Gupta A, Sharma RK, et al. MDR-1 gene polymorphisms in steroid-responsive versus steroid-resistant nephrotic syndrome in children. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26: 3968–3974.
6. Wasilewska A, Zalewski G, Chyczewski L, Zoch-Zwierz W. MDR-1 gene polymorphisms and clinical course of steroid-responsive nephrotic syndrome in children. *Pediatr Nephrol* 2007; 22: 44–51.
7. Bergstein J. Glomerular diseases. Nelson E, Behrman E (editors). *Textbook of Pediatrics*. Philadelphia, WB Saunders Comp, 1996: 1500–1502.
8. Gbadegesin R, Smoyer WE. Nephrotic syndrome. Geary DF, Schaefer F (editors). *Comprehensive Pediatric Nephrology*. 1st Ed. Philadelphia: Mosby, 2008: 205–213.
9. Eddy AA, Symons JM. Nephrotic syndrome in childhood. *Lancet* 2003; 362: 629–639.
10. Kher KK, Schnaper HW, Makker SP. *Clinical Pediatric Nephrology*. Second Edition, 2006: 196–259.

11. Martin AN, Edelmann CM, Berstein J, Barnett H. The nephrotic syndrome. Edelmann CM (editors). *Pediatric Kidney Disease*. 2nd Ed, Boston: Little Brown and Company, 1992: 1274–1290.
12. Valentini RP, Smoyer WE. Nephrotic syndrome. Kher KK, Schnaper HW, Makker SP (editors). *Clinical Pediatric Nephrology*. 2nd Ed, London: Informa UK Ltd, 2007: 155–194.
13. Holmberg C, Tryggvason K, Kestila MK, Jalanko HJ. Glomerular disease. Nephrology, Avner E (editors). 5 th Edition, New York: Lippincott Williams and Wilkins, 2004: 501–664.
14. Niaudet P. Steroid resistant idiopathic nephrotic syndrome. Barratt TM, Avner ED, Harmon WE (editör). *Pediatr Nephrol* 4th Ed, Baltimore: Lipincott Williams and Wilkins, 1999: 749–764.
15. Troyanov S, Wall CA, Miller JA, Scholey JW, Cattran DC. Idiopathic membranous nephropathy: definition and relevance of a partial remission. *Kidney Int* 2004; 66: 1199–1205.
16. Avner. *Pediatric nephrology*. Sixth Edition Niaudet P. Steroid sensitive idiopathic nephrotic syndrome in children. Avner ED, Harmon WE, Niaudet P (editors) *Pediatric Nephrology*. USA: Lippincott Williams& Wilkins, 2009: 643–667.
17. ISKDC, International study of kidney disease in children. 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: 765–771.
18. Niaudet P. Treatment of childhood steroid-resistant idiopathic nephrosis with a combination of cyclosporine and prednisone. *French Society of Pediatric Nephrology. J Pediatr* 1994; 125: 981–986.
19. International Study Group of Kidney Diseases in Children. The primary nephrotic syndrome in children. Identification of patients with minimal change nephrotic syndrome from initial response to prednisone. *J Pediatr* 1981; 98: 765–771.

20. Lombel RM, Hodson EM, Gipson DS. Treatment of steroid-resistant nephrotic syndrome in children: new guidelines from KDIGO. *Pediatr Nephrol* 2012; 12: 230–2308.
21. Saleem MA. New developments in steroid resistant nephrotic syndrome. *Pediatric Nephrology* 2012; 12: 2239–2240.
22. Kaysen GA, Gambertoglio J, Felts J, Hutchinson FN. Albumin synthesis, albuminuria and hyperlipidemia in nephrotic patients. *Kidney Int* 1987; 31: 1368–1376.
23. Cohen J, Harrington JT, Kassirer JP. Is renal biopsy necessary for optimal management of the idiopathic nephrotic syndrome? *Kidney Int* 1983; 24: 561–575.
24. Bagga A, Mantan M. Nephrotic syndrome in children. *Indian J Med Res* 2005; 122: 13–28.
25. Mathieson PW. Immune dysregulation in minimal change nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 26–29.
26. Kalman S. Çocukluk çağında steroide dirençli nefrotik sendromda önemli bir neden: fokal segmental glomeruloskleroz ve tedavi yaklaşımları. *Klinik Pediatri* 2004; 3: 31–36.
27. Candiano G, Musante L, Zennaro C, Bruschi M, Carraro M, Artero M, et al. Inhibition of renal permeability towards albumin: a new function of apolipoproteins with possible pathogenetic relevance in focal glomerulosclerosis. *Electrophoresis* 2001; 22: 1819–1825.
28. Schwarz K, Simons M, Reiser J, Saleem MA, Faul C, Kriz W, et al. Podocin, a raft-associated component of the glomerular slit diaphragm, interacts with CD2AP and nephrin. *J Clin Invest* 2001; 108: 1583–1587.
29. Roselli S, Gribouval O, Boute N, Sich M, Benessy F, Attie T, et al. Podocin localizes in the kidney to the slit diaphragm area. *Am J Pathol* 2002; 160: 131–139.
30. Weber S, Gribouval O, Esquivel EL, Moriniere V, Tete MJ, Legendre C, et al. NPHS2 mutation analysis shows genetic heterogeneity of steroid resistant NS and low post-transplant recurrence. *Kidney Int* 2004; 66: 571–579.

31. Vats AN. Genetic of idiopathic nephrotic syndrome. *Indian J Pediatr* 2005; 72: 777–783.
32. Krämer BK. Ramipril in non-diabetic renal failure (REIN study). *The Lancet* 1997; 350: 736.
33. MacKinnon M, Shurraw S, Akbari A, Knoll GA, Jaffey J, Clark HD. Combination therapy with an angiotensin receptor blocker and an ACE inhibitor in proteinuric renal disease: a systematic review of the efficacy and safety data. *Am J Kidney Dis* 2006; 48: 8–20.
34. Coleman JE, Watson AR. Hyperlipidaemia, diet and simvastatin therapy in steroid-resistant nephrotic syndrome of childhood. *Pediatr Nephrol* 1996; 10: 171–174.
35. MacDonald NE, Wolfish N, McLaine P, Phipps P, Rossier E. Role of respiratory viruses in exacerbations of primary nephrotic syndrome. *J Pediatr* 1986; 108: 378–382.
36. Saatçi Ü, Beşbaş N (editörler). *Primer Nefrotik Sendromda Tedavi Yaklaşımları*. Ankara: Çocuk Nefrolojisi Derneği, 1990: 62–63.
37. Skálová S, Podhola M, Vondrák K, Chernin G. Plasmapheresis-induced clinical improvement in a patient with steroid-resistant nephrotic syndrome due to podocin (nphs2) gene mutation. *Acta Medica* 2010; 53: 157–159.
38. Mendoza SA, Reznik VM, Griswold WR, Krensky AM, Yorgin PD, Tune BM. Treatment of steroid-resistant focal segmental glomerulosclerosis with pulse methylprednisolone and alkylating agents. *Pediatr Nephrol* 1990; 4: 303–307.
39. Mendoza SA, Tune BM. Treatment of childhood nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 1992; 3: 889–894.
40. Mendoza SA, Tune BM. Management of the difficult nephrotic patient. *Pediatr Clin North Am* 1995; 42: 1459–1468.
41. Yorgin PD, Krasher J, Al-Uzri AY. Pulse methylprednisolone treatment of idiopathic steroid-resistant nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2001; 16: 245–250.

42. Gulati S, Kher V. Intravenous pulse cyclophosphamide –a new regime for steroid resistant focal segmental glomerulosclerosis. *Indian Pediatr* 2000; 37: 141–148.
43. Gulati S, Pokhariyal S, Sharma RK, Elhence R, Kher V, Pandey CM, Gupta A. Pulse cyclophosphamide therapy in frequently relapsing nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 2013–2017.
44. Guesry P, Lenior G, Broyer M. Gonadal effect of chlorambucil given to prepubertal and pubertal boys for nephrotic syndrome. *J Pediatr* 1978; 92: 299–303.
45. Callis L, Nieto J, Vila A, Rende J. Chlorambucil treatment in minimal lesion nephrotic syndrome: a reappraisal of its gonadal toxicity. *J Pediatr* 1980; 97: 653–656.
46. Ambalavanan S, Fauvel JP, Sibley RK, Myers BD. Mechanism of the antiproteinuric effect of cyclosporine in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7: 290–298.
47. Heering P, Schneider A, Grabensee B, Plum J. Effect of cyclosporin A on renal function in patients with glomerulonephritis. *Dtsch Med Wochenschr* 2001; 126: 1093–1098.
48. Otukesh H, Otukesh S, Mojtahedzadeh M, Hoseini R, Fereshtehnejad SM, Fard RA, et al. Management and outcome of steroid-resistant nephrotic syndrome in children. *Iran J Kidney Dis* 2009; 3: 210–217.
49. Westhoff TH, van der Giet M. Tacrolimus in the treatment of idiopathic nephrotic syndrome. *Expert Opin Investig Drugs* 2007; 16: 1099–1110.
50. Novak I, Frank R, Vento S, Vergara M, Gauthier B, Trachman H. Efficacy of mycophenolate mofetil in the pediatric patients with steroid-dependent nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2005; 20: 1265–1268.
51. Gulati A, Sinha A, Jordan SC, Hari P, Dinda AK, Sharma S, et al. Efficacy and safety of treatment with rituximab for difficult steroid-resistant and dependent nephrotic syndrome: multicentric report. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5: 2207–2212.
52. Magnasco A, Ravani P, Edefonti A, Murer L, Ghio L, Belingheri M, et al. Rituximab in children with resistant idiopathic nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2012; 23: 1117–1124.

53. Remuzzi A, Puntorieri S, Battaglia C, Bertani T, Remuzzi G. Angiotensin converting enzyme inhibition ameliorates glomerular filtration of macromolecules and water and lessens glomerular injury in the rat. *J Clin Invest* 1990; 85: 541–549.
54. Remuzzi A, Peticucci E, Ruggenti P, Mosconi L, Limonta M, Remuzzi G. Angiotensin converting enzyme inhibition improves glomerular size-selectivity in IgA nephropathy. *Kidney Int* 1991; 39: 1267–1273.
55. Salcedo JR, Thabet MA, Latta K, Chan JC. Nephrosis in childhood. *Nephron* 1995; 71: 373–385.
56. Schimmer BP, Parker KL. Adrenocorticotrophic hormone; adrenocortical steroids and their synthetic analogs; inhibitors of the synthesis and actions of adrenocortical hormones. Hardman JG, Limbird LE, (editors). *Goodman's & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. New York: McGraw–Hill, 1996: 1459–1485.
57. Wilder RL. Corticosteroids. Koopman WJ (editor). *Arthritis and Allied Conditions*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1997: 731–760.
58. Kayaalp O: *Tibbi Farmakoloji*. Ankara: Hacettepe-Taş, 2002: 1227–1245.
59. Kirwan JR. Systemic corticosteroids in rheumatology. Klippel JH, Dieppe PA, (editors). *Rheumatology*. London: Mosby–Year Book, 1994: 8: 1–6.
60. Krane S. Some molecular mechanisms of glucocorticoid action. *Br J Rheumatol* 1993; 32: 3–5.
61. Eichelbaum M, Fromm MF, Schwab M. Clinical Aspects of the MDR-1 (ABCB1) Gene Polymorphism. *Ther Drug Monit* 2004; 26: 180–185.
62. Fromm MF. Genetically determined differences in P-glycoprotein function: Implications for disease risk. *Toxicology* 2002; 181-182: 299–303.
63. Fromm MF. The influence of MDR-1 polymorphisms on P-glycoprotein expression in humans. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2002; 54: 1295–1310.
64. Marzolini C, Paus E, Buclin T, Kim RB. Polymorphisms in human MDR-1 (P glycoprotein): recent advances and clinical relevance *Clin. Pharmacol. Therapeutics* 2004; 75: 13–33.

65. Sakaeda T, Nakamura T, Okumura K. MDR-1 Genotype–Related Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. *Biol Pharm Bull* 2002; 25: 1391–1400.
66. Kaya P, Gündüz U, Arpacı F, Ural AU, Guran S. Identification of Polymorphisms on the MDR-1 gene among Turkish population and their effects on multidrug resistance in acute leukemia patients. *Am J Hematol* 2005; 80: 26–34.
67. el-Osta A, Kantharidis P, Zalberg J. Absolute quantitation of MDR-1 transcripts using heterologous DNA standards: Validation of the competitive RT-PCR (CRT-PCR) approach. *Biotechniques* 1999; 26: 1114–1122.
68. Ambudkar SV, Kimchi-Sarfaty C, Sauna ZE, Gottesman MM. P-glycoprotein: from genomics to mechanism. *Oncogene* 2003; 22: 7468–7485.
69. Mickley LA, Lee JS, Weng Z, Zhan Z, Alvarez M, Wilson W, et al. Genetic polymorphism in MDR-1: a tool for examining allelic expression in normal cells, unselected and drug-selected cell lines, and human tumors. *Blood* 1998; 91: 1749–1756.
70. Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold HP, Brockmöller J, John A, et al. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 3473–3478.
71. Tang K, Ngoi SM, Gwee PC, Chua JM, Lee EJ, Chong SS, et al. Distinct haplotype profiles and strong linkage disequilibrium at the MDR-1 multidrug transporter gene locus in three ethnic Asian populations. *Pharmacogenetics* 2002; 12: 437–450.
72. Sailaja K, Surekha D, Rao DN, Raghunadharao D, Vishnupriya S. Association of MDR-1 gene polymorphism (G2677T) with chronic myeloid leukemia 2010; 2: 17–21.
73. Wang J, Zeevi A, McCurry K, Schuetz E, Zheng H, Iacono A, et al. Impact of ABCB1 (MDR-1) haplotypes on tacrolimus dosing in adult lung transplant patients who are CYP3A5 *3/*3 nonexpressors. *Transplant Immunology* 2006; 15: 235–240.
74. Coelho JC, Tucker R, Mattoon J, Roberts G, Waiting DK, Mealey KL. Biliary excretion of technetium-99m-sestamibi in wild-type dogs and in dogs with intrinsic

- (ABCB1-1Delta mutation) and extrinsic (ketoconazole treated) P-glycoprotein deficiency. *J Vet Pharmacol Ther* 2009; 32: 417-421.
75. Kannan P, John C, Zoghbi SS, Halldin C, Gottesman MM, Innis RB, et al. Imaging the function of P-glycoprotein with radiotracers: pharmacokinetics and in vivo applications. *Clin Pharmacol Ther* 2009; 86: 368-377.
 76. Choudhuri S, Klaassen CD. Structure, function, expression, genomic organization, and single nucleotide polymorphisms of human ABCB1 (MDR-1), ABCC (MRP) and ABCG2 (BCRP) efflux transporters. *Int J Toxicol* 2006; 25: 231-259.
 77. Ejsing TB, Hasselstrom J, Linnet K. The influence of P-glycoprotein on cerebral and hepatic concentrations of nortriptyline and its metabolites. *Drug Metabol Drug Interact* 2006; 21: 139-162.
 78. Hee GK. Treatment of steroid-resistant pediatric nephrotic syndrome. *Korean J Pediatr* 2011; 54: 317-321.
 79. Carlotti AP, Franco PB, Elias LL. Glucocorticoid receptors, in vitro steroid sensitivity, and cytokine secretion in idiopathic nephrotic syndrome. *Kidney Int* 2004; 65: 403-408.
 80. Iudicibus S.D, Franca R, Martelossi S. Molecular mechanism of glucocorticoid resistance in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 1095-1108.
 81. Ueda K, Okamura N, Hirai M. Human P-glycoprotein transports cortisol, aldosterone, and dexamethasone, but not progesterone. *Biol Chem* 1992; 267: 24.248-24.252.
 82. Sukhai M, Piquette-Miller M. Regulation of the multidrug resistance genes by stress signals. *Pharm Pharm Sci* 2000; 3: 268-280.
 83. Funaki S, Takahashi S, Wada N, Murakami H, Harada K. Multiple drug-resistant gene 1 in children with steroid-sensitive nephrotic syndrome. *Pediatr Int* 2008; 50: 159-161.
 84. Grimbert P, Audard V, Remy P, Lang P, Sahali D. Recent approaches to the pathogenesis of minimal-change nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 245-248.

85. Shimoyama H, Nakajima M, Naka H. Up-regulation of interleukin-2 mRNA in children with idiopathic nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2004; 19: 1115–1121.
86. Youssef DM, Elbehidy RM, Abdelhalim HS, Amr GE. Soluble interleukin-2 receptor and MDR-1 gene expression levels as inflammatory biomarkers for prediction of steroid response in children with nephrotic syndrome. *Iran J Kidney Dis* 2011; 5: 154–161.
87. Stachowski J, Zanker CB, Runowski D, Zaniew M, Peszko A, Medyńska A, et al. Resistance to therapy in primary nephrotic syndrome: effect of MDR-1 gene activity. *Pol Merkuriusz Lek* 2000; 8: 218–221.
88. Schwartz GJ, Haycock GB, Edelmann CM. A simple estimate of glomerular filtration rate in children derived from body length and plasma creatinine. *Pediatrics* 1976; 58: 259.
89. Wasilewska A, Zoch-Zwierz W, Pietruczuk M. Expression of P-glycoprotein in lymphocytes of children with nephrotic syndrome treated with glucocorticoids. *Eur J Pediatr* 2006; 165: 839-844.
90. Mortazavi F, Khiavi YS. Steroid response pattern and outcome of pediatric idiopathic nephrotic syndrome: a single-center experience in northwest Iran. *Therapeutics and Clinical Risk Management* 2011; 7: 167–171.
91. Wasilewska A, Zoch-Zwierz W, Pietruczuk M. Expression of multidrug resistance P-glycoprotein on lymphocytes from nephrotic children treated with cyclosporine A and ACE-inhibitor. *Eur J Pediatr* 2007; 166: 447-452.
92. Gulati S, Kher V, Sharma RK, Gupta A. Steroid response pattern in Indian children with nephrotic syndrome. *Acta Pediatr* 1994; 83: 530–533.
93. Mekahli D, Liutkus A, Ranchin B. Long-term outcome of idiopathic steroid resistant nephrotic syndrome: a multicenter study. *Pediatr Nephrol* 2009; 24: 1525–1532.
94. Safaei A, Maleknejad S. Spectrum of childhood nephrotic syndrome in Iran: a single center study. *Indian J Nephrol* 2009; 19: 87–90.

95. Chang JW, Tsai HL, Wang HH, Yang LY. Clinicopathological features and prognosis of Chinese children with idiopathic nephrotic syndrome between different age groups. *Eur J Pediatr* 2009; 168: 1189–1194.
96. Ejaz I, Khan HI, Javaid BK, Rasool G, Bhatti MT. Histopathological diagnosis and outcome of pediatric nephrotic syndrome. *J Coll Physicians Surg Pak* 2004; 14: 229–333.
97. Tsujimura S, Saito K, Nakayamada S, Nakano K, Tanaka Y. Clinical relevance of the expression of P-glycoprotein on peripheral blood lymphocytes to steroid resistance in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 1676-1683.
98. Eichelbaum M, Fromm MF, Schwab M. Clinical aspects of the MDR-1 (ABCB1) gene polymorphism. *Ther Drug Monit* 2004; 26: 180–185.
99. Chiou YH, Wang LY, Wang TH, Huang S. Genetic polymorphisms influence the steroid treatment of children with idiopathic nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2012; 27: 1511–1517.
100. Wasilewska A, Zoch-Zwierz W, Pietruczuk M, Zalewski G. Expression of P-glycoprotein in lymphocytes from children with nephrotic syndrome, depending on their steroid response. *Pediatr Nephrol* 2006; 21: 1274-1280.
101. Diaz-Borjon A, Richaud-Patin Y, Alvarado de la Barrera C, Jakez-Ocampo J, Ruiz-Arguelles A, Llorente L. Multidrug resistance-1 (MDR-1) in rheumatic autoimmune disorders. Part II: increased P-glycoprotein activity in lymphocytes from systemic lupus erythematosus patients might affect steroid requirements for disease control. *Joint Bone Spine* 2000; 67: 40–48.
102. Farrell RJ, Kelleher D. Glucocorticoid resistance in inflammatory bowel disease. *J Endocrinol* 2003; 178: 339–346.
103. Lee CG, Gottesman MM. HIV-1 protease inhibitors and the MDR-1 multidrug transporter. *J Clin Invest* 1998; 101: 287–288.
104. Levy AS, Cunningham-Rundles S, Mazza B, Simm M, Gorlick R, Bussel J. High P-glycoprotein-mediated export observed in patients with a history of idiopathic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 2002; 118: 836–838.

105. Jorgensen C, Sun R, Rossi JF, Costes J, Richard D, Bologna C, Sany J. Expression of a multidrug resistance gene in human rheumatoid synovium. *Rheumatol Int* 1995; 15: 83–86.
106. Montano E, Schmitz M, Blaser K, Simon HU. P-glycoprotein expression in circulating blood leukocytes of patients with steroid-resistant asthma. *J Investig Allergol Clin Immunol* 1996; 6: 14–21.
107. Matsumoto K, Kanmatsuse K. Interleukin-18 and interleukin-12 synergize to stimulate the production of vascular permeability factor by T lymphocytes in normal subjects and in patients with minimal-change nephrotic syndrome. *Nephron* 2000; 85: 127–133.
108. Tsujimura S, Saito K, Nakayamada S. Transcriptional regulation of multidrug resistance-1 gene by interleukin-2 in lymphocytes. *Genes Cells* 2004; 9: 1265–1273.

6. EKLER

EK-1

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

(Hekimin Açıklaması)

Bu çalışma steroid duyarlı nefrotik sendromlu hastada tanı anında, nükste ve hastalık belirtilerinin hafiflemesi veya kaybolması sırasında periferik kanda MDR-1 gen mRNA çalışılarak, nefrotik sendromlu çocuklarda MDR-1 geni mRNA ekspresyonunun steroid tedavisine cevabın belirlenmesinde etkili olup olmadığını belirlemek amaçlanmaktadır.

Araştırmanın ismi: Nefrotik sendromlu çocuklarda MDR-1 geni mRNA ekspresyonunun steroid tedavisine cevabın belirlenmesinde rolü.

Sizin de bu araştırmaya katılmanızı öneriyoruz. Ancak bu araştırmaya katılıp katılmamakla serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Araştırmaya davet edilmenizin nedeni çocuğunuzda nefrotik sendrom bulunmasıdır. Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Nefroloji Bilim Dalı ve Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nın ortak katılımı ile bu hastalığın tedavisi ve yapılan tedavinin takibi fizik muayene ve laboratuvar testleri ile yapılacaktır.

Nefrotik sendrom glomerül kapiller duvarının seçici geçirgen özelliğindeki değişiklikler sonucu oluşan; idrar ile ağır protein kaybı, kan proteinlerindeki düşüklük, ödem (vücutta şişlik) ve kolesterol yüksekliği ile karakterize çocukluk çağının en sık görülen kronik böbrek hastalıklarından biridir. Bu hastalıkta birinci basamak tedavimiz olan steroidler (kortizon) kullanılmaktadır.

Sizin çocuğunuz için etkin olacak tedavi şekli doktorunuz tarafından belirlenecektir. Çocuğunuzla birlikte çalışmaya katılmanızda tanıyı koymak için tüm hastalarda yapılan kan ve idrar tetkikleri yapıp, tedavileri diğer hastalar gibi yapılacaktır. Hastanızın rutin tetkikleri yapıldığı sırada alınan kan örneklerinden iki cc bu çalışma için kullanılacaktır. Yalnızca MDR-1 Geni mRNA düzeyi bakılacaktır. Çocuğunuzla birlikte yaklaşık 40 çocuğun tedavisi benzer testler yapılarak tarafımızdan gerçekleştirildi.

Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler: İğne batmasına bağlı olarak az bir acı duyulabilir. Az bir ihtimal de olsa iğne batması sonrasında kanamanın uzaması veya enfeksiyon riski vardır.

Çalışmanın devamı sırasında ortaya çıkabilecek sorun ve riskler hastanın ebeveyni/sorumlusuna iletilecektir.

Çocuğunuzun tanısı konduktan sonra uygulanacak tedavi şekli doktorunuz tarafından belirlenip tedavi başlatılacaktır. Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır.

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide, takip aralıklarında ve alınan kan örneklerinde herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahipsiniz.

(Katılımcının/Hastanın Beyanı)

Sayın Prf. Dr. Metin Kaya Gürgöze, Dr. Özgü Hançerli, Yrd. Doç. Dr. Murat Kara tarafından yürüteceği ve tıbbi bir araştırma yapılabileceği belirtilerek bu araştırmayla ilgili bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya bilgilendirilerek "katılımcı" (denek) olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi. Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağını bilincindeyim). Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması

halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi.
(Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda, herhangi bir saatte;
Dr. Özgü Hançerli, (0-424-2333555-2315) ve FÜ Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve
Hastalıkları AD'nı arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya
katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı
reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir
zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi
başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde
“katılımcı” olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti memnuniyet ve
gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Katılımcı (Veli)

Adı, soyadı :

Adres :

Telefon :

İmza :

Görüşme tanığı

Adı, soyadı :

Adres :

Tefefon :

İmza :

Katılımcı ile görüşen hekim

Adı soyadı :

Ünvanı :

Adres :

Telefon :

İmza :

Hastanın

Adı soyadı :

Doğum tarihi :

Adres :

Telefon :

İmza :

EK-2 NEFROTİK SENDROMLU HASTA DEĞERLENDİRME FORMU

Adı:	Protokol No:
Soyadı:	Adres:
Cinsiyeti:	Tlf:
Doğum tarihi/yaşı:	Boy: cm (p)
Tanı tarihi/hastalık başlama yaşı:	Ağırlık: kg (p)
Kan alınma tarihi:	Tansiyon:
Özgeçmiş: Soygeçmiş:	

Fizik muayene: Patolojik bulgular:
Ödem: Hipertansiyon: Var () Yok ()
Laboratuvar: TİT: Hematüri: Var()mikroskopik/makroskopik Yok() Protein (dipstik): Spot idrar proteinüri: Başlangıç proteinüri (24h.): T.prot (g/dl): Albümin (g/dl): Üre (mg/dl): Kreatin (mg/dl): Kolesterol (mg/dl): Trigliserid (mg/dl): Beyaz küre sayısı: Formülü (%): Hemoglobin (g/dl): Trombosit (plt/mm ³): ANA: AntiglomerülerBM Ab: C3: C4: HBsAg: Anti HBs:
GFR (Schwartz): tanı anında tedavinin 4. haftası remisyonunda (tedavinin sonunda)
Proteinuri : Uprotein / Ukreatin: Albumin:
Renal USG:

Genetik Sonuçları: Nefrin mutasyonu: Podosin mutasyonu: MDR-1: mRNA ekspresyonu: tanı anında: tedavinin 4. haftası sonunda: remisyonunda(tedavinin sonunda):

Almış olduğu tedaviler:			
Relaps sayısı:			
KS tedavisine yanıtı:	Yanıtlı ()	Bağımlı ()	Dirençli ()
Siklofosfamid kullanımı:		Süresi:	Yanıtı:
Siklosporin kullanımı:		Süresi:	Yanıtı:
ACEI kullanımı:			
Böbrek yetmezliği:	Var ()	Yok ()	
Biyopsi tarihi:			
Biyopsi sonucu:			

EK 3. Nefrotik sendromlu hasta (1–40) ve kontrol (41–62) mRNA sonuçları

	Adı	Dosya no	Tanı anında mRNA kopya/ μ gr RNA	Tedavinin 4. haftası sonunda kopya/ μ gr RNA	Remisyonda (tedavinin sonunda) kopya/ μ gr RNA
1	B.Ö.	834281	6,379194	.	.
2	S.K.	819655	2,032303	3,319603	3,017603
3	H.D.	846299	1,248211	1,766359	4,32321
4	Z.Y.	942210	3,929174	.	.
5	E.Ş.E.	783782	7,50437	-10,5367	-0,04131
6	Ş.K.	726509	4,583897	.	.
7	S.Ö.	957423	0,238773	1,926929	.
8	B.E.Y.	684532	3,461468	.	.
9	E.Ö.	968118	2,509729	0,9505	1,571493
10	K.İ.	829264	2,346676	2,061174	0,910032
11	D.P.	970306	4,828476	.	.
12	Y.Y.	484554	4,923243	3,918129	1,245771
13	Z.D.	776875	6,055452	6,605486	4,60985
14	E.B.	589539	6,509127	1,634262	1,573717
15	E.A.	541022	4,40132	2,319389	1,561745
16	U.U.	690047	5,649706	1,743855	1,776159
17	A.D.D.	856360	5,925457	6,374992	14,23208
18	H.B.G.	926383	-9,66904	.	.
19	S.B.	460219	7,279476	1,854475	3,537523
20	F.Ş.	988466	4,941431	.	.
21	T.A.	992538	2,813881	.	.
22	B.K.	845032	3,070467	-3,18726	4,881914
23	B.U.	996039	-1,48263	6,789557	8,460352
24	Ö.G.	998942	1,445358	11,26239	7,000429
25	N.A.	809278	-2,04743	7,412571	7,365023
26	Ö.Ş.	719014	2,657747	7,362358	-7,81109
27	M.B.	901361	6,993845	7,459242	6,824455
28	M.K.	727163	-2,02839	0,99767	2,746701
29	H.B.B.	928590	2,049639	.	.
30	E.Ç.	1008738	7,105633	.	.
31	Y.K.	1008248	-0,78524	-1,98107	-5,80534
32	Ö.F.M.	1008244	9,422831	8,775057	7,073208
33	M.İ.	1013434	2,49745	-1,70751	-2,56302
34	B.T.	425233	8,220898	2,541094	0,21536
35	M.K.	1016002	7,471754	1,498285	3,38747
36	Y.B.K.	1015787	4,525251	-0,49333	8,214123
37	B.A.	724631	-0,36142	6,949795	-1,22354
38	D.B.	1017675	-9,57791	10,65359	3,175919
39	M.N.U.	964314	-2,31596	.	.
40	O.Ş.C.A.	1029624	6,511862	.	.
41	M.A.D.	774934	6,193729	.	.
42	E.Y.	519324	5,394014	.	.
43	İ.T.	1039171	7,007492	.	.
44	E.D.	685992	7,700159	.	.
45	S.A.	922476	6,853275	.	.
46	U.S.	809498	0,14183	.	.
47	A.T.	1039641	5,32889	.	.
48	B.Ö.	1036365	5,750861	.	.
49	O.T.	1039642	4,73048	.	.
50	R.B.	1030609	4,981352	.	.
51	R.H.S.	958952	5,995956	.	.

52	H.A.	1039173	0,009	.	.
53	F.B.	712570	6,481703	.	.
54	F.B.	1006659	5,063759	.	.
55	I.T.	1039650	4,925787	.	.
56	N.T.	529120	6,655304	.	.
57	M.D.	677613	5,000708	.	.
58	E.D.	685992	-1,08728	.	.
59	M.E.A.	1039154	6,356274	.	.
60	R.K.	1039479	6,846424	.	.
61	L.T.	1039484	4,758137	.	.
62	E.B.	863228	0,14764	.	.

7. ÖZGEÇMİŞ

21.07.1980 tarihinde Ordu'da doğdum. Sakarya Atatürk İlköğretim okulunda okudum. Ortaokulun İngilizce hazırlık sınıfını Sakarya Anadolu Lisesi ve Ankara Çankaya Atatürk Anadolu Lisesinde okudum. Ortaokulu Ordu Anadolu Lisesinden mezun olarak bitirdim. Liseyi ilk tercihim olan Ordu Fen Lisesinde bitirdim. 1998 yılında üniversite sınavında ilk yüzde birlik dilime girerek ikinci tercihim Dokuz Eylül Tıp Fakültesine başladım. 2006 yılında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesinden mezun oldum. 2006 yılı Ekim ayında ilk görev yerim olan Bornova/İzmir Evka 3 Sağlık Ocağında çalışmaya başladım. Aralık 2008 tarihinde Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı araştırma görevlisi olarak eğitimime başladım.