

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

DENEYSEL NEFROTİK SENDROM'DA GHRELİN, sCD80
ve sCTLA-4'ün ROLÜ

Dr. Duygu ÖZKORUCU

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları
Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR
2012

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

DENEYSEL NEFROTİK SENDROM'DA GHRELİN, sCD80
ve sCTLA-4'ün ROLÜ

Dr. Duygu ÖZKORUCU

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları
Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŐMANI
Doç.Dr. Bilal YILDIZ

ESKİŞEHİR
2012

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr. Duygu ÖZKORUCU'ya ait "Deneysel Nefrotik Sendrom'da Ghrelin, sCD80 ve sCTLA-4'ün Rolü" adlı çalışma jürimiz tarafından Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih: 08.08.2012

Jüri Başkanı	Prof.Dr. Birsen UÇAR Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD
Üye	Prof.Dr. Enver ŐİMŐEK Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD
Üye	Doç.Dr. Bilal YILDIZ Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun
Tarih ve Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Bekir YAŐAR
Dekan

TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakóltesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana-bilim Dalında yapmış olduğum tıpta uzmanlık tezimin hazırlanması sırasındaki emek ve katkılarından dolayı tez danışmanım Doç.Dr. Bilal YILDIZ'a ve deneysel çalışmadaki katkılarından dolayı Doç.Dr. Başar SIRMAGÜL'e teşekkür ederim.

ÖZET

Özkorucu, D. Deneysel Nefrotik Sendrom'da Ghrelin, sCD80 ve sCTLA-4'ün Rolü. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıklar Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2012. Nefrotik sendromda serum ve idrar ghrelin, sCD80 ve sCTLA-4'ün rolleri ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada serum ve idrar ghrelin, sCD80 ve sCTLA-4 düzeylerinin ölçümü, bu belirteçlerin hastalığın immünolojik temeli ve etyopatogenezindeki rollerinin ortaya konması amaçlanmıştır. Çalışmaya adriamisin ile deneysel nefrotik sendrom (NS) oluşturulan 15 sıçan ve kontrol grubu olarak 13 sıçan alındı. Serum ve idrar ghrelin, sCD80 ve sCTLA-4 düzeyleri ELİSA yöntemi ile çalışıldı. Çalışma grupları arasında serum ghrelin düzeyleri açısından fark saptanmadı ($p>0,05$). NS'li grupta idrar ghrelin düzeyleri kontrol grubuna göre belirgin düşük saptandı (sırasıyla; 0,026 [0,012 - 0,19] ng/ml ve 0,68 [0,39 - 1,22] ng/ml, $p=0,0001$). Serum ve idrar sCD80 düzeylerinin NS'li grupta kontrol grubuna göre belirgin yüksek olduğu görüldü (sırasıyla; $514,01 \pm 234,20$ ng/ml ve $289,05 \pm 80,90$ ng/ml, $p=0,003$), (sırasıyla; 152,48 [114,36 - 265,27] ng/ml ve 10 [9,34 - 53,94] ng/ml, $p=0,0001$). Serum ve idrar sCTLA-4 düzeylerinin de NS'li grupta kontrol grubuna göre belirgin yüksek olduğu görüldü (sırasıyla; 7,70 [5,02 - 10,58] pg/ml ve 3,88 [2,84 - 6,18] pg/ml, $p=0,019$), (sırasıyla; 9,64 [7,87 - 27,34] pg/ml ve 2,07 [0,88 - 6,27] pg/ml, $p=0,001$). Çalışma gruplarında (NS ve kontrol) serum ghrelin düzeyleri ile çalışılan herhangi bir parametre arasında korelasyon saptanmadı ($p>0,05$). Çalışma gruplarında idrar ghrelin düzeyleri ile serum total protein ($r=0,590$, $p=0,002$) ve serum albümin ($r=0,582$, $p=0,002$) düzeyleri arasında pozitif, idrar protein ($r=-0,837$, $p=0,0001$) ve idrar sCD80 ($r=-0,867$, $p=0,0001$) düzeyleri arasında negatif korelasyon saptandı. Çalışma gruplarında idrar sCD80 ve idrar sCTLA-4 düzeyleri ($r=0,738$, $p=0,002$) arasında pozitif korelasyon saptandı. Çalışma gruplarında serum sCTLA-4 ve serum albümin düzeyleri ($r=-0,801$, $p=0,001$) arasında negatif; idrar sCTLA-4 ve 24 saatlik idrarda proteinüri düzeyleri ($r=0,591$, $p=0,02$) arasında pozitif korelasyon olduğu görüldü. Sonuç olarak ghrelinin nefrotik sendromda immünolojik süreçte rolünün olduğu, böbrekte meydana gelen patoloji nedeni ile buradaki ghrelin üretiminde azalma olduğu, sCD80 düzeylerindeki artışın ghrelindeki düşüş ile ilişkili olabileceği, sCTLA-4 düzeylerindeki artışın da membran CTLA-4'ün T hücre aktivasyonu üzerine olan inhibitör etkisini ortadan kaldırmış olabileceği, tüm bu mekanizmaların neticesinde de proteinürinin meydana geldiği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: deneysel nefrotik sendrom, ghrelin, sCD80, sCTLA-4

ABSTRACT

Özkorucu, D. The Role of Ghrelin, sCD80 and sCTLA-4 in Experimental Nephrotic Syndrome. Eskişehir Osmangazi University School of Medicine Department of Pediatrics MD Thesis. Eskişehir, 2012. There are limited number of studies on the roles of ghrelin, sCD80 and sCTLA-4 in nephrotic syndrome (NS). The current study aims at measuring the levels of serum and urine ghrelin, sCD80 and sCTLA-4 levels and identifying the roles of these determinants on immunological basis and etiopathogenesis of the illness. For the purposes of the study, a total of 15 rats were exposed to experimental nephrotic syndrome by injecting adriamycin and as for the control group, 13 rats, were used. Ghrelin, sCD80 and sCTLA-4 were analyzed by using ELISA method. No significant difference was found between the groups in terms of serum ghrelin levels ($p>0.05$). As for urine ghrelin levels, NS group was found to have significantly lower levels of ghrelin compared to control group (0.026 [0.012 - 0.19] ng/ml and 0.68 [0.39 - 1.22] ng/ml, $p=0.0001$). In addition, serum and urine sCD80 levels were found to be higher in NS group compared to the control group (514.01 ± 234.20 ng/ml and 289.05 ± 80.90 ng/ml, $p=0.003$), (152.48 [114.36 - 265.27] ng/ml and 10 [9.34 - 53.94] ng/ml, $p=0.0001$). Similarly, serum and urine sCTLA-4 levels were considerably higher in NS group (7.70 [5.02 - 10.58] pg/ml and 3.88 [2.84 - 6.18] pg/ml, $p=0.019$), (9.64 [7.87 - 27.34] pg/ml and 2.07 [0.88 - 6.27] pg/ml, $p=0.001$). No correlation was found between the parameters studied and serum ghrelin levels in study groups ($p>0.05$). In groups positive correlations were found between urine ghrelin and serum total protein levels ($r=0.590$, $p=0.002$) and serum albumin levels ($r=0.582$, $p=0.002$), negative correlations were found in urine protein levels ($r=-0.837$, $p=0.0001$) and urine sCD80 levels ($r=-0.867$, $p=0.0001$). A positive correlation was found in groups urine sCD80 and urine sCTLA-4 levels ($r=0.738$, $p=0.002$). In groups, a negative correlation was found between serum albumin and serum sCTLA-4 levels ($r=-0.801$, $p=0.001$), a positive correlation between urine sCTLA and proteinuria levels in 24-hour urine ($r=0.591$, $p=0.02$). The study concludes that ghrelin plays a role during immunological process in nephrotic syndrome and ghrelin levels decrease due to the pathology that occurs in the kidneys. Similarly, the increase in serum and urine sCD80 levels might be related to the decrease in ghrelin levels; and the increase in sCTLA-4 levels might have removed the inhibitor effect of CTLA-4 on T-cell activation which finally led to proteinuria.

Key Words: experimental nephrotic syndrome, ghrelin, sCD80, sCTLA-4

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Nefrotik Sendrom	3
2.1.1. Nefrotik Sendrom Tanımı	3
2.1.2. Nefrotik Sendrom Epidemiyolojisi	3
2.1.3. Nefrotik Sendromda Klinik Sınıflandırma	3
2.1.4. Nefrotik Sendromda Histopatolojik Sınıflandırma	5
2.1.5. Nefrotik Sendromda Tedaviye Cevaba Göre Sınıflandırma	7
2.1.6. Nefrotik Sendrom Genetiği	7
2.1.7. Nefrotik Sendrom Etyolojisi	9
2.1.8. Nefrotik Sendrom Etyopatogenezi	9
2.1.9. Nefrotik Sendrom Patofizyolojisi	13
2.1.10. Nefrotik Sendromda Klinik	16
2.1.11. Nefrotik Sendromun Komplikasyonları	17
2.1.12. Nefrotik Sendromda Laboratuvar	18
2.1.13. Nefrotik Sendromda Tedavi	19
2.1.14. Deneysel Nefrotik Sendrom	22
2.1.15. Nefrotik Sendromda Prognoz	24
2.2. Ghrelin	24
2.2.1. Ghrelin Doku Dağılımı	24
2.2.2. Ghrelinin Etkileri	26
2.2.3. Ghrelin Gen Ürünlerinin Sentezi ve Yapısı	29
2.3. İmmünite ve Glomerül Hastalıkları	30
2.3.1. T Hücrelerinin Aktivasyonu	34
2.3.2. Doğal Olarak Oluşan CD4 + CD25+ T reg Hücreleri	36
2.4. CD80 ve CTLA-4	38

	Sayfa
2.4.1. CD80 (Cluster of Differentiation 80) (B7-1)	38
2.4.2. CTLA-4 (<i>Cytotoxic T Lymphocyte Associated 4</i>) (CD 152)	39
2.4.3. Soluble CTLA-4 (sCTLA-4)	40
2.4.4. CTLA-4 ve CD80'in Biyokimyasal Özellikleri	40
2.4.5. Otoimmünite ile CTLA-4 ve CD80 İlişkisi	41
3. GEREÇ VE YÖNTEM	46
4. BULGULAR	48
5. TARTIŞMA	61
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	68
KAYNAKLAR	70

SİMGELER VE KISALTMALAR

APSGN	Akut Poststreptokoksik Glomerülonefrit
ARC	Hipotalamik Arkuat Nükleus
BH	Büyüme Hormonu
C	Kompleman
FGGS	Fokal Global Glomerüloskleroz
FGS	Fokal Glomerüloskleroz
FSGS	Fokal Segmental Glomerüloskleroz
GBM	Glomerül Bazal Membranı
GHS-R	Büyüme Hormonu Salgılatıcı Reseptör
GN	Glomerülonefrit
HDL	Yüksek Dansiteli Lipoprotein
HLA	İnsan Lökosit Antijeni
HMG-CoA	3-Hidroksi-3 Metilglutaril-Koenzim A
Ig	İmmunglobulin
IL	İnterlökin
ISKDC	International Study of Kidney Disease in Children
İNS	İdiopatik Nefrotik Sendrom
İV	İntravenöz
kDa	Kilo Dalton
LDL	Düşük Dansiteli Lipoprotein
MezPGN	Mezengioproliferatif Glomerülonefrit
MGN	Membranöz Glomerülonefrit
MLH	Minimal Lezyon Hastalığı
MPGN	Membranoproliferatif Glomerülonefrit
mRNA	Mitokondriyal Ribonükleik Asit
NS	Nefrotik Sendrom
NPY	Nöropeptid Y
PAN	Puromisin Aminonükleozid
sCD80	Soluble Cluster of Differentiation 80
sCTLA-4	Soluble Sitotoksik T Lenfosit İlişkili Protein-4
SD	Slit Diafram
SIRS	Solubl Immune Response Suppressor
SLE	Sistemik Lupus Eritematozus

TG	Trigliserid
TGF- β	Tissue Growth Factor- β
Th	T-helper
TK	Total Kolesterol
TNF- α	Tümör Nekrozis Faktör- α
VLDL	Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein

ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1 Glomerüler gelişim ve ilerleme evreleri	8
2.2 NS patogenezinde rol oynayan genler	10
2.3 Glomerüler filtrasyon bariyerinin yapısal bileşenleri	12
2.4 Glomerüler epitel hücrelerinin elektron mikroskopik görünümü	13
2.5 Nefrotik sendrom patogenezi	13
2.6 Ghrelinin aminoasit dizilimi	25
2.7 İnsan ve sıçan ghrelininin n-oktanoik asitle modifikasyona uğramış formlarının şeması	25
2.8 Ghrelinin 28 aminoasitlik moleküler yapısı	30
2.9 Lenfosit aktivasyonunun sinyal modeli	35
2.10 APC ve T hücre etkileşimi	35
2.11 sCTLA-4 ün etkileri	40
2.12 Th hücresinin aktivasyonu üzerine CD28'in uyarıcı ve CTLA-4'ün baskılayıcı etkileri	41
2.13 CTLA-4 molekülünün muhtemel etki mekanizmaları	42
4.1 Çalışma gruplarında serum BUN ve kreatinin düzeylerinin karşılaştırılması	48
4.2 Çalışma gruplarında serum total protein, serum albümin, 24 saatlik idrar volümü ve 24 saatlik idrarda proteinüri düzeylerinin karşılaştırılması	49
4.3 Çalışma gruplarında lipid düzeylerinin karşılaştırılması	50
4.4 Çalışma gruplarında serum ve idrar ghrelin düzeylerinin karşılaştırılması	51
4.5 Çalışma gruplarında serum ve idrar sCD80 düzeylerinin karşılaştırılması	52
4.6 Çalışma gruplarında serum ve idrar sCTLA-4 düzeylerinin karşılaştırılması	53
4.7 Çalışma gruplarında idrar ghrelin serum total protein düzeyi korelasyonu	54
4.8 Çalışma gruplarında grubunda idrar ghrelin serum albümin düzeyi korelasyonu	55
4.9 Çalışma gruplarında idrar ghrelin idrar protein düzeyi korelasyonu	55
4.10 Çalışma gruplarında idrar ghrelin idrar sCD80 düzeyi korelasyonu	56
4.11 Çalışma gruplarında serum sCD80 serum TG düzeyi korelasyonu	56
4.12 Çalışma gruplarında serum sCD80 düzeyi ile serum HDL düzeyi korelasyonu	57
4.13 Çalışma gruplarında idrar sCD80 düzeyi idrar sCTLA-4 düzeyi korelasyonu	57

4.14 Çalışma gruplarında serum sCTLA-4 düzeyi serum kolesterol düzeyi korelasyonu	58
4.15 Çalışma gruplarında serum sCTLA-4 düzeyi serum albümin düzeyi korelasyonu	58
4.16 Çalışma gruplarında serum sCTLA-4 düzeyi VLDL düzeyi korelasyonu	59
4.17 Çalışma gruplarında idrar sCTLA-4 düzeyi 24 saatlik idrarda protein düzeyi korelasyonu	59
4.18 Çalışma gruplarında idrar sCTLA-4 düzeyi idrar ghrelin düzeyi korelasyonu	60

TABLolar

	Sayfa
2.1 Nefrotik sendromun klinik sınıflandırması	4
2.2 Glomerüler lezyonların histopatolojik sınıflandırması	5
2.3 Nedeni bilinmeyen nefrotik sendrom tiplerinin sıklığı	6
2.4 Nefrotik sendromda protein kaybının sonuçları	15
2.5 Ghrelin gen ürünlerinin diğer organ ve sistemler üzerine etkileri	31
2.6 Düzenleyici T hücre (Treg) popülasyonu	37
2.7 CTLA-4 molekülünün başlıca fonksiyonları	96
4.1 Çalışma gruplarında serum BUN ve kreatinin düzeyleri	96
4.2 Çalışma gruplarında serum total protein, serum albümin, 24 saatlik idrar volümü, idrar protein düzeyleri ile 24 saatlik idrarda proteinüri şiddetleri	96
4.3 Çalışma gruplarında lipid düzeyleri	97
4.4 Çalışma gruplarında serum ve idrar ghrelin düzeyleri	97
4.5 Çalışma gruplarında serum ve idrar sCD80 düzeyleri	97
4.6 Çalışma gruplarında serum ve idrar sCTLA-4 düzeyleri	97

1. GİRİŞ

Nefrotik Sendrom (NS); masif proteinüri (idrar protein düzeyinin 40 mg/m²/saat'in üzerinde olması veya idrar protein/kreatinin oranının 200 mg/mmol'ün üzerinde olması), hipoproteinemi (hipoalbuminemi; serum albumin düzeyinin 2,5 g/dl'nin altında olması) ve ödem ile karakterize, hipertrigliseridemi ve hiperkolesteroleminin de eşlik ettiği klinik tablodur (1-5). Çocukluk çağında en sık idiopatik nefrotik sendrom (İNS) görülmekle birlikte birçok hastalığın seyri sırasında veya birçok nedenle NS ortaya çıkabilmektedir. En sık görülen ve ışık mikroskopisinde glomerüllerde minimal değişikliklerle karakterize minimal lezyon hastalığının (MLH) patofizyolojisi henüz net olarak bilinmemektedir. Ancak hastalığın etyopatolojisinde immün sistemin rolünün olduğu bilinmektedir (2-5).

Ghrelin 28 aminoasitten oluşan, peptid yapıda bir hormondur ve ağırlıklı olarak midede üretilen, moleküler ağırlığı 3,2 kilodalton (kDa) olan, tanımlanan ilk endojen büyüme hormonu (BH) salgılatıcısıdır. Bu etkisinin yanında besin alımının düzenlenmesi, kardiyovasküler sistem, kanser hücrelerinin büyümesi üzerine de etkileri saptanmıştır (6,7). Son yıllarda yapılan çalışmalarda ghrelinin, mononükleer hücreler ve T hücreleri aracılığıyla ortaya çıkan proinflamatuvar sitokin ekspresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Ghrelinin birçok hastalığın oluşumundaki rolü ile ilgili çalışmalar son zamanlarda artmakla birlikte böbrek hastalıklarındaki rolü ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Nefrotik sendromdaki rolü ve nefrotik sendrom bileşenleri ile ilişkisini gösteren bir çalışma ise bulunmamaktadır. Literatür incelendiğinde; ghrelinin, enerji ve yağ metabolizması ve obezite ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalara rastlanmasına rağmen, nefrotik sendromda lipid profilinde ghrelinin etkileri ile ilgili çalışmaya rastlanmamıştır. Hem ghrelin ve lipid metabolizması arasındaki ilişki, hem de NS'de lipid metabolizmasındaki bozuklukların nedeni tam olarak aydınlatılmış değildir. Serum albumin düzeyindeki düşüş ile serum kolesterol düzeyindeki yükseklik arasında ilişki olduğu öne sürülmüş olmasına rağmen dislipidemi patogenezinde başka faktörlerin de etkili olduğu düşünülmektedir (8). NS'de serum ve idrar ghrelin düzeyleri ile ilgili literatürde çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle NS'li çocuklarda serum ve idrar ghrelin düzeylerinin ölçülmesi, ghrelinin diğer NS bileşenleri ile ilişkisinin olup olmadığının gösterilmesi ve hastalığın etyopatogenezindeki rolünün ortaya konulması amaçlanmıştır.

NS etyopatogenezinde immün sistemin rolünün olduğu bilinmektedir (2-5). Ancak bunun hangi mekanizma ve mediatörler aracılığıyla oluştuğu net olarak bilinmemektedir. Çocuk ve adolesanda NS'nin en sık sebebi olan MLH (2) T hücre

fonksiyon bozukluğu sonucu ortaya çıkmaktadır (3,4). Proteinürinin oluş mekanizması bilinmemekle beraber, T hücre disfonksiyonu sonucu oluşan dolaşımdaki bir lenfokinin proteinüriye sebep olduğu düşünülmektedir (3-5).

Podositler; glomerüler bazal membran (GBM) ve üriner boşluk arasında bariyer olan, özelleşmiş ve yüksek düzeyde farklılaşmış epitel hücreleridir. Birçok çalışmada; bu hücrelerin dentritik hücre benzeri davranışlarının olduğu, bunların *Cluster of Differentiation 80* (CD80) ekspresyonunu indükledikleri, bir transmembran proteininin T hücre aktivasyonunda kostimülatör olarak görev aldığı gösterilmektedir. Ancak literatürde bu konuda sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Daha önce yapılmış olan bir çalışmada podositlerdeki kostimülatör molekül olan CD80'in glomerüller geçirgenliği indüklemesindeki rolü ortaya konulmaya çalışılmıştır (9). CD80'den yoksun ratların lipopolisakkarit (LPS) ile uyarılmış NS'den korunuyor olduklarının gösterilmiş olması ile hipotez desteklenmeye çalışılmıştır (9). CD80'in proteinürik hastalardaki kilit rolü oynuyor olabileceğini göstermeyi amaçlayan bir diğer çalışmada üriner CD80 düzeyinin relaps NS grubunda daha yüksek olduğu gösterilmiştir (10). Bu bulgular podosit CD80 ekspresyonunun MLH patogenezinde rolü olabileceğini düşündürmüştür (10). Ayrıca Treg hücrelerinin *Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4* CTLA-4 eksprese ettikleri ve bunun CD80'e bağlanıp T hücre aktivasyonunu bloke eden bir kostimülatör olduğu bilinmektedir (10). Literatürde farklı birçok otoimmün hastalıkta (CTLA-4) gen mutasyonunun pozitif olduğunun gösterilmiş olması ve lupus nefritinde CD80 ekspresyonunun artmış olduğunun gösterilmiş olması immünolojik temelini olduğu bilinen NS patogenezinde bu moleküllerin rolünün olabileceği hipotezini desteklemektedir. Ancak literatürde bununla ilgili çalışma sayısı çok kısıtlıdır ve bu konu ile ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Biz de; yapmış olduğumuz bu çalışma ile deneysel NS modelinde serum ve idrar sCD80 ve sCTLA-4 düzeyleri ve bunların hastalığın diğer bileşenleri ve ghrelin düzeyleri ile etkileşimlerini ortaya koymayı ve NS etyopatogenezindeki rollerini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Nefrotik Sendrom

2.1.1. Nefrotik Sendrom Tanımı

Nefrotik Sendrom (NS); glomerüler filtrasyon bariyerinde geçirgenlik artışı sonucu meydana gelen, masif proteinüri (idrara protein düzeyinin 40 mg/m²/saat'in üzerinde olması veya idrar protein/kreatinin oranının 200 mg/mmol'ün üzerinde olması), proteinüri sonucu ortaya çıkan hipoproteinemi (hipoalbuminemi; serum albumin düzeyinin 2,5 g/dl altında olması) ve ödem ile karakterize, hipertrigliseridemi ve hiperkolesteroleminin de eşlik ettiği klinik tablodur (1-5).

2.1.2. Nefrotik Sendrom Epidemiyolojisi

International Study of Kidney Disease in Children (ISKDC), nefrotik sendromun yıllık insidansını 16 yaş altı çocuklarda 100.000'de 2 - 7, toplam prevalansını ise 100.000'de 15,7 olarak vermekte ve çocukluk çağı NS'larının %78'inin steroide yanıt verdiğini, bunların da %92'sinin MLH olduğunu bildirmektedir (4,11-13).

Nedeni bilinmeyen NS insidansı coğrafi bölge, ırk ve yaşa göre farklılık göstermektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde insidansı her 100.000 çocukta 2 - 2,7, prevalansı 100.000'de 16'dır (1-3). İngiltere'de yaşayan Asya kökenlilerde Avrupa kökenlilere göre NS insidansı 6 kat fazladır (14). Afrika'da ise hastalık daha nadir olarak görülmektedir (15).

Erkek/kız oranı çocukluk çağında 2/1, adölesan ve erişkinde eşit, siyah ırkta beyaz ırka göre daha fazla görüldüğü bildirilmektedir (1,3,16).

Etnik köken, histolojik tipi ve immünsüpresiflere yanıtı etkilemektedir. Siyah ırkta beyazlara göre steroide dirençli NS daha fazla görülmektedir. Tüm bu veriler hastalığın patogenezinde rol oynadığı düşünülen genetik ve çevresel faktörlere dikkat çekmektedir.

2.1.3. Nefrotik Sendromda Klinik Sınıflandırma

Nefrotik sendrom oluşumuna göre; primer ve sekonder nefrotik sendrom olarak iki ana grupta incelenir. Primer NS; etyolojisi tam olarak belli olmayan gruptur. Burada olay izole olarak böbrekte olup, sistemik hastalıklarla birlikteliği yoktur. Primer NS; idiopatik NS (minimal lezyon hastalığı (MLH), fokal segmental glomerüloskleroz (FSGS), mezangioproliferatif glomerülonefrit (MezPGN), membranöz glomerülonefrit (MGN)), immün kompleks glomerülonefritleri (akut poststreptokoksik glomerülonefrit (APSGN), membranoproliferatif glomerülonefrit (MPGN)) ve konjenital

NS'den oluşur (1,2,17). Çocuklarda en sık primer nefrotik sendrom sebebi olan idiopatik nefrotik sendrom (2); çocukluk çağı tüm nefrotik sendromlarının %90'ını oluşturur. İNS hastalarının %85'ini MLH, %10'unu FSGS, %5'ini MezPGN oluşturur. MPGN, MGN ve diğer kronik nefritler ise çocukluk dönemi nefrotik sendrom nedenleri içinde %10'luk gruptur. Sekonder nefrotik sendrom da ise NS, sistemik bir hastalık ya da bir olaya ikincil olarak gelişir (11). Deneysel çalışmalarda kullanmak amacıyla geliştirilen deneysel NS modelleri de mevcuttur (18-20).

Tablo 2.1. Nefrotik sendromun klinik sınıflandırması (1,2,17,21)

<p>Primer NS</p> <p>1. İdiopatik NS</p> <ul style="list-style-type: none"> - Minimal Lezyon Hastalığı (MLH) - Mezengioproliferatif Glomerülonefrit (MezPGN) - Fokal Glomerülosklerozis (FSGS) <p>2. İmmünkompleks Glomerülonefrit</p> <ul style="list-style-type: none"> - Membranöz Glomerülonefrit (MGN) - Membranoproliferatif Glomerülonefrit (MPGN) - Akut Poststreptokoksik Glomerülonefrit (APSGN) <p>3. Konjenital NS</p> <p>Sekonder NS</p> <p>1. Sistemik Hastalıklar: Henoch-Schönlein Purpurası, vaskülitler, Sistemik Lupus Eritematozus, Goodpasture Sendromu, dermatomyozit, amiloidoz, sarkoidoz, romatoid artrit</p> <p>2. Sistemik Enfeksiyonlar: Hepatit B, konjenital ve sekonder sifiliz, şant enfeksiyonu, bakteriyel endokardit, sıtma, varisella, HIV, poststreptokoksik glomerülonefrit, lepra, şistozomiazis, infeksiyöz mononükleozis</p> <p>3. Heredofamilyal Hastalıklar: Orak hücreli anemi, diabetes mellitus, Alport Sendromu, Nail-Patella Sendromu</p> <p>4. İlaçlar: Altın tuzları, non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİD), tridion, kaptopril, eroin, d-penisilamin, civa bileşikleri</p> <p>5. Neoplaziler: Hodgkin Hastalığı, lenfomalar, lösemiler, karsinomalar, melanomlar, Wilm's Tümörü</p> <p>6. Diğerleri: Arı sokması, aşılama, tiroidit, miksödem, malign obezite</p>
--

2.1.4. Nefrotik Sendromda Histopatolojik Sınıflandırma

Nefrotik sendromun histopatolojik sınıflandırması ışık mikroskopunda görülen glomerüler değişikliklere göre yapılmaktadır (22). Bu ayırım daha sonra immünofloresan ve elektron mikroskopik incelemelerle de desteklenmiştir. NS'nin histopatolojik sınıflandırması Tablo 2.2'de verilmiştir.

Tablo 2.2. Glomerüler lezyonların histopatolojik sınıflandırması (11,23)

1. Minimal Lezyon Hastalığı (MLH)
2. Fokal Glomerülosklerozis (FGS)
 - Fokal segmental glomerülosklerozis (FSGS)
 - Fokal global glomerülosklerozis (FGGS)
3. Mezengial Proliferasyon (MezPGN)
 - Saf diffüz mezengial proliferasyon
 - Sklerozan glomerülonefrit
4. Membranoproliferatif Glomerülonefrit
 - Tip-I MPGN: subendotelyal depolanma
 - Tip-II MPGN: intramembranöz dens depozitler
 - Tip-III MPGN: transmembranöz depolanma
5. Membranöz Glomerülonefrit (MGN)
6. Kronik glomerülonefrit

Minimal Lezyon Hastalığı (MLH): Çocukluk çağı nefrotik sendromlarının büyük çoğunluğunu oluşturur. MLH'de ışık mikroskopunda glomerüller histolojik olarak hemen hemen normaldir. Bazı vakalarda spesifik olmasa da minimal mezengial kalınlaşma, fokal mezengial hücre artışı ve bazal membranın kalınlaşması görülebilir. İmmunofloresan mikroskopide genellikle immün depolanma görülmez. Ancak nadir de olsa IgM ve komplemandan oluşan mezengial depolanma görülebilir. Elektron mikroskopisinde podositlerde hipertrofi ile ayaksı çıkıntılarda füzyon gözlenir (2,4,23,24).

Fokal Glomerülosklerozis (FGS): Glomerüler lezyonlar değişken olmakla beraber kortikomedüller alanda daha belirgindir. FGS'de bazı glomerüllerde etkilenme vardır. Eğer bu etkilenme bir glomerülün tamamını ilgilendiriyorsa; fokal global glomerüloskleroz (FGGS), bir glomerülün sadece bazı segmentlerini ilgilendiriyorsa; fokal segmental glomerüloskleroz (FSGS) olarak adlandırılır. Histopatolojik olarak hipertrofik podositler, kapiller kollaps ve obliterasyon, mezengial matrikste artma

ve hiyalen depolanma görülür. Lezyonların çoğunda podositik hiperplazi sklerotik alanlarla birlikte. Kural olarak FSGS tübüler atrofi ile beraber gider ve steroide yanıtı MLH ve FGGS arasında bir yerde olup progresif seyirlidir (2,4,23,25).

Mezengioliferatif Glomerülonefrit (MezPGN): MezPGN'de mezengial hücrelerin sayısında ve boyutlarında belirgin derecede artış (mezengial proliferasyon), lökosit infiltrasyonu (eksudasyon), kapiller lupların obliterasyonu ile birlikte artmış mezengial matriks (skleroz) ve bowman kapsülünün iç yüzeyinde fibroepitelyal proliferasyon (kresent ve adezyon kuvvet) bir arada bulunur. İmmunfloresan mikroskopisi genellikle negatiftir (2,4,23). Fakat postenfeksiyöz glomerülonefrit, Berger Hastalığı (IgA nefropatisi) ve sistemik hastalığa sekonder NS bulguları da bulunabilir (1,22,23).

Membranoproliferatif Glomerülonefrit (MPGN): Üç farklı histolojik alt grup tanımlanmıştır. Tip-I MPGN'de; primer lezyon subendotelyal IgG ve kompleman toplanmasıdır. Tip-II MPGN'de; intramembranöz dens depolanma ile bazal membran kalınlaşması vardır. Tip-III MPGN; görünüm olarak transmembranöz depolanma ile karakterizedir. Bu tiplerde mezengial proliferasyon, kresent oluşumu, hiperlobülasyon ve epimembranöz depolanma görülür (4,23).

Membranöz Glomerülonefrit (MGN): MGN'de subepitelyal depositler genellikle düzenli olup, bazen düzensiz şekilde bazal membranda dağılım gösterir. Işık mikroskopisinde lamina densaya girinti yapan bazal membran çıkıntıları şeklinde görülür. Bu görüntü dantel tarzı görünüm olarak tarif edilir. Depolanmalar genellikle sadece hafif mezengial proliferasyonla birlikte (26).

Tablo 2.3. Nedeni bilinmeyen nefrotik sendrom tiplerinin sıklığı (27)

Glomerüller Lezyon	Chung ve ark. (n=521) %	White ve ark. (n=145) %	Özkaya ve ark. (n=392) %
Minimal Değişiklik H.	76,4	77	76
Mezengial proliferatif GN	2,3	5,5	5
Fokal segmental GS	6,9	7,5	6,5
MPGN	7,5	6	10
Membranöz nefropati	1,5	1,5	1,8
Diğer	5,4	2,5	0,7

2.1.5. Nefrotik Sendromda Tedaviye Cevaba Göre Sınıflandırma

Nefrotik sendromda, steroid tedavisine verdiği yanıtı göre, hastanın klinik durumunu değerlendirmede bazı tanımlamalar yapılmıştır (28).

Steroide yanıtı NS (SYNS): 60 mg/m²/gün prednisolon tedavisinin 4 hafta kullanılması ile idrar proteininin ardışık 3 gün yada 1 hafta içinde çalışılan 3 ayı idrar tetkikinde <4 mg/m²/saat olması veya dipstick ile 0 veya eser olması

Steroide bağımlı NS (SBNS): Başlangıçtaki iyileşme sonrası 6 ay içinde 2 yada daha çok, yada 1 yıl içinde 4 veya daha çok atak olması

Erken yanıtızsızlık: İlk NS epizodundaki tedaviye yanıtızsızlık

Geç yanıtızsızlık: Daha önce steroid ile remisyona sokulmuş bir hastada gelişen steroid direnci

Geç yanıt verme: Hastanın steroid dışında başka bir ilaç kullanmaksızın 4 haftalık 60 mg/m²/gün prednisolon tedavisinden sonra remisyona girmesi

Steroide dirençli NS (SDNS): İki farklı şekilde tanımlanmaktadır;

ISKDC'ye göre; 4 hafta boyunca 60 mg/m²/gün (2 mg/kg/gün) prednisolon tedavisine rağmen remisyon olmaması

Society of French Speaking Pediatric Nephrologists'e göre: 4 haftalık 60 mg/m²/gün (2 mg/kg/gün) prednisolon tedavisi ve ardından 3 kez intravenöz pulse metilprednisolon tedavisine rağmen remisyon olmaması

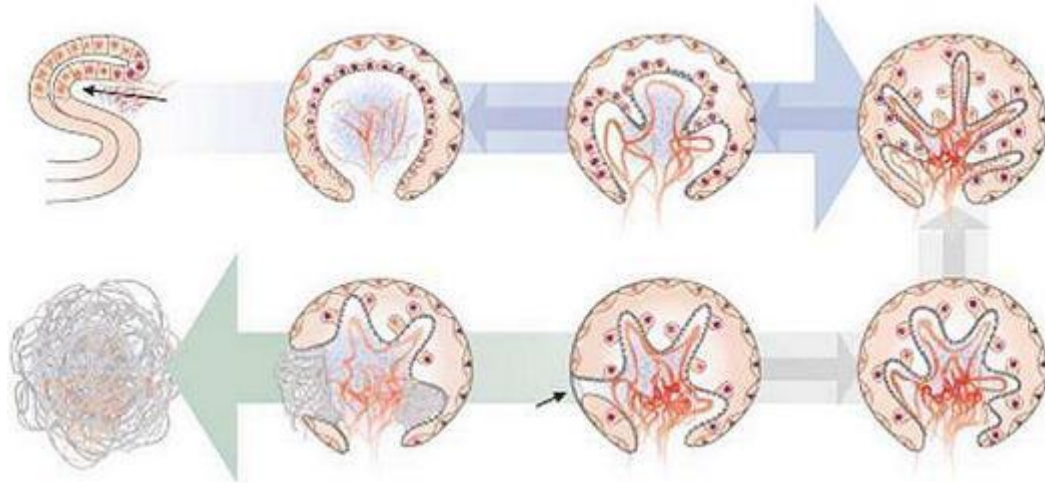
En sık görülen idiopatik NS nedeni olan MLH steroide %85 - 90 oranında cevap verirken, bu oran FSGS'de %30, MGN'de ise %5'e kadar düşmektedir (1,29,30).

2.1.6. Nefrotik Sendrom Genetiği

NS farklı histolojik varyantları ve genetik determinantları nedeni ile klinik olarak heterojen bir hastalıktır (31,32). Familial NS'li hastaların genetik incelemelerinden yola çıkılarak günümüzde 15 gen ve pek çok loküs tanımlanmıştır. Ayrıca bu genetik değişiklikler sporadik İNS'li hastaların da % 10 - 20'sinde gösterilmiştir. NS, ışık mikroskopik olarak MLH, diffüz mezengial proliferasyon, diffüz mezengial skleroz yada FSGS'ye kadar değişen bir yelpazede olsa da elektron mikroskopik olarak ortak özellik podosit ayakları çıkıntılarında birleşme ve SD kaybıdır.

Podositler ve renal glomerüller birbiri ile ilişkili olacak şekilde nefrojenik blastemden gelişirler. Nefrojenik blastemden fokal mezenkimal yoğunlaşma ile başlayan gelişim S şeklinde nefron gelişim evresi ile devam eder. Podositler, paryetal epitel hücrelerinden bowman boşluğunu oluşturmak üzere ayrılırlar ve disk halini alarak sıralanırlar. Ardından disk şeklinde yapının içe katlanmaları ile filtrasyon yüzey alanı artırılıp ayakları çıkıntılar ve GBM gelişimi gerçekleşir. Bu evrede hücre-

hücre bağlantısını sağlayan adheren bağlantılar, SD üyeleri ve GBM olgunlaşır. En son evrede fenestre endotel hücreleri, ayaksı çıkıntılar ve birbirine interdigitasyon yapmış SD yapılar ile hücre-hücre ilişkisi kurmuş olan dış yüzey epiteller (podositler) ve ortada güçlü, ince özelleşmiş yapıda bir GBM oluşur (Şekil 2.1) (33).



Şekil 2.1. Glomerüler gelişim ve ilerleme evreleri

****S şekilli evre:** Podositlerin geliştiği ve podosit belirteçlerini kazandığı bu evrede epitel hücrelerinin yanına kan damarları ve mezenşim istilası olur (ok). Podositler (yuvarlak çekirdekli) paryetal epitel hücrelerinden (üçgen çekirdekli) Bowman boşluğunu oluşturmak amacıyla ayrılmaya başlarlar. **Kafa şekilli evre:** Bu evrede, glomerül gelişmekte olan podositler tarafından çevrelenmiş hücre topu şeklindedir. **Kapiller düğüm evresi:** Filtrasyon için uygun genişlemeyi sağlamak amacıyla yüzey hücre tabakasının içe katlandığı, podositler arası interdigitasyon yapan ayaksı çıkıntıların olduğu; podosit, endotel ve mezengiyal hücreler arasındaki bütünlüğü sağlayan GBM'nin olduğu evre. **Matür glomerül:** İç kısımda fenestre endotel hücreleri, ortada özelleşmiş güçlü ince GBM ve dış kısımda SD ile birbirlerine bağlı iç içe geçmiş ayaksı çıkıntılardan oluşan podositler ile maksimum filtrasyon yüzey alanına sahiptir. **Mezengiyal genişleme:** Filtrasyon yüzey alanını azaltmaya yönelik yaklaşık %20'ye yakın podosit kaybı. **Adezyon oluşumu:** Filtrasyon yüzey alanında boşluklar oluşturabilecek podosit kaybı. Boş kalan yüzey alanları Bowman kapsülüne yapışıklıklar gösterir (sineşi). **Segmental skleroz:** Glomerülün belli bir kısmında fibrotik yanıt oluşturacak düzeyde podosit kaybı. **Global skleroz:** Glomerülde yaygın skar oluşturacak düzeyde podosit kaybı (33).

Bu süreçte rol oynayan genlerin ve transkripsiyonel faktörlerin uğradığı mutasyonlar sonucunda veya bazı genetik hastalıkların bir bileşeni olarak kalıtsal NS karşımıza çıkmaktadır.

2.1.7. Nefrotik Sendrom Etiyolojisi

Çocukluk yaş grubu nefrotik sendromlarının büyük çoğunluğunu idiopatik nefrotik sendrom oluşturmaktadır. Ancak, NS etiolojisi yaş bağımlı olarak da tanımlanır. Yaşamın ilk 3 ayında görülen nefrotik sendrom, konjenital nefrotik sendrom olarak adlandırılır ve çoğunlukla genetik kökenlidir. 3 - 12 ay arasında görülen nefrotik sendromda %40 genetik nedenler söz konusudur. İdiopatik NS yaşamın 1. yılından sonra artarken, sekonder NS olgularına da 10 yaş sonrasında rastlanır (28,30).

2.1.8. Nefrotik Sendrom Etiyopatogenezi

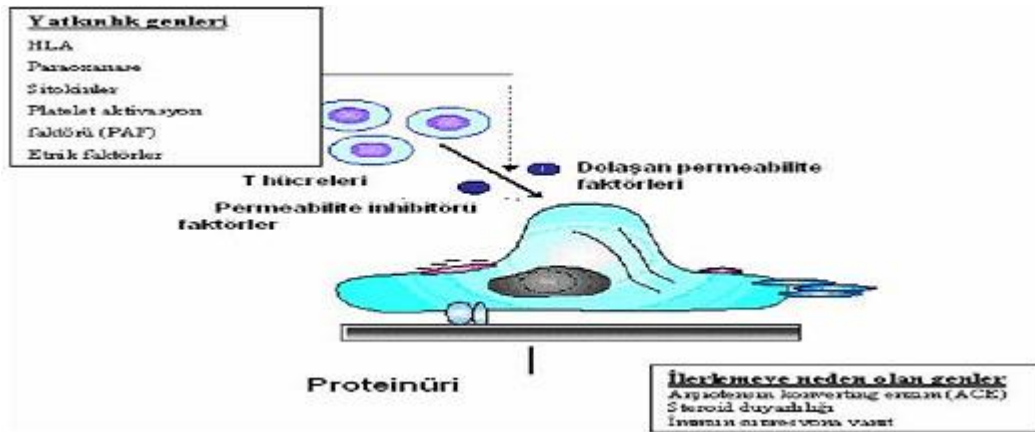
Nefrotik sendrom bulgularının, glomerüler kapiller duvarın seçici geçirgen özelliğindeki değişikliklerden meydana geliyor olduğu bilinmesine rağmen, primer NS etiopatogenezi halen net olarak aydınlatılamamıştır. NS'ye immünolojik bozuklukların ve/veya bu hastaların plazmalarında bulunduğu düşünülen dolaşan permeabilite faktörünün neden olduğu ileri sürülmüştür. Fakat özellikle son yıllarda yapılan genetik çalışmalarda elde edilen veriler hastalığın patogenezi için yeni bir bakış açısı getirmiştir (2,34,35).

MLH'nin, dolaşımdaki lenfokinlerin renal filtrasyon bariyerine toksik etkisi ile oluşan immünolojik bir hastalık olduğu düşünülmektedir (36). NS'nin viral enfeksiyonlar ve atopi atakları ile ortaya çıkması yada tekrarlaması, HLA antijenleri yada immünolojik hastalıklarla ilişkisi (lenfoma, timoma), steroid ve siklosporin A tedavisi ile düzelmesi bu verileri desteklemektedir. Kızamık gibi anejizan hastalıklar sonrası uzun süreli remisyonların görülmesi de bu hipotezi güçlendirmektedir (2,34). MLH'de, hastaların bazılarında T hücre alt gruplarında ve/veya T hücre işlevlerinde bozukluklar tanımlanmıştır (34,37). Artmış protein yükü sonucunda böbreklerde inflamatuvar ve oksidatif döngü uyarılmaktadır (36). Anormal T hücrelerinden salgılanan lenfokinlerin bazal membranın geçirgenliğini artırarak proteinüriye sebep olduğu ileri sürülmektedir (2,34). Geçirgenliği artıran bu faktörlerin yapıları halen bilinmemektedir. Bazı çalışmalarda VEGF, heparanaz ve hemopexin gibi çeşitli faktörlerin geçirgenliği artırabileceği belirtilmiştir (34). Örneğin Brenchley; (38) heparanazın, heparan sülfat glikozaminoglikanlarını parçalayarak glomerül kapiller duvar geçirgenliğini artırdığını ileri sürmüştür. Savin ve Sharma (39); FSGS hastalarının plazmalarında var olduğu düşünülen bir geçirgenlik faktörüne dikkat çekmişlerdir. Bu faktörün kültür ortamındaki fare glomerüllerinde geçirgenliği artırdığı gösterilmiştir. Ayrıca böbrek nakli sonrası FSGS'nin tekrarlamasından bu faktör sorumlu tutulmuştur ve plazma değişiminin bu hastalarda yararlı olduğu bildirilmiştir. Podocin gen değişimi olan hastaların plazmalarında da dolaşan geçirgenlik faktörü sap-

tanmış ve böbrek nakli sonrası bazı hastalarda hastalığın tekrarlamasından aynı faktör sorumlu tutulmuştur (40). MLH'li hastalarda remisyon döneminde de devam eden streptokoklara karşı antikor oluşumunun yetersiz oluşu immün mekanizmayı desteklemektedir (41). Bununla birlikte; halen immün sistem ile nedeni bilinmeyen nefrotik sendrom ilişkisi tam olarak aydınlatılamamıştır.

Etyopatogenezde Rol Alan Faktörler

Genetik: MLH'nin genetik geçişi gösterilmiş değildir, ancak bazı ailelerde birden fazla NS olgusu olduğunun gösterilmesi ve bu hastalarda insan lökosit antijeni (HLA) B12, HLA-DR7, HLA-DR2 doku tipi sıklığının bildirilmiş olması genetik temelinin olabileceğini desteklemektedir (2,41). Kalıtsal NS'li çocuklar arasında yapılan araştırmalarda podosit proteinlerini kodlayan genlerde mutasyonlar tanımlanmıştır (2). Steroide yanıtız ailesel NS'de 1q25 kromozomunda podosin genine yakın bir lokusta bozukluk tanımlanmıştır.



Şekil 2.2. NS patogenezinde rol oynayan genler

İmmünoloji: MLH patogenezinde değişik immünolojik bozukluklar rol oynamaktadır;

Lökosit fonksiyon bozuklukları; MLH'li hastaların renal biyopsi örneklerinde spesifik bir immün deposit görülmemesine rağmen, hastalığın etyopatogenezinde immün sistemin rolünü destekleyen çalışmalar mevcuttur. Shalhoub ve arkadaşları (42) MLH'deki temel patoloji olan proteinüri oluşumunu; T hücre fonksiyonlarının bozulması sonucu ortaya çıkan, GBM'ye toksik etkili bir mediatör ile açıklamaya çalışmışlardır (42,43). Aktive olmuş supresör T hücrelerden salınan özel bir lenfokin olan *solubl immune response suppressor* (SIRS) adı verilen maddenin MLH'li hastaların idrarında relaps sırasında var olduğunu ve steroid tedavisi sonrası kaybolduğunu göstermiş; immünsüpresyondan sorumlu tutmuşlardır (44,45,46). Frank ve

arkadaşları (47) NS'de CD8(+) T hücrelerde artış olduğunu göstermişlerdir. Başka bir çalışmada ise relaps döneminde dolaşımdaki lenfositlerin apoptozis oranının arttığı gösterilmiştir (48). MLH'de mitojenlerle uyarılan periferik kan mononükleer hücrelerinden sitokin salınımında artış olduğu ve bunun sonucunda lenfosit sayı ve fonksiyonlarında bozukluk olabileceği ileri sürülmüştür (49).

Humoral immünite ve anormal immünglobülin sentezi; İNS'de relaps sırasında serum immünglobülin (Ig) G düzeyi düşük, IgA düzeyi düşük yada normal, IgM düzeyi ise yüksek veya normal bulunmuştur (42,49). Hem relaps hem de uzun süreli remisyon döneminde IgG düzeyinin düşük oluşunun gösterilmiş olması sebebi ile IgG düşüklüğünü yalnızca idrarla protein kaybı ile açıklamak yeterli değildir (49). MLH'de serum kompleman (C), C3 ve C4'ün arttığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (49). NS'de TNF- α , IL-2, solubl interlökin-2 reseptör düzeyleri yüksek bulunmuş ve hastalarda T helper (TH)-1 yolunun patogeneizde etkili olduğu düşünülerek Th-1/Th-2 oranının tedavi takibinde etkin bir parametre olarak kullanılabilmesi ileri sürülmüştür (50).

HLA sistemi ile ilişkili; Mir ve arkadaşları (51) ülkemizde steroide duyarlı NS ile HLA-DR7, HLA-DR3, HLA-BW73 antijenleri arasında ilişki olduğunu ortaya koymuşlardır. Farklı ülkelerde yapılmış olan bazı çalışmalarda da HLA-B12 ve HLA-DR sıklığı saptanmıştır (52).

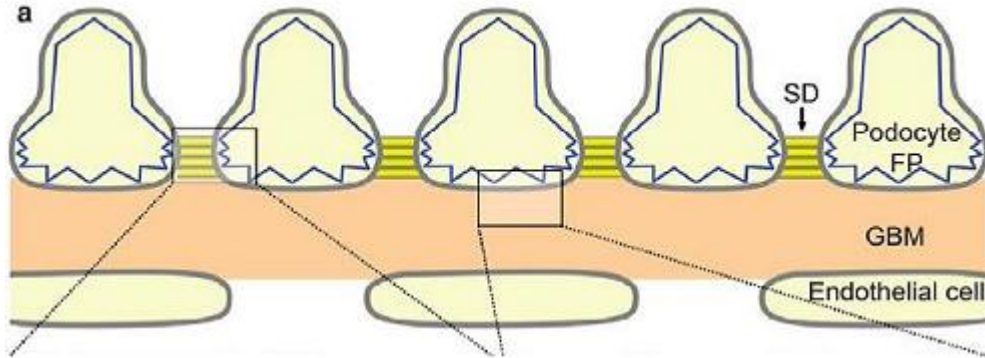
Erken aşırı duyarlılık; MLH'li hastalarda pozitif deri testleri, atopik semptomlar ve yüksek serum IgE düzeylerinin olduğu, bu hastalarda astma, alerjik rinit, deri alerjilerinin normal topluma kıyasla daha sık görüldüğü gösterilmiştir (49,53,54). Günümüzde, NS'nin primer alerjik bozukluğun yansıması olup olmadığı halen bilinmemektedir.

Nefrotik sendrom gelişiminde primer fizyopatolojik bozukluk; glomerüler geçirgenlikteki artış ve bunun sonucunda oluşan proteinüridir. Birçok primer glomerülonefrit ve sekonder glomerül zedelenmelerinde immün mekanizmanın rolü açıktır. Glomerüllerde immünglobülin ve çeşitli kompleman bileşenlerinin birikimleri glomerülonefritli hastaların %70'inde bulunmaktadır. İmmün aracılı zedelenme; dolaşan antijen-antikor komplekslerinin glomerülde birikimi ve glomerülün kendisi ile doğrudan reaksiyon veren antikorun oluşturduğu zedelenme olarak iki şekilde gerçekleşmektedir.

Moleküler zemini hakkında pek çok çalışma olsa da İNS; primer glomerüler hata, dolaşımdaki faktörler ve immünolojik anormallikler zemininde oluşmaktadır.

Glomerüler kapiller duvar, seçici geçirgen 3 yapısal elemandan oluşmaktadır; fenestre ile ayrılan endotelial hücreler, matriks proteinlerinden oluşan bazal memb-

ran, birbirlerine temas ile yarık şeklinde yapılar oluşturan özelleşmiş epitelyal hücreler (podositler).



Şekil 2.3. Glomerüler filtrasyon bariyerinin yapısal bileşenleri

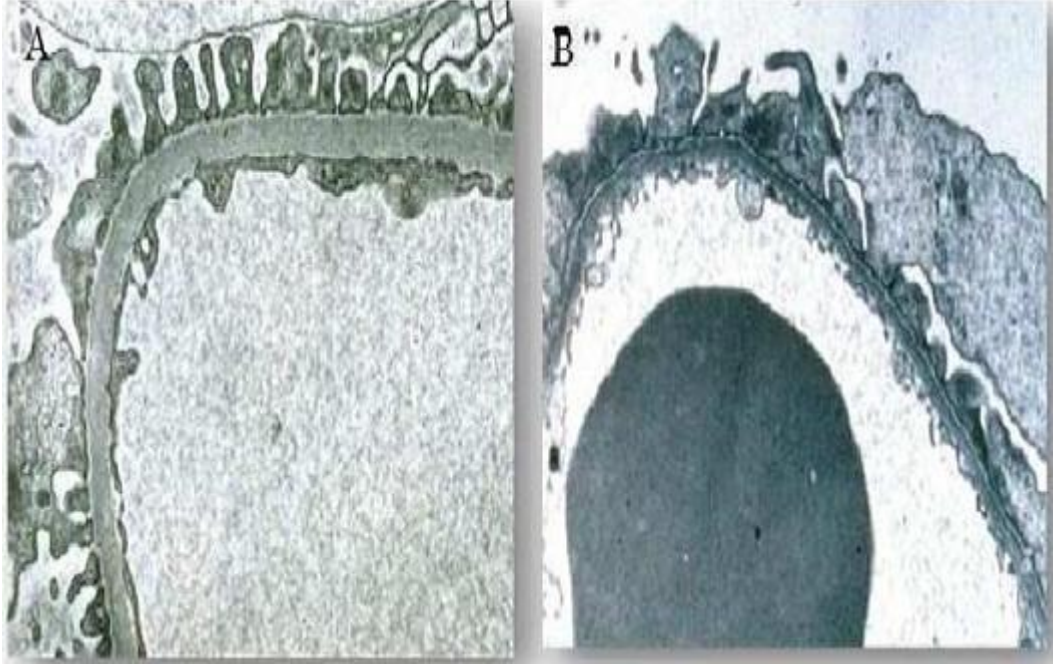
**Kapiller endotel hücreleri, GBM ve podosit ayakları çıkıntıları (FP). SD: Slit diafram komşu ayakları çıkıntıları arası bağlantıyı sağlar. Podosit hücresi içindeki mavi çizgiler aktin hücre iskeletini sembolize etmektedir (55)

Filtrasyon bariyeri, podosit ayakları çıkıntıları ve slit diaframın bütünlüğüne ve GBM'nin elektriksel yüküne bağlıdır (28). Slit diafram, glomerül filtrasyon bariyerinin biyolojik olarak aktif komponentidir. 1974'te Rodewald ve Karnowsky (56), elektron mikroskopunda tavşan ve sıçan böbreklerinde, SD'nin moleküler yapısını ve kompozisyonunu göstermişlerdir. SD; böbrekteki en önemli selektif filtrasyon bariyeridir. Komşu podosit ayakları çıkıntıları slit diafram (SD) olarak bilinen özelleşmiş hücre-hücre bağlantıları ile ilişki içindedir.

Podosit ve SD yapısında rol alan proteinlerde fonksiyon kaybı sonucu ortaya çıkan podosit ayakları çıkıntıları birleşme veya silinme ise NS'deki esas bozukluktur (podosit disfonksiyonu).

Ayrıca negatif yüklü heparan sülfat proteoglikandan oluşan GBM, negatif yüklü molekülleri, pasajdan aynı büyüklükteki pozitif yüklü moleküllere göre sınırlandırılıp uzak tutar. NS, GBM'nin negatif yükünde kayıp oluşması sonucu da ortaya çıkar.

NS'nin patogenezinde dolaşımdaki bazı faktörlerin glomerüler geçirgenliği arttırdığı düşünülmektedir. NS'li anneden doğan bebeklerin doğumda NS geliştirmiş olmaları (57), primer FSGS'li olguların post transplant hastalık rekürrensleri ya da protein A immünabsorpsiyonu ile rekürrensin tedavi edilebiliyor olması (58), FSGS rekürrensi geliştirmiş hasta serumlarının hayvanlara enjeksiyonu sonrası glomerüler geçirgenliğin arttığının gösterilmesi (39) bu konuda önemli kanıtları oluşturur.



Şekil 2.4. Glomerüler epitel hücrelerinin elektron mikroskopik görünümü

**A. Podositlerin ayaklı çıkıntıları SD ile çaprazlanmış slit porlar ile birbirinden ayrılır. B. Nefrotik sendromda, slit porlar kaybolur ve ayaklı çıkıntılar birleşir (1)

Primer immün mekanizmada hangi sitokinlerin ve lenfokinlerin etkili olduğu, relaps ve remisyondaki rolleri konusunda pek çok çalışma yapılsa da gerçek ilişki aydınlatılamamıştır.

2.1.9. Nefrotik Sendrom Patofizyolojisi

Sağlıklı çocuklarda 24 saatte idrarla protein atılımı 150 mg/gün'ü geçmez. Glomerüler kapiller lümeninden plazma proteinlerinin geçişi, glomerüler filtrasyon bariyerinin anatomik ve elektrostatik mekanizmaları ile önlenir. Glomerüler filtrasyon bariyerindeki geçirgenliğin bir şekilde artması sonucu görülen proteinüri; NS gelişiminde primer sorumlu patofizyolojik mekanizmadır (2). İdrarla en fazla kaybedilen protein; albümindir. Bunun yanında immünglobülinler gibi diğer plazma proteinleri, çeşitli koagülasyon faktörleri, vitamin D bağlayan protein ve metalloproteinler de idrarla kaybedilmektedir (1,2). Ödem, hipoalbüminemi ve hiperkolesterolemi, albüminürinin bir sonucudur (59).

Proteinüri Patofizyolojisi: Çocuklarda 40 mg/m²/saat'in üzerinde, erişkinlerde ise 3,5 g/gün'den fazla idrarda protein atılımı nefrotik proteinüri olarak kabul edilir (1,2,22). Normalde glomerüler filtrasyon bariyerinin seçici geçirgenliği ve proksimal



Şekil 2.5. Nefrotik sendrom patogenezi

tubulustan proteinlerin reabsorpsiyonu nedeni ile büyük molekül ağırlıklı proteinler idrarda görülmez. Glomerüler hastalıklarda, proteinlere karşı glomerüler geçirgenliğin artması, proteinüri ile sonuçlanır. Günümüzde proteinürinin patogenezi halen tam açıklanamamıştır. NS'de glomerüler geçirgenliğe bağlı proteinürinin oluşmasındaki primer faktörün, glomerüler filtrasyon bariyerindeki anyonik yükün azalmasına mı, glomerüler kapiller por çapındaki artışa mı, yoksa her ikisine mi bağlı olduğu konusunda kesin bir görüş birliği yoktur (4). MLH'de, glomerüler kapiller bariyerinde por çapında değişiklik olmadan proteinürinin tümüyle yüzey anyonik yükün kaybına bağlı olduğu görüşü ağırlık kazanmaktadır (12). Diğer yandan özellikle kronik glomerülo nefritlerdeki proteinürinin, her iki mekanizmanın da etkisi ile oluştuğu düşünülmektedir (4).

Glomerül filtrasyon bariyeri; endotel hücresi, glomerül bazal membran ve epitel hücresinden oluşur. Çapı 20 \AA 'dan küçük olan moleküller bu bariyerdeki fonksiyonel porlardan serbestçe geçerken, $20\text{-}40 \text{ \AA}$ arası moleküller için kısıtlı bir geçiş söz konusudur, çapı 42 \AA 'dan büyük moleküller ise glomerül bazal membran bariyerini geçemezler (4). Glomerül filtrasyon yüzeyindeki anyonik yükler, plazma proteinleri ve diğer makromoleküllerin kapiller lümeninden kaçışını önleyen önemli bir faktördür. Siyaloglikoprotein ve proteoglikanlar bazal membrana negatif yük ka-

zandırmakta, albümin gibi negatif yüklü moleküllerin geçişini engellemektedir. Heparan sülfat proteoglikanlarının ortadan kaldırılmasıyla albüminüri ortaya çıkabilir (11), ayrıca ayaksı çıkıntılardaki viseral epitelyal hücrelerin organizasyonunda rolü olan glomerüler siyaloprotein de bu bölgenin negatif yükünden sorumlu tutulmaktadır (4,12).

Protein kaybı sonucu ortaya çıkan çeşitli klinik ve laboratuvar bulguları Tablo 2.4'te gösterilmiştir.

Tablo 2.4. Nefrotik sendromda protein kaybının sonuçları

Kaybolan Protein	Sonuç
Albümin	Hipoalbuminemi, ödem
Lesitin-kolesterol acyltransferaz HDL	Trigliserid, kolesterol metabolizma bozukluğu, hiperlipidemi
Antitrombin III Plazminojen Anti-plazmin	Anormal fibrinolizis, tromboz riskinde artış
IgG Faktör B	Hipogammaglobulinemi, bozuk opozisyon, enfeksiyon riskinde artış
Transferrin	Hipokrom mikrositer anemi
Metal bağlayıcı proteinler	Yara iyileşmesinde gecikme
Vit-D bağlayıcı protein	Artmış metabolik kemik hastalığı riski
Transkortin	Kortizol metabolizmasında değişiklik
Tiroksin bağlayıcı globulin	Tiroid fonksiyon bozukluğu

Hipoalbuminemi Patofizyolojisi: Masif proteinüri neticesinde oluşan hipalbuminemi NS'nin değişmez laboratuvar bulgusudur (1,2,59). İdrarla protein kaybı ile serum albümin düzeyi arasında ters ilişki olmakla beraber bu her zaman geçerli değildir. Tedaviye cevapsız uzun süre proteinürisi devam eden çocuklarda protein

ekskresyon hızında değişiklik olmaksızın serum albümin seviyesi normal veya normale yakın bulunabilmektedir. NS'de hepatik albümin sentez hızı normal ya da artmış olabilir (4,60).

Plazmadaki diğer protein anormallikleri γ -globülinde azalma, normal yada düşük α 1-globülin, α 2 ve β -globülin ile fibrinojen seviyesinde artıştır. MLH başta olmak üzere nefrotik sendromlu hastalarda IgG seviyesi azalırken, IgM seviyesi artmaktadır (21-23,59).

Ödem Patofizyolojisi: NS'nin temel klinik bulgusudur (1,2,21-23). Klasik olarak NS'de görülen ödem, hipoalbüminemi sonucu plazma onkotik basıncında azalma ve buna sekonder su ve solütlerin interstisyel mesafeye geçmesi sonucu oluşmaktadır. Bu olay sonucu intravasküler volümde azalma meydana gelmekte, bu renin-angiotensin-aldosteron sistemini aktive etmekte ve sonuç olarak su ve tuz tutulumu artmaktadır (underfilling teorisi) (22,23). Bazı NS olgularında ise intravasküler volümün normal yada artmış olduğu, plazma renin aktivitesinin ise artmamış olduğu görülmüştür. Bu hastalarda sodyum tutulumunun intrarenal mekanizmalarla meydana geldiği düşünülmekte ve buna overfilling teorisi denmektedir (22,23).

Hiperlipidemi Patofizyolojisi: Serum total kolesterol (TK), trigliserid (TG), çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL), düşük dansiteli lipoprotein (LDL) konsantrasyonlarının artışı ile gelişen hiperlipidemi NS'nin önemli klinik bulgularından birisidir (4,21,22). Genel olarak kabul edilen lipoproteinlerin artmış hepatik sentezi sonucunda hiperlipideminin oluştuğu ve bunun hastalığın ciddiyeti ile korele olduğudur. Plazma albümini ve total kolesterol arasındaki zıt ilişki çok uzun süreler önce tanımlanmıştır (59). Trigliseridlerin seviyesi daha değişken olup hafif hipoalbüminemide normal sınırlarda bile olabilmektedir (59-61). Ancak albümin sentezi ile hiperlipidemi arasındaki ilişki henüz netleşmemiştir. Hiperlipidemi artmış sentez yada azalmış yıkım sonucu meydana gelmektedir. Artmış sentez genellikle albümin sentez artışı ile birlikte dir. Çünkü lipoproteinler ve albümin birbirine çok yakın metabolik yollarla karaciğerde sentezlenmektedir (59). NS'li hastalarda serum albümin düzeylerindeki düşüş ile serum total kolesterol (TK) düzeylerindeki yükseklik arasında ilişki olduğu öne sürülmüş, ancak remisyona giren hastalarda hiperlipideminin devam ediyor olması, dislipidemi patogenezinde başka faktörlerin de etkili olduğunu düşündürmüştür. Azalmış plazma onkotik basıncına rağmen artmış hepatik lipoprotein sentezinin ve idrarla kaybedilen düzenleyici bir maddenin kaybının veya her ikisinin birlikte olmasının patogenezinde anahtar rol oynadığı düşünülmektedir (8). Deneysel NS modellerinde yapılan çalışmalarda artmış hepatik 3-hidroksi-3-metil glutaril-koenzim A (HMG-KoA) redüktaz ve açıl koenzim a-kolesterol açıl transferaz

aktiviteleri ile azalmış kolesterol 7 α hidroksilaz ve lipoprotein lipaz aktiviteleri gösterilmiştir (62-64). Lipoprotein lipaz aktivitesindeki azalma ile giden azalmış lipoprotein katabolizması da hiperlipidemiye katkıda bulunmaktadır (65,66). Plazmada lipolizinin azalması sonucu VLDL'de ,azalmış lipoprotein lipaz aktivitesi sonucunda da trigliseridlerde artış olur. Onkotik basınç değişikliklerinin apolipoprotein metabolizmasına etkisi, mevalonatın böbrekten temizlenmesinin azalması ve buna bağlı hepatik kolesterol sentezinin artışı bu faktörler arasında sayılmaktadır (67,68). Serum yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) düzeyleri ile ilgili yapılan araştırmalarda çelişkili sonuçlar saptanmıştır.

2.1.10. Nefrotik Sendromda Klinik

NS'li hastaların tipik klinik bulguları ödem, iştah azalması, irritabilite, gastrointestinal rahatsızlık ve enfeksiyonlara yatkınlık şeklinde sıralanabilir (1,2,17,21-23).

NS'li hastalarda tipik klinik bulgu ödemdir. NS'de ödem başlangıçta genellikle fark edilmez ve sinsidir. Ödem gün içerisinde pozisyonla yer değiştirir; sabah göz kapaklarında daha belirgin iken günün ilerleyen saatlerinde alt ekstremitelerde belirgin hale gelir (2,4,17,23,24). Ödem derecesi aynı şekilde kalabileceği gibi hızla ilerleyip asit, plevral effüzyon ve şiddetli skrotal/labial ödem ile karakterize, anazarka tarzı ödem de gelişebilir. Asit ve plevral effüzyon üçüncü boşluklarda sıvı birikimi sonucu oluşur, bu durumlarda karın şişliği, solunum sıkıntısı gibi bulgular klinik tabloya eşlik edebilir (2,4,17,23,24). Hastalarda ödemin ortaya çıkışı ile birlikte idrar miktarında azalma, renginde koyulaşma ve kilo artışı olur. Jeneralize ödemin uzun süre devam etmesi durumlarında ödem batına sınırlanır, vücudun diğer bölgelerindeki ödem kaybolabilir (1,2,21-23).

NS seyri sırasında çok basit şikayetten ensefalopatiye kadar uzanan klinik yelpazede hipertansiyon tablosu ortaya çıkabilir (1,2,22,23). MLH'de hipertansiyon sıklığı %12 - 15 arasında izlenmekte olan nadir bir bulgudur (2,24). MLH dışındaki diğer histopatolojik lezyonlara sahip hastalarda ise sık karşılaşılan bulgulardandır.

Hematüri; MLH'de görülebilmemesine rağmen beklenen bulgu değilken MLH dışındaki glomerülonefritli hastalarda daha sık görülebilmektedir (1,21-23). Geçici mikroskopik hematüri, MLH olgularının %15'inde görülebilenken, FSGS'de daha sık olarak ortaya çıkmaktadır. Makroskopik hematüri ise; komplike olmayan MLH hastalarında yoktur, fakat FSGS ve MezPGN olgularında nadiren görülebilmektedir (4).

NS'li çocuklarda gastrointestinal sistem bozukluklarına da sıklıkla rastlanır. Diyare, özellikle masif ödem evresinde görülür ve intestinal mukozadaki ödem ile açıklanır. Albümin sentezindeki artış ve ödeme bağlı olarak hepatomegali görüle-

bilir. Spontan peritonite bağlı akut batın tablosuna rastlanabilir. Aşırı asit ve plevral effüzyon sonucu solunum sıkıntısı oluşabilir (22,23).

Yaygın olarak görülen iştahsızlık, ödemin şiddeti ve mevcut bir infeksiyonun varlığı ile yakından ilişkilidir. Anoreksi ve masif proteinüri nedeni ile tedaviye dirençli olgularda malnutrisyon gelişebilir (4,69).

2.1.11. Nefrotik Sendromun Komplikasyonları

Enfeksiyöz Komplikasyonlar: NS'de en sık rastlanan komplikasyon; enfeksiyöz komplikasyonlardır. Enfeksiyona eğilimin sebebi; idrarla immünglobülinlerin kaybı neticesinde meydana gelen immünglobülin seviyelerinde düşüş, hücresel immünite bozukluğu, kompleman komponentlerinin kaybı sonucu oluşan opsonizasyon defektleri, lökositlerin bakterisidal aktivitesinde azalma, tedavide immünsüpresif kullanımı, ödem sıvısının vasat ortamı benzeri etki oluşturması, hipovolemiye bağlı olarak dalak perfüzyonunun bozulması şeklinde özetlenebilir.

Kompleman komponentlerinin idrarla kaybına bağlı opsonizasyonun bozulması, splenik disfonksiyon ve immünsüpresif ilaç kullanımı sonucu hastalarda özellikle kapsüllü mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonlara karşı yatkınlık artar. En sık rastlanan ajanlar streptococcus pneumonia, haemophilus influenza ve gram negatif mikroorganizmalardır. Spontan bakteriyel peritonit en sık enfeksiyon tablosudur (sıklık %2 - 6) (70). Bunun yanı sıra sepsis, pnömoni, selülit, idrar yolu enfeksiyonları da görülebilmektedir (2,5,70,71). Bu sebeple nefrotik sendromda proflaktik penisilin tedavisi önerilmektedir (72).

Tromboembolik Komplikasyonlar: NS'li hastalarda tromboz riski %1,8 - 5,0 oranında bildirilmiştir. Artmış tromboz riski nedenleri; pıhtılaşma faktörlerinin düzeylerinde artış (2,17,19-23,60), antikoagülanların idrarla kaybı, trombositoz ve trombosit agregasyonunda artış, hiperviskosite ve hiperlipidemi, immobilizasyon, diüretik ve kortikosteroid kullanımı, vasküler katater bulunması şeklinde sayılabilir.

Tromboz riski düşük olmasına rağmen ciddi klinik tablolara yol açabilmektedir. Bunlardan en sık görüleni renal ven trombozudur. Antitrombin 3 seviyesindeki düşüşe bağlı olarak pıhtılaşma eğilimindeki artış bu tablodan sorumludur. Profeksi normal koşullarda önerilmemekle beraber bir trombotik olay geliştiğinde 6 ay süre ile warfarin kullanımı önerilmektedir (35).

Kardiyovasküler Hastalıklar: Uzun süreli NS hastalarında hiperlipidemi, steroid tedavisi, hipertansiyon, oksidatif stres, hiperkoagülabilitate ve anemiye bağlı olarak kardiyovasküler hastalık riski artmıştır (2,73,74). Çocuklarda tedavinin gerekliliği tartışmalıdır, erişkinlerde ise HMG-CoA redüktaz inhibitörleri kullanılmaktadır.

Diğer Komplikasyonlar: Kemik dansitesinde azalma riski; steroid kullanımı, Vitamin D bağlayan proteinin idrarla kaybına bağlı Vitamin D eksikliği, sekonder hiperparatiroidizm , kalsiyumun azalmış intestinal absorpsiyonu nedeni ile artmaktadır (41,70). Büyüme geriliği; iştahsızlık, idrarla artmış protein kaybı, barsak mukozada ödeme nedeni ile oluşan malabsorpsiyon sonucunda görülmektedir (41). Hipotiroidi, anemi, diüretik ve albümin tedavilerine bağlı hiper/hipovolemi, ilaç toksisitesi ise diğer görülebilen medikal komplikasyonlar arasında sayılabilir (70,75,76).

2.1.12. Nefrotik Sendromda Laboratuvar

NS'de laboratuvar değerlendirme; NS'nin tanısı, şiddetinin belirlenmesi, olası etyolojik etkenlerin tespiti, renal biyopsi ile kesin histolojik tanının konması için yapılmaktadır (4,22).

Proteinüri: Tanı için mutlak şart olan ana laboratuvar bulgusudur. Nefrotik düzeyde proteinüri sınırı çocuklarda >40 mg/m²/saat ya da >1 g/m²/gün olarak tanımlanmıştır (4). Proteinüriyi farklı ölçüm şekillerine göre tanımlamak mümkündür; (4)

1) Kalitatif yöntem; daldırma çubuğu (dipstick) ile değerlendirme yapılır.

- dansitesi 1015'in altında olan üç idrar örneğinin ikisinde dipstick yöntemi ile 1+ protein varlığı

- dansitesi 1015'in üzerinde olan idrar örneklerinde 2+ protein varlığı

2) Semikantitatif yöntem; sabah idrarında protein/kreatinin (mg/mg) oranı değerlendirilir.

- $<0,2$ normal

- 0,2 - 2,0 hafif proteinüri

- $>2,0$ ağır proteinüri (nefrotik düzey)

3) Kantitatif yöntem; 12 - 24 saatlik idrar örneklerinde ölçüm yapılır.

-normal: <4 mg/m²/saat ya da <100 mg/m²/gün

-anormal: 4 - 40 mg/m²/saat ya da 100 - 1000 mg/m²/gün

-nefrotik düzey: >40 mg/m²/saat ya da >1000 mg/m²/gün

Hipoalbüminemi: NS'de serum albümin düzeyi $<2,5$ g/dl'dir. Hipoalbüminemiyi düzeltmek amacı ile artan hepatik senteze bağlı olarak serum α -2 ve β -globülin düzeyleri artmıştır. Albümin/globülin oranı sıklıkla < 1 dir (21,22). Serum IgG düzeyi azalırken, IgE ve IgM düzeyleri ise artmıştır (4).

Hiperlipidemi: Serum total kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserid seviyeleri artmıştır (21-23).

Hematüri: MLH'de seyrek olarak da olsa mikroskopik hematüri görülebilmektedir. Makroskopik hematüri varlığı ise MLH dışı nedenleri akla getirmelidir.

Böbrek fonksiyon bozukluğu: NS'de akut dönemde hafif ve geçici böbrek yetersizliği bulguları görülebilmektedir. Kalıcı ve progresif üre ve kreatinin artışları ise MLH dışı NS nedenlerini düşündürmelidir.

Serum kompleman düzeyleri: Ayırıcı tanıda gereklidir. Özellikle hipertansiyon, makroskopik hematüri veya azalmış böbrek fonksiyonu olan vakalarda ölçülmelidir. MLH'de serum kompleman düzeyleri normal iken; APSGN, MPGN, SLE'de düşüktür (4,23).

Diğer: Sekonder NS tanısı için hepatit serolojisi, sfiliz ve EBV araştırması yapılması önemlidir. Risk grubundaki hastalarda AIDS için de araştırma yapılması gerekir. Sekonder NS nedeni olduğundan SLE için ANA, anti-DNA bakılmalıdır (4,22).

Böbrek Biyopsisi: Çocukluk çağı NS'lerinin büyük çoğunluğunu MLH oluşturduğundan ve steroide yanıtı iyi olduğundan seçilmiş bazı vakalarda biyopsi önerilmektedir. NS'de steroid tedavisine yanıtızsızlık, C3 düşüklüğü, tanı anında hastanın 1 yaş altında ya da 10 yaş üzerinde olması (çünkü bu yaş sınırları dışında MLH görülme sıklığı oldukça azalmaktadır), makroskopik hematüri varlığı, ciddi hipertansiyon olması, böbrek fonksiyonlarında bozulma, sistemik hastalık bulgusu biyopsi endikasyonlarını oluşturmaktadır.

2.1.13. Nefrotik Sendromda Tedavi

NS'li vakalarda destek tedavisi ve spesifik tedavi olmak üzere iki tedavi yaklaşımı uygulanır (22).

Destek Tedavisi

Destek tedavisinde önemli olan faktörler diyet, aktivite ve diüretik tedavisidir (1,2,22,23).

Diyet: Şiddetli ödem varlığında tuz kısıtlamasına gidilir. Sıvı tüketimi hastanın isteğine bırakılmalıdır. Sıvı kısıtlaması özellikle orta-ağır hiponatremide (Serum Na<125 mEq/L ise) önem kazanmaktadır (23). Protein alımında ise artış yada kısıtlamaya gerek yoktur. Hastanın yaşı ve ağırlığına uygun protein ve kalori alımına dikkat edilmeli, hastanın diyetsel kısıtlamaları iştahını kaçırarak düzeyde olmamalıdır (23).

Aktivite: Aktivite kısıtlamasının hastalığın progresyonu ya da prognozu üzerine etkisi bulunmamaktadır (22,23).

Diüretik ve albümin tedavisi: Diüretik tedavisi solunumsal ve gastrointestinal bulgulara sebep olan masif ödem durumunda, aktivitenin kısıtlandığı durumlarda

ve akut böbrek yetmezliği olan vakalarda endikedir. Ayrıca diüretikler böbrek biyopsisi öncesi ödemi azaltmak için ve ödeme bağlı olduğu düşünülen cilt ve periton enfeksiyonu varlığında verilebilir. Devamlı diüretik tedavisi ise dirençli ödemi olan vakalarda verilmektedir. Bu hastalarda furosemid 1 - 2 mg/kg kullanılır. Diüretikler intravasküler volümü azaltarak hiperviskositenin artışına ve tromboemboliye sebep olabileceğinden dikkatli kullanılmalı, gerekiyorsa öncesinde albümin infüzyonu önerilmektedir (0,5 - 1 g/kg infüzyon). Albümin tedavisi hızla etkili olsa da proteinüri devam ettiğinden etkisi kısa sürelidir (3,22,23).

Spesifik Tedavi

NS'li hastalarda ilk tedavi seçeneği steroidlerdir. Steroide yanıt vermeyen vakalarda ise sitotoksik ilaçlar kullanılmaktadır. Bu iki grup ilacın kullanıma girmesi ile NS'li olguların klinik seyrinde büyük iyileşme sağlanmıştır (1,2,17,22,23,77).

Kortikosteroidler: Günümüzde NS tedavisinde steroidlerin yeri tartışılmaz olmasına rağmen kesinleşmiş bir tedavi rejimi bulunmamaktadır. Bununla birlikte Çocuk Nefroloji Derneği'nin önerisi doğrultusunda halen birçok merkezde uygulanmakta olan tedavi protokolü şu şekildedir; 60 mg/m²/gün (2 mg/kg/gün) prednisolon, günde 3 - 4 eşit dozda başlanıp 4 - 6 hafta bu şekilde devam edilmesi, ardından 40 mg/m²/günaşırı tek doz 4 - 6 hafta, daha sonra da steroidin azaltılarak toplam tedavinin 4 - 6 aya tamamlanması şeklindedir (71,78,79). Tedaviye cevap; 4 - 6 haftalık steroid tedavisi süresince herhangi bir zamanda 3 gün arka arkaya idrar çubuğu yöntemi ile proteinürinin negatif veya eser saptanması veya idrarda proteinin 4 mg/m²/saatin altına düşmesi veya idrar protein/kreatinin oranının <0,2 olması şeklinde tanımlanır. Relaps olan hastalarda ise proteinüri kaybolana kadar 60 mg/m²/gün yükleme dozunun 3 - 4 eşit dozda verilmesi, ardından 40 mg/m²/günaşırı tek doz 4 hafta süre ile verilip azaltılarak kesilmesi şeklinde uygulanmaktadır (80,81). Steroidlerin etki mekanizması; monosit ve lenfosit sayısında azalma, immünglobülinler ve kompleman konsantrasyonlarında azalma, hasarlanma bölgesinde lökosit toplanmasında azalma ve membran stabilizasyonudur (22). Ancak NS'de steroidlerin hangi mekanizma üzerinden etki gösterdikleri bilinmemektedir. Steroid tedavisine cevap almayan yatan glomerüler patolojiye bağlıdır. 6 haftalık tedaviden sonra MLH'li hastaların %95'i remisyona girmektedir. İlk birkaç haftada ise steroidlere cevap %75 oranında gerçekleşmektedir (1,2,17,22,77,81,82). Pulse metilprednisolonun; steroidlere yanıtı olmayan bazı vakalarda (Ör. FSGS gibi) yararlı olduğu gösterilmiştir (22,83).

Sitotoksik ilaçlar: NS'de sitotoksik ilaç kullanım endikasyonları; uzun süre steroid kullanımına bağlı yan etkilerin azaltılması, sık relaps olanlarda uzun vadeli

remisyonun sağlanması, steroide cevap vermeyen vakalarda remisyonun sağlanmasıdır (22).

Siklofosfamid: Sitotoksik özelliğinin yanında immünsüpresif özelliğe de sahip olup DNA üzerinden hücrenin mitotik aktivitesini engelleyerek daha çok B hücreler üzerine etki eden bir ilaçtır (4). Oral tedavide 2 - 2,5 mg/kg/gün, 8 - 12 hafta süre ile toplam doz 168 mg/kg'ı geçmeyecek şekilde verilir. İntravenöz pulse tedavide 500 mg/m²/doz aylık uygulamalar şeklinde toplam 6 aylık tedavi olarak önerilir.

Klorambusil: Alkilleyici ajanlar grubundan olup etkileri siklofosfamide benzerdir. Karaciğerde metabolize edilir, idrarla atılımı çok azdır (61). 0,1 - 0,2 mg/kg/gün birikmiş doz 7 - 10 mg/kg'ı geçmeyecek şekilde 8 - 10 hafta süre ile verilir (84,85).

Azatiopirin: Dokularda 6-merkaptopürine dönüşerek etkin hal alır, IV ve oral kullanılabilir (4).

Siklosporin A: T hücrelerini baskılayarak etki eden bir immünsupresiftir. Son yıllarda steroide rezistan NS'lerin tedavisinde kullanımı artmıştır (81).

Takrolimus: Makrolid grubu bir antibiyotik olmasına rağmen CD4 helper hücreler üzerinde seçici inhibitör etkiye sahiptir. Diğer tedavilere yanıtız NS'lerde alternatif tedavi olarak kullanılmıştır (86).

Mikofenolat Mofetil: Günümüzde özellikle lupus nefritinin tedavisinde kullanılan bir immünsüpresiftir. Çoklu ilaç direnci olan NS'lerin tedavisinde de kullanılmaya başlanmıştır (87).

Levamisol: T hücre stimülasyonu yapan immünomodülatör bir antihelmintiktir. Bazı steroide duyarlı ve bağımlı vakalarda remisyon sağladığı bilinmektedir. Önerilen doz 2 mg/kg/günaşırı olup 1 - 18 ay süre ile verilmektedir (21,22,88-91).

Vasküler dinamikleri değiştiren ilaçlar, antikoagülan ilaçlar: Anjiotensin converting enzim inhibitörleri (ACE inhibitörleri); Antihipertansif etkiye sahip ACE inhibitörlerinin kullanılması ile hayvan modellerinde proteinürinin azaldığı gösterilmiştir (92,93). Etki mekanizması bilinmemekle birlikte hemodinamik değişiklikler üzerinden etki ettiği sanılmaktadır (94,95).

Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar; özellikle indometazinin proteinüriyi azalttığına dair yayınlar olmasına rağmen sonuçlar pek ümit verici değildir (21).

Antikoagülan ve antitrombotik ilaçlar; hayvan ve insan modellerinde antikoagülan tedavinin yeri halen açıklanamamıştır. Ancak dipridamol kullanımının MPGN'de düzelme sağladığının gösterildiği yayınlar da vardır (22).

Aşılama: NS'li olgularda enfeksiyonlara eğilim arttığından hastaların aşılması tedavinin önemli bir parçasıdır. Aşılamada dikkat edilmesi gereken kurallar ise şu şekilde sıralanabilir:

- Aktif hastalık döneminde hiçbir aşı önerilmez.
- Düşük doz steroid tedavisi altında ve remisyonda iken ölü aşılar yapılabilir.
- Canlı aşı olan oral polio yerine inaktif polio aşısı yapılmalıdır. Yüksek doz steroid alan hastaların yakın temasta oldukları kişilere de canlı polio aşısı verilmez.
- Sitotoksik tedavi alan hastalara canlı aşılar verilmez.
- Pnömonokok ve suçiçeği aşıları önerilir.
- Birçok relapsın öncesinde üst solunum yolu enfeksiyonu (ÜSYE) olduğundan NS'li hastalara yıllık influenza aşısı yapılması önerilmektedir (70,79,96).

2.1.14. Deneysel Nefrotik Sendrom

Deneysel NS modeli; NS'nin patofizyolojisinden sorumlu olduğu düşünülen immünolojik olayları belirlemek, histopatolojik değişiklikleri ve bunların biyokimyasal parametreler üzerine etkilerini ortaya koyabilmek ve nefrotik sendrom tedavisinde yeni yöntem veya ilaçları denemek amacıyla dışardan verilen toksik ya da immünolojik uyarımlarla hayvanlarda oluşturulan nefrotik sendromdur (18,97-99,102-105).

Puromisin aminonükleozid nefriti: Puromisin aminonükleozid nefritinin (PAN), MLH benzeri tablo oluşturduğu bilinmektedir (97,98). PAN'nin intraperitoneal olarak verilmesinden 24 saat sonraki dönemde glomerül geçirgenliğinde ve morfolojide değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Podositlerdeki düzleşme tipik bulgulardandır (99). Albüminüri şiddetinin ayaksı çıkıntılardaki değişikliklerin şiddeti ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (100,101). PAN'nin podositlere spesifik toksisitesi varken, mezengial hücreleri, endotelial hücreleri ve inflamatuvar hücresel yanıtı etkilememektedir. Toksik etki mekanizması tam anlaşılammakla beraber, oksijen radikallerinin rolü olduğu bildirilmektedir.

Adriamisin (doksorubisin) ile oluşturulan nefrotik sendrom: Antineoplastik bir ajan olan adriamisin progresif glomerüler hastalığa neden olarak 4 - 6 hafta içinde hafif derecede renal yetmezlikle giden nefrotik sendrom tablosu oluşturmaktadır (18,19,97,100,101). Uzun süreli proteinüri tablosunun devam etmesi ile 12 - 16. haftalarda FSGS tablosu oluşumuna yol açar (102,103). NS ve tedavisi için kullanılan ajanların böbrek üzerindeki uzun vadeli etkilerini ortaya koymak için ideal bir model oluşturur (102).

Bertani (18,19) ve arkadaşları 7,5 mg/kg tek doz intravenöz adriamisin vererek sıçanlarda nefrotik sendrom oluşturmuş, deney bitiminde hem biyokimyasal parametreleri, hem de böbrekten alınan parçaların histopatolojisini incelemişlerdir. Bu çalışmalarda adriamisin verdikten 4 - 5 gün sonra proteinürinin başladığını, tam nefrotik sendromun 15. günde ortaya çıktığını ve patolojik bulguların ise 28. günde

MLH ile uyumlu olarak ortaya çıktığını göstermişlerdir. Okuda (101) ve arkadaşları kronik progresif glomeruler hastalık oluşturmak için adriamisini kullanmışlar ve benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Nefrotik sendrom modelinin sadece adriamisinin intravenöz verilmesiyle değil aynı zamanda 5 mg/kg tek doz intraperitoneal adriamisin enjeksiyonundan sonra da nefrotik sendrom oluşturulabildiği gösterilmiştir (106). Daha önce yapılan farklı çalışmalarda 10 mg/kg intraperitoneal adriamisin tek doz, verilen tüm sıçanlarda deneysel nefrotik sendrom oluşturduğu gösterilmiştir (18,105,106).

Adriamisin ile heparan sülfatın elektriksel yoğunluğunda ve glomerüler kapiller duvarda epitelyal membran sialik asitte meydana gelen azalma ile glomerüler elektriksel seçicilikte bozulma sonrası proteinüri meydana gelir (107,108). Bu modeldeki proteinürinin hacim bariyerindeki kayba bağlı olduğu çoğunluk tarafından kabul edilmekle beraber morfolojik incelemelerde heparan sülfatta azalma olmaksızın epitelyal ayrışmanın olması dikkat çekmektedir (102,107). Ayrıca oksijen radikallerinin de proteinüriden sorumlu olduğu ileri sürülmüştür (108-110). Jeansson ve arkadaşları yapmış oldukları bir çalışmada (111), adriamisinin proteoglikan sentezini azaltarak glomerüler glikokaliksi incelttiği, glomerüler bazal membranı etkilemediği ancak endotelyal yüzey kalınlığını azaltarak glomerüler yükü ve büyüklüğe bağlı selektiviteyi değiştirdiğini göstermişlerdir.

Heymann nefriti: İnsan membranöz glomerülonefritine benzer bulgular ortaya çıkaran otoimmün bir patolojidir (20,104). Sıçan böbrek korteksinden hazırlanan ekstre ile aynı tür sıçanın immünizasyonunu takiben 6 - 8 hafta içinde proteinüri oluşur. Glomerül kapiller epitelyum hücresi ve proksimal tübül fırçamsı kenar epitelyum hücrelerindeki antijene karşı oluşan antikolar ile MPGN benzeri tablo oluşur (104,112).

2.1.15. Nefrotik Sendromda Prognoz

Steroid cevabı en önemli prognostik faktördür. Steroide cevap veren hastaların %60 - 80'inde relaps olmaktadır. Tanı anında hastanın dört yaşından büyük olması, steroid tedavisine başlandıktan sonra ilk hafta içinde remisyon sağlanması, başlangıçta mikroskobik hematürinin bulunmaması daha az relaps olasılığının göstergesidir (113,114). Dört yaşından önce tanı almış olması ve çocukluk döneminde relaps sayısının fazla olması ise erişkin dönem relapsları için risk oluşturmakla beraber kronik böbrek yetmezliği oluşum riski düşüktür (115).

2.2. Ghrelin

2.2.1. Ghrelin Doku Dağılımı

Oreksijenik hormon olarak da bilinen ghrelinin; hormon olarak keşfedilmesinden önce, 1996 yılında reseptörü GHS-R (büyüme hormonu salgılatıcı reseptör) tanımlanmış ve G protein ailesine ait olduğu saptanmıştır (116). Sonraki yıllarda bu reseptörün endojen ligandı aranmaya başlanmış ve ghrelin 1999 yılında ilk olarak Masayasu Kojima ve arkadaşları tarafından (116) farelerin midesinde GHS-R1'e bağlanmış endojen bir ligand olarak tanımlanmıştır (117). Daha sonra iştah üzerine etkilerinin tespit edilmesi üzerine "appetite hormone" (iştah hormonu) olarak da adlandırılmıştır (118).

Ghrelin, öncelikle mide fundusunda oksintik bezde (midenin asit salgılayan parçası) bulunmuştur. Ghrelin salgılayan hücreler midede mukozal epitelyumda bulunan ayrı bir endokrin hücre tipidir (119).

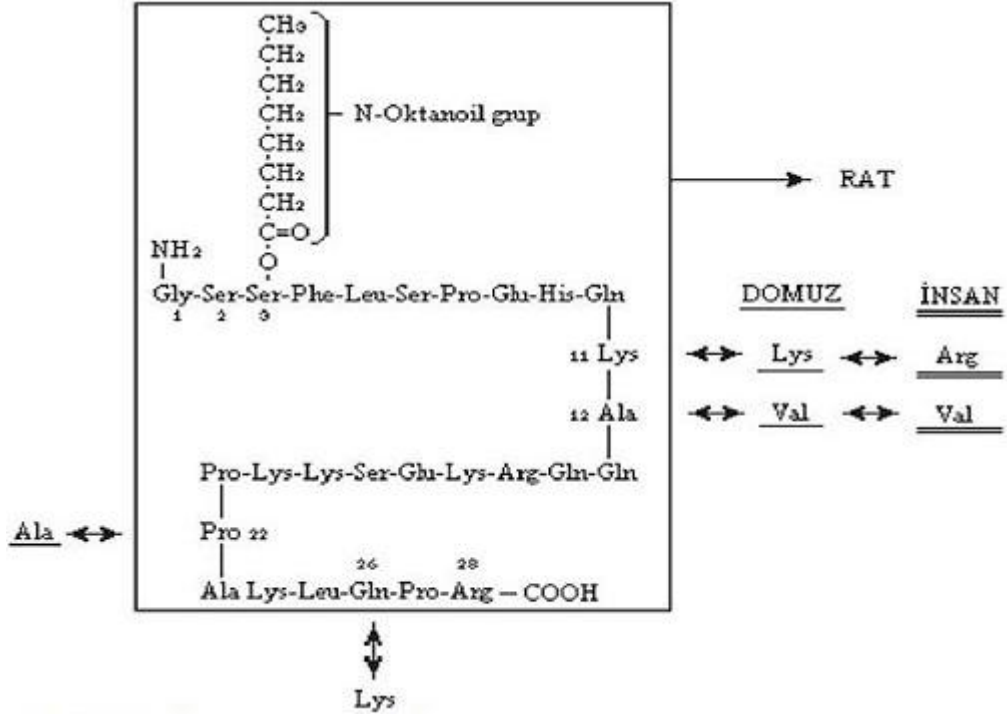
Tüm omurgalı türlerinde esas olarak mide fundus bölgesinde üretilen (119,120), 28 aa'lık lipopeptid yapıda bir hormon olan ghrelin, mideden başka hipotalamus, hipofiz, tükürük bezi, tiroid bezi, ince barsaklar, kolon, böbrekler, kalp, pankreasın α , β ve epsilon hücreleri, santral sinir sistemi, akciğer, plasenta, gonadlar, immün sistem, dalak, meme bezleri, tümöral dokular ve dişlerde de sentezlenmektedir (121-125). Gastrointestinal sistem dışında ghrelinin fizyolojik rolü otokrin/parakrin faktör düzeyindedir ve henüz anlaşılammıştır (119).

Memelilerde ghrelin homologları insan, sıçan, rhesus maymunu, fare, gerbil, inek, domuz, amfibi, kuş, balık, koyun ve köpeklerde tanımlanmıştır (122). Memelilerde ghrelinin aminoasit dizilimi yüksek oranda korunmuştur. İnsan ve sıçan ghrelinleri arasında sadece 2 aa'lık fark bulunur (122).

Ghrelinin kan beyin bariyerini geçebileceği gösterilmiştir. Fare ghrelini insan ghrelininden 2 aminoasit farklı olduğundan (Şekil 2.6) dolayı beyinden kana geçebilir ancak kandan beyne çok az geçer. İnsan ghrelini ise her iki yöne de geçebilir.

Ghrelinin dokularda ve plazmada 2 ana formu bulunur; bunlar ghrelin peptidinin 3. aa'i olan serinin (ser) n-oktanoik asitle modifikasyona uğrayan biyolojik olarak aktif formu ve inaktif des-açil-ghrelin formudur (126).

İnsan plazmasında n-oktanoil ghrelin 10 - 20 fmol/ml, total ghrelin ise 100 - 150 fmol/ml konsantrasyonlarda saptanmıştır (127). Plazma ghrelin konsantrasyonları açlık durumunda artar (214). Kanda ghrelinin des-açil formu açillenmiş ghrelininden çok daha yüksek düzeylerde bulunur (128). Vücudumuzda birçok peptid hormonun sadece aktif olanlarının değil, inaktif olanlarının da bulunduğu bilinmek-



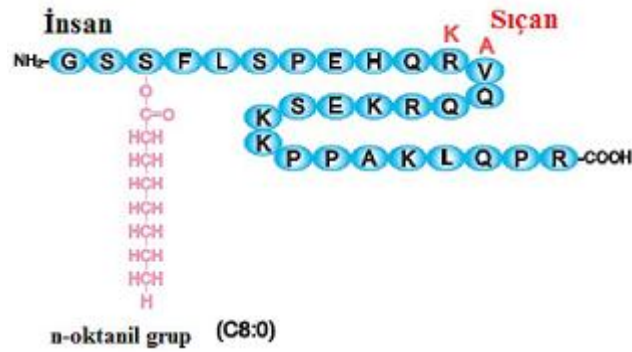
Şekil 2.6. Ghrelinin aminoasit dizilimi

tedir. İnaktif formların klirens hızları aktif formlara göre düşük, yarı ömürleri daha uzundur. İnsanlarda ve farelerde yapılan bazı çalışmalar, çok yüksek düzeylerde açillenmemiş ghrelinin, açıl ghrelinin bazı fonksiyonlarını inhibe ettiğini göstermiştir (129). Gittikçe artan sayıda çalışma açillenmemiş ghrelinin biyolojik rolü olduğunu belirtmektedir. Açillenmemiş ghrelinin, adipogenezde (129), lipolizde (130), glukoz homeostazisinde (131), hücre proliferasyonunda (132), apoptoziste (133) ve kardiyovasküler fonksiyonlarda (134) etkili olduğu belirtilmektedir. Bu etkilerin alternatif bir reseptörle olduğu hipotezi yaygındır. Açillenmemiş ghrelin klasik ghrelin reseptörüne bağlanmaz ve bu şekilde aktive olmaz. Baldonzi ve arkadaşları (133) kardiyovasküler sistemde başka bir ghrelin reseptörünün varlığından bahsetmişlerdir. Açillenmemiş ghrelinin spesifik bir reseptörünün olduğunun bulunması fizyolojik rollerini aydınlatacaktır. Açillenmemiş ghrelinin bu fonksiyonları endokrin olmayan etkilerdir.

2.2.2. Ghrelinin Etkileri

Ghrelinin organizmada çok çeşitli sistemler üzerine etkili olduğu gösterilmiştir.

Yemek yeme üzerine etkisi: İştahın beyin tarafından kontrol edildiği ve yemek yemenin merkezi sinir sistemindeki ve özellikle hipotalamustaki kompleks mekanizmalar tarafından düzenlendiği kabul edilmektedir (135). Ghrelinin yemek yeme



Şekil 2.7. İnsan ve sıçan ghrelininin n-oktanoik asitle modifikasyona uğramış formlarının şeması (122)

üzerine etkisi GH'dan bağımsızdır. Ghrelin üreten nöronlar hipotalamusta *arcuate nucleus* (ARC) bölgesinde bulunur. Bu bölge leptinin de etki ettiği bölgedir. *Neuropeptide Y* (NPY) ve *Agouti-related peptide* (AgRP) adlı oreksijenik peptidler, ARC'de aynı nöronlarla leptin reseptörü üzerinden etkisini gösterir (136). Hipotalamusta lokal olarak da sentezlenen ghrelin, direkt olarak arkuat nükleustaki NPY, AgRP ve diğer hücreleri uyarmaktadır (121). Ghrelinin santral sinir sisteminde iştah artırıcı etkilerini esas olarak bu iki sistem üzerinden yaptığı düşünülmekte olup son yıllarda yapılan çalışmalarda NPY den yoksun farelerde ghrelin verilmesinin iştahı artırdığının gözlenmesi ghrelinin etki mekanizmasında, AgRP sisteminin anahtar rol oynadığını düşündürmektedir (137). İntraserebroventriküler ghrelin uygulamasının ARC'de NPY ve AgRP mRNA düzeylerini artırdığı, periferal ghrelin uygulamasının ise hipotalamik nöronları ve gıda alımını stimüle ettiği gösterilmiştir. Genellikle, periferal olarak enjekte edilen peptidler kan beyin bariyerini geçemezler. Periferal ghrelinin bariyeri geçme hızı son derece yavaştır. İndirekt etki yoluyla hipotalamik bölgeyi etkilediği düşünülmektedir (136).

Ghrelinin barsak-beyin aksı yoluyla gerçekleşen sekresyonunun ve etkilerinin regülasyonu, büyüme hormon sekresyonu ve enerji balansında önemli bir düzenleyici olarak kabul edilmiştir. Ghrelin hormonu, oreksijenik ve adipojenik etkili olup açlık ve hipoglisemiye cevap olarak midede üretilip sekrete edilmiştir (138). Gastrointestinal sistemden salınan ve açlık hissi uyandırdığı bilinen tek uyarı mide mukozasında bulunan ghrelindir. Santral ve/veya periferik yolla verilmesi iştahı ve besin alımını artırır. Yemek öncesinde plazma ghrelin düzeyi en yüksek düzeyine ulaşmakta ve yemek sonrası düzey düşerek tekrar artmaya başlamaktadır. Ghrelin bu özelliği ile öğün başlatıcı olmaktadır. Etkisini arkuat ve soliter trakt nükleus yoluyla hipotalamusta gösterir (139).

Gastrik ghrelin üretimi nutrisyonel ve hormonal faktörlerle düzenlenir. Somatostatin, interlökin 1 β , growth hormon, yüksek yağlı diyet ve vagal tonus inhibe ederken açlık ve düşük protein içeren diyet plazma ghrelin konsantrasyonunu ve ekspresyonunu artırır. Barsaktan hipotalamusa iletilen ve oreksijenik etkisi olduğu ispatlanan ilk barsak peptid hormonu ghrelindir (121). Ghrelin uygulanması yemek alımını ve obesiteyi stimüle eder ve plazma growth hormon düzeyi ile adrenokortikotropin hormon konsantrasyonunu artırır. Bu veriler, ghrelin hormonunun büyüme ve metabolizma için besin alımında önemli bir stimulus olduğunu ve growth hormon düzenleyici sistemin merkezi komponenti olduğunu desteklemektedir (140). Dolaşımdaki ghrelin düzeyi obez kişilerde düşük olup, düzeyi vücut kitle indeksi ile negatif bir ilişki gösterir (141).

Uyku üzerine etkisi: Uykuyu artırdığı belirtilmişse de bu tam kesin değildir. İnsanlarda hafif uyku getirdiği bazı çalışmalarda gösterilmiştir (142).

Hücre proliferasyonu üzerindeki etkileri: Birçok tümör dokusunda ghrelin ve ghrelin reseptörlerinin eksprese edildiği gösterilmiştir. Ghrelinin neoplastik oluşumda otokrin/parakrin etkileri olduğu düşünülmektedir (130). GHS reseptörleri, meme dokusu gibi normal fizyolojik koşullarda bu reseptörleri eksprese etmeyen organların tümöral dokularında bulunmuştur. İn vitro çalışmalarda ghrelinin, hem açillenmiş hem de açillenmemiş şeklinin ve bazı sentetik analoglarının tümör hücre proliferasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (143). Hipofiz düzeyinde birçok endokrin tümörün, fakat aynı zamanda da gastro-entero-pankreatik karsinoidlerin, akciğer karsinoidlerinin ve tiroid tümörlerinin ghrelin içerdiği hem immünohistokimyasal hem de mRNA analizleriyle saptanmıştır (144,145). Meme kanserli hastalarda yapılan bir çalışmada, açillenmiş ve açillenmemiş ghrelinin GHS-R1a reseptörü yoluyla değil, farklı GHS reseptör alt grubu aracılığı ile hücre proliferasyonunu inhibe ettiği belirtilmiştir (132).

Kardiyovasküler etkiler: Kalp ve aortada ghrelin ve reseptörünün ekspresyonu olduğu gösterilmiştir (146). İntravenöz ghrelin enjeksiyonu yapılan gönüllü deneklerde ghrelinin kan basıncını azalttığı, kardiyak indeksi ve hacmi artırdığı belirtilmiştir (147). Ghrelinin kardiyomiyositlerin ve endotelyal hücrelerin in vitro olarak apoptozunu inhibe ettiği bildirilmiştir (148). Bununla birlikte kardiyomiyositler ghrelin reseptörü eksprese etmez. Bu nedenle farklı ve henüz tanımlanmamış bir reseptör tipinin kullanıldığı görüşüne varılabilir (148).

Karbonhidrat metabolizması üzerine etkileri: İnsanlarda IV ghrelin uygulanması akut olarak insülin salınımını inhibe eder. Ghrelinin GH salınımını artırması sonucu insülin direnci ve glikoneogenez artar, sonuçta dolaşımdaki glukoz düzey-

leri yükselir (149). Ghrelinin sıçan adacık a hücrelerinde glukagonla birlikte yerleşik olduğu gösterilmiştir. Benzer sonuçlar hayvan çalışmalarında da bulunmuştur. Ghrelin GH reseptör antagonisti benzer etkiler göstererek insülin direncini artırır. Özetle ghrelinin insülin salınımı üzerine etkisi GH yolu ile dolaşımdaki glukoz düzeylerini düzenleyerek, insülin direncini artırarak ve glikoneogenezi stimüle ederek olduğu düşünülmektedir (150).

Yağ dokusuna etkileri: Kemirgenlerde kronik ghrelin uygulaması ile vücut yağ düzeyinin arttığı gösterilmiştir (151). İnsülin direncinde ve obezitede patogenezi bildirilen adiponektin, invitro ghrelin uygulanmasından sonra inhibe olur. Bunlar ghrelinin adipogenezde ve enerji depolanmasında önemli rol oynadığını göstermektedir (152). Ghrelin karaciğer, yağ dokusu ve iskelet kasında lipid metabolizmasının regülasyonunda önemli rol oynar. Karaciğerde yağ asitlerinin oksidasyonunu ve AMPK'yı azaltırken, lipogenik patern genlerinin ekspresyonu ve trigliserid içeriğini indükler. Karaciğer trigliseridlerinin iskelet kaslarına depozisyonunu sağlamaktadır (153). Desaçil-ghrelinin lipid metabolizması üzerine etkileri hakkındaki bilgiler sınırlıdır. Açıl ghreline benzer şekilde desaçil-ghrelin de in vivo koşullarda direkt olarak lipogenezisi arttırdığı (129) ve rat adipositlerinde isoproterenol ile indüklenen lipolizi inhibe ettiği gösterilmiştir (130).

Gastrointestinal etkiler: Ghrelin ilk defa mide dokusunda bulunmuştur. Daha sonra midedeki ve iştah düzenlemedeki etkisi tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalarda intravenöz ghrelin uygulanmasının doz bağımlı gastrik asit salgılanmasını ve gastrik hareketliliği artırdığı gösterilmiştir (154). Cilt altı ve intraserebroventriküler ghrelin uygulamasının gastrik asit salınımı arttırdığı gösterilmiştir (154).

Pankreatik ekzokrin ve endokrin fonksiyon üzerine etkisi: Pankreas ghrelin üreten bir organdır. Ghrelinin pankreasta yeni tanımlanan e adacık hücrelerinde sentezlendiği gösterilmiştir. Pankreatik ghrelin profili fetal oluşumdan itibaren değişim gösterir. Pankreatik ghrelin eksprese eden hücreler erken postnatal dönemde fazla sayıdadır (yaklaşık tüm endokrin hücrelerin %10'u kadar) ve doğumdan sonra bu sayıda azalma görülür. Ghrelin mRNA ekspresyonu ve ghrelin konsantrasyonu (özellikle açillenmemiş ghrelin) fetal pankreasta fetal mideye nazaran birkaç kat daha yüksek düzeydedir (145).

Diğer endokrin etkiler: Iv ghrelin uygulanmasının, sağlıklı kişilerde GH salınımını dolayısıyla adrenokortikotropik hormon (ACTH), kortizol ve prolaktin düzeylerini hafifçe arttırdığı gösterilmiştir. Ghrelinin ve GHRH'nin birlikte verilmesi GH salgılanmasında sinerjik etki gösterir (155). IV ghrelin enjeksiyonu sıçanlarda ve insanlarda GH salınımını artırır. Anestezi altındaki sıçanlara IV ghrelin enjekte

edildikten sonra plazma GH konsantrasyonlarında artış gözlenmiştir (bazal değer $12,04 \pm 5,4$ ng/ml, ghrelin enjeksiyonu sonrası $129,7 \pm 11,3$ ng/ml). GH salgılanması ghrelin enjeksiyonundan yaklaşık 5 - 15 dk sonra tepe noktasına ulaşır ve 1 saat sonra başlangıç değerine yaklaşır. Ghrelin ve GHRH, GH salınımı üzerine sinerjik etki gösterir. Bu ikili uygulama sadece GHRH ve ghrelin etkisinden daha fazla GH salgılanmasına neden olur. Bu sinerjik etki, GHRH ve sentetik ghrelin agonistlerinin birlikte verilmesi ile de gözlenebilir (156).

Ghrelinin antiinflamatuvar etkisi: İnsan çalışmalarında leptinin interlökin 6 ve tümör nekroz faktörü artırdığı gösterilmiştir. Ghrelin ve leptinin hipotalamusta iştah üzerine antagonist etkisi gibi zıt düzenleyici etkilerinin immün sistemde sitokin ekspresyonu üzerinde de olduğu düşünülmektedir. İnsan T hücrelerinden ghrelin salgılandığı gösterilmiştir. Buna bağlı olarak immün sistemde ghrelinin antiinflamatuvar etkisi olabileceği ifade edilmiştir (157). Ghrelin ve hedef reseptörleri (GHS-R) nötrofillerde, lenfositlerde, makrofajlarda yerleşmişlerdir ve immün hücre yanıtını modüle ederler. Patolojik inflamatuvar olaylarda immün hücre yanıtında düzeltici önemli bir role sahip olabilirler (157-159).

Ghrelindeki oreksijenik aks, endojen inflamatuvar cevabın regülasyonunda kritik role sahip olabilir (160). Yeni yayınlarda ghrelinin endojen NO salınımını indükleyebileceği rapor edilmiştir (161,162). Ghrelinin antiinflamatuvar etkisi NO yapımını artırmasına bağlı olabilir (163). Ghrelin LPS ile sepsis oluşturulmuş rat kültürlerinde, makrofajlarda nitrik oksit sentazı artırmış, TNF- α ve IL-1 β konsantrasyonunu azaltmıştır. Eksojen ghrelinin LPS ile stimüle edilmiş makrofajlarda, TNF- α ve IL-1 β gibi proinflamatuvar sitokinlerin yapımını doza bağımlı olarak azalttığı, IL-10'un ise yapımını artırdığı gösterilmiştir (164). Ghrelinin peritonit ve endotoksik şok oluşturulmuş ratlarda yaşam şansını artırdığı, bunu da TNF- α yapımını azaltarak sağladığı gösterilmiştir (165,166). Sepsis oluşturulmuş ratlarda akut akciğer hastalığında ghrelin verildiğinde akciğer hasarının azaldığı, pulmoner kan akımının arttığı, proinflamatuvar sitokinlerin azaldığı ve sepsiste mortalitenin azaldığı gösterilmiştir (167).

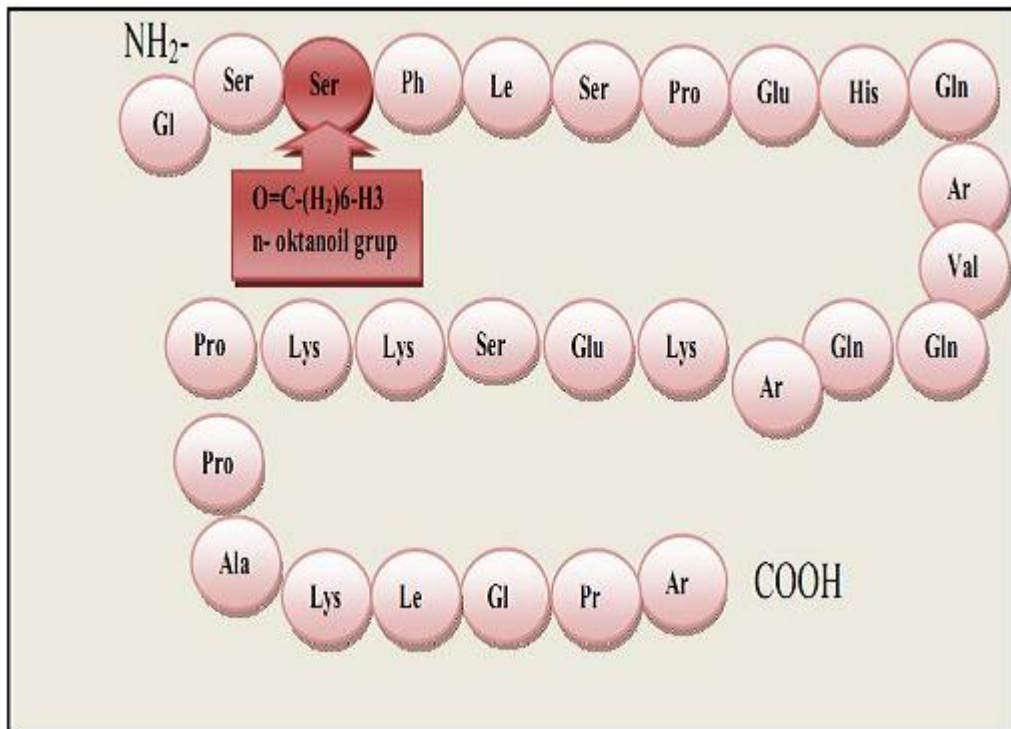
2.2.3. Ghrelin Gen Ürünlerinin Sentezi ve Yapısı

İnsanlarda ghrelin geni kromozom 3p-25-26 da lokalizedir. İnsan ghrelin geni alternatif splicing ve/veya post translasyonel modifikasyonla ghrelinden başka temel olarak des-açil-ghrelin ve obestatin olmak üzere farklı aktif molekülleri oluşturabilir (168-170).

Ghrelin geninin majör aktif ürünü 3. Pozisyondaki serin aminoasiti bir okta-noil grup ile açillenmiş, 28 aa ten oluşan matür ghrelin (ghrelin 1 - 28) dir, ancak

farklı ghrelin analogları midede olduğu gibi insan plazmasında da tespit edilmiştir (168,169).

Ghrelin öncülü olan preproghrelin 117 aminoasitten oluşur. Preproghrelin 23 aminoasitlik sinyal peptidi ve 94 aminoasitlik proghrelin (1-94) kısımlarını içerir. Proghrelin 28 aminoasitlik matür ghrelin (1-28) ve 66 aminoasitlik kuyruk kısmından (29-94) oluşmuştur. Preproghrelinin son ürün olan matür ghreline kadar proteolitik olarak yıkımından sorumlu olan enzimler henüz bilinmemektedir (170). Matür ghrelin oluşumundaki bu açil modifikasyonu, ghrelinin aktivitesi ve GHS-R ye bağlanması için gereklidir. Ayrıca bu posttranslasyonel değişimin, ghrelin molekülüne hidrofobik özellik kazandırması, bu hormonun özellikle hipotalamus ve hipofize olmak üzere beyin dokusuna geçişine imkan sağlamaktadır (171).



Şekil 2.8. Ghrelinin 28 aminoasitlik moleküler yapısı (172)

Dolaşımdaki Ghrelin Gen Ürünü Peptidler: Yarılanma ömrü 15 - 20 dakika olan ghrelin vücut sıvılarında dokularda olduğu gibi açil ve des-açil iki formda bulunur. Ghrelinin yarılanma ömrünün kısa olmasından plazmada des-açil-ghreline hızlı desaçilasyonu da sorumludur (173). Açil ve des-açil-ghrelin arasındaki ilişki tam olarak bilinmemektedir. Her ikisi de midede olduğu gibi insan plazmasında da bulunur ve benzer ve zıt etkilerde aktiftirler. Des-açil-ghrelin dolaşımdaki toplam ghrelinin yaklaşık %80 - 90'ını oluşturmaktadır. İnsan plazma ghrelininin %90'ını

des-açil-ghrelinin oluşturuyor olması, ghrelinin sistemik dokularda GHS-R'e bağlanamaması sonucu yarılanma ömrünün des-açil-ghrelinden daha kısa olmasına bağlanabilir. Dolaşımdaki ghrelinin 2/3'ü midede oksintik bezdeki X/A hücreleri tarafından üretilirken, kalan ghrelinin çoğunluğu ince barsaktaki X/A hücrelerinden kaynaklanır (173,174). Açıl ve des-açil-ghrelinin arasındaki ilişki tam olarak bilinmemektedir. Her ikisi de midede olduğu gibi insan plazmasında da bulunur ve benzer ve zıt etkilerde aktiftirler.

Tablo 2.5. Ghrelinin gen ürünlerinin diğer organ ve sistemler üzerine etkileri

Etki	Ghrelinin	Desaçil ghrelinin
Gastrointestinal		
Ekzokrin sekresyon	↑↓↔(mide)/(pankreas)	↔(mide)
Epitelyal koruma	↑	nd
Motilite	↑(mide ve kolon)	↓(mide)
Kardiyovasküler		
Büyük damarlarda dilatasyon	↑(sistemik)/↓(koroner)	↑(sistemik)
Küçük damarlarda dilatasyon	↑	nd
Endotel fonksiyonları	↑	nd
Kalp fonksiyonu	↑	↑
Hücre proliferasyonu	↑↓	↑↓
İmmün fonksiyonlar		
İmmün hücre üretimi	↑	↔
Sitokin üretimi	↓	↔
Nötrofil aktivasyonu	↓	nd
Kemik		
Osteoblast üretimi	↑	↑
Osteoblast aktivitesi	↑	nd
Uyku	↑	↔
Hafıza	↑	↔
Anksiyete	↑	↔
İris kas relaksasyonu		
Sfinkter	↑	↑
Dilatatör	↑	↔

(↑):stimülasyon, (↔):etki yok, (↓):inhibisyon, (nd): bilinmiyor

2.3. İmmünite ve Glomerül Hastalıkları

Bağışıklık sisteminin en önemli özelliği dışarıdan giren saldırganlara karşı (virus, bakteri, mantar, parazit ve diğer birçok zararlı kimyasal) cevap oluşturması ve kendi antijenlerine karşı cevapsız kalmasıdır. Genel bir deyişle bağışıklık sistemimiz bütün antijenik özelliğe sahip maddelere karşı özgül yanıt geliştirebilme özelliğine sahiptir.

Bağışıklık sisteminin antijeni tanıması ve yanıt verebilmesi için kullandığı iki ayrı yol vardır. Bu yollardan biri, doğal (innate= non spesifik) bağışıklık ile sağlanır. Bu bağışıklık sistemi yabancıyı özgül olarak tanımaz. Bunun için bazı patern tanıyıcı reseptörler kullanır (Toll-like reseptörleri (TLR), çöpçü reseptörleri gibi). Bağışıklık sisteminin antijeni özgüllüğüne göre tanıdığı diğer yol ise, sonradan kazanılan (adaptif) bağışıklık sistemidir. Bu sistemde ise, özgül tanıma işlemlerini, adaptif bağışıklık sisteminde bulunan T ve B hücrelerinin reseptörleri sağlar. Yabancı madde bu yollarla tanındıktan sonra, ajana yönelik aktif moleküllerin yapımı ve hazırda olanların aktive edilmesi gerekir (kompleman sistemi, sitokin salınımı gibi). Daha sonra kemotaksis yolu ile bağışıklık sisteminin diğer etkin hücreleri (nötrofiller, eozinofiller, monosit veya makrofajlar, lenfositler, doğal öldürücü hücreler) ajanın girdiği bölgede toplanır ve fagositoz, apoptozisin tetiklenmesi gibi yollarla saldırgan yok edilir (175).

Bağışıklık sisteminin hücreleri kemik iliğinde yapıldıktan sonra gelişimlerini tamamlamak için perifere çıkarak farklı dokulara yerleşirler. Bu esnada eğitimden geçerek kendi (self) antijenlerine karşı cevapsız kalabilirler. Bu olaya immünolojik tolerans denir. İmmünolojik toleransın işleyiş amacı;

1. Kendi antijenimize karşı tolerans oluşturabilmek
2. İstenmeyen immün reaksiyonları kontrol edebilmek (alerji, otoimmün hastalıklar, organ nakilleri vb.)

İki şekilde tolerans sağlanır;

- Merkezi tolerans: Lenfositler, primer lenfoid organlarda self antijenlere karşı cevap oluşturmamak ve otoimmüniteye engel olmak için eğitime tabi tutulurlar. Bir lenfosit daha olgunlaşmadan antijenle karşılaşır ise ortadan kaldırılıp, çoğalıp farklılaşması engellenir. Bu olay negatif seçim veya merkezi tolerans olarak adlandırılır.

- Periferik tolerans: Olgunlaşıp perifere çıkan lenfositler burada eğitimlerine devam ederler. Olgun lenfosit yabancı antijenle karşılaşınca immün yanıt oluştururken, self antijenle karşılaşınca delesyon veya anerji gösterir, yanıt vermez.

İmmünolojik toleransta rol oynayan kazanılan bağışıklık sisteminin T ve B lenfo-

sitleridir. T lenfositler CD4+ yüzey antijeni eksprese eden yardımcı T (Th) hücreleri ve CD8+ yüzey antijeni eksprese eden sitotoksik T (Tc) lenfositleri olmak üzere iki gruba ayrılırlar. CD4+ T hücreler Th1 ve Th2 hücreler olmak üzere iki farklı grupta incelenirler. Bunlardan Th1 hücreler IL-2, IFN- γ ve TNF- α salgılar ve hücresele immün yanıt ile doku hasarını düzenlerken, Th2 hücreler ise IL-4, IL-5, IL-6 ve IL-10 salgılayarak B lenfositleri tarafından spesifik immün globülin üretilmesini tetikler (176,177). SLE benzeri bazı otoimmün hastalıkların hem yardımcı T hem de B hücrelerinde tolerans eksikliğinin bir sonucu olarak gerçekleştiği düşünülmektedir (178). Yine otoimmün tiroid hastalığının tiroid bezine karşı immün toleransın kaybolması ve çevresel, genetik faktörlerin birlikte rol oynaması sonucu ortaya çıktığı bilinmektedir. Otoimmün bir hastalığı olan bireylerde diğer otoimmün hastalıkların da (tip 1 diabetes mellitus, romatoid artrit, multipl skleroz) sık görülmesi etyolojik mekanizmaların ortak olabileceği görüşünü desteklemektedir (179).

Glomerülonefrit patogeneğinde immünolojik mekanizmaların rol oynadığı 20. yüzyılın başlarından beri bilinmektedir (180). Deneysel modellerde ve insan glomerülonefritlerinde böbrekte immün kompleks (İK) birikimlerinin saptanması humoral immün mekanizmaların rolünü açık olarak göstermiştir (181). Hücresele immün mekanizmaların rolü ise glomerül yumağında ve interstisyumda hücresele immüniteden sorumlu hücreler olan makrofajlar ve T lenfositlerin gösterilmesiyle son çeyrek yüzyılda önem kazanmıştır (182-184).

Glomerülonefritlerin gelişmesinde hem humoral hem de hücresele immün mekanizmalar birçok diğer immün aracılı hastalıklarda olduğu kadar önemlidir. Antijene karşı hücresele immün sensitizasyonun tespit edilmesi ve ölçümü ile ilgili deneyler ilk olarak 1960 yıllarının ortasında ortaya konmuştur (180). Humoral immünitede olduğu gibi, hücresele immün mekanizma tarafından oluşturulan inflamatuvar olaylar dokuda granülom oluşumu, fibrozis ve skarlaşma gibi patolojik değişikliklere sebep olabilir. Ayrıca doğal veya değişmiş konakçı antijenlerine karşı direkt olarak sellüler otoimmünite gelişebilir. Burada esas etkin fonksiyon T lenfositler tarafından sağlanır. T lenfositler çeşitli yollarla hücresele immün fonksiyona aracılık ederler veya direkt olarak doku hasarı oluşturabilirler (180). T lenfositler, lenfosit aracılı sitotoksite, antikör ile birleşerek antikora bağımlı hücresele sitotoksite, makrofajlar yolu ile ve çeşitli fonksiyonları olan lenfokinler salarak konakçı hücrelerini öldürme yeteneğindedir (175). T lenfositlerin düzenlenme fonksiyonundaki bozukluklar humoral ve hücresele mekanizmalar yolu ile otoimmünite gelişmesine neden olabilir.

Glomerülonefritlerde glomerül antijenlerine karşı hücresele otoimmünitenin görülüşünü ilk olarak 1968 yılında Bendixen ortaya atmıştır (180). Glomerülonef-

ritli hastalardan alınan glomerüllerde T hücrelerinin gösterilememesine rağmen, GN'lerin etyopatogenezinde hücrel immünitenin rol oynadığına dair indirekt kanıtlar vardır (182). Minimal lezyon hastalığı ve membranöz glomerülo nefritin gelişmesine katkıda bulunan daha yaygın hücrel immün bozukluklar tanımlanmıştır. MLH'de, bilinmeyen bir stimulusa karşı cevapta glomerüler kapiller permeability başlatan bir faktörün salınması ile supressor hücre bozuklukları ortaya çıkmaktadır (180,185). MGN'de ise humoral immün sistemin sellüler immün sistem tarafından anormal immün regulasyonu in-situ immün kompleks oluşumuna neden olabilir (180). Nakabayashi ve arkadaşları (186) yaptıkları bir çalışmada aktif lupus nefritli ve MLH ve MPGN gibi primer glomerülo nefritli hastalarda anti-T hücre antikörlerinin insidansı ve titresini yüksek bulmuşlardır. Antikörler bu hastalığın gros hematüri ve nefrotik sendrom dönemlerinde pozitifdir. Antikörler T helper ve T supressor hücrelerde azalma, makrofaj sayısında artma ve yükselmiş serum immün kompleksleri ile birlikte. Bu veriler, anti-T hücre antikörlerinin T helper ve T supressor lenfositlerine sitotoksik olduğunu ve immünojenik zinciri değiştirdiğini, böylece GN'lerin çeşitli formlarında önemli rol oynadığını gösterir. Bach ve arkadaşları (187), insan hastalıklarında monoklonal anti-T hücre antikörleri kullanmışlar ve otoimmün hastalıkların büyük bir kısmında CD4+/CD8+ oranında artma bulmuşlardır. Raeman ve arkadaşları (188) ise otoimmün hastalığı olanlarda T lenfosit, B lenfosit ve T helper lenfosit sayısını normal bulmuş, fakat supressor T lenfosit sayısının önemli ölçüde düşük saptamışlardır.

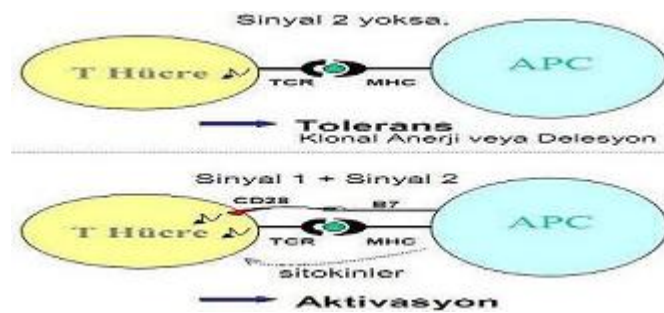
Glomerülo nefritli hastaların glomerüllerindeki hücrel artımın intrinsik glomerül hücre proliferasyonuna mı, yoksa dolaşımdan gelen mononükleer hücrelere mi bağlı olduğu tartışılmaktadır (180). 1951'de Jones, akut poststreptokoksik glomerülo nefritten ölen hastalarda glomerüldeki hücre artışının kaynağının makrofajlar olduğunu ve bu hücrelerin hastalık ile ilişkilerini ortaya atmıştır (180,189). Kondo ve arkadaşları (190,191) glomerülo nefritin nefrotoksik nefrit modelinde proteinüri başlaması ile hakim hücre tipinin monositler olduğunu belirtmiştir. Holdsworth ve arkadaşları (182) tavşanlarda serum hastalığında makrofajların sayısı ile hipersellülarite derecesi ve proteinürinin şiddeti arasında yakın ilişki bulmuşlardır.

Deneysel glomerülo nefritlerde glomerül hasarı oluşumunda PMNL'lerin önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Schreiner ve arkadaşları (192), sıçanlarda hızlandırılmış otolog nefrotoksik nefritte hastalığın erken döneminde hakim olan PMNL'lerin erken proteinüri başlaması ile birlikte görüldüğünü göstermişlerdir. Diğer araştırmacılar da glomerülo nefrit gelişmesi için intakt sellüler immün sistemin önemini göstermek üzere timustan ve dolayısıyla etkili T hücre sisteminden yoksun fareleri kullanmışlar

(180), bu modelde glomerüllerde daha az proliferatif değişiklik olduğu ve daha az şiddette akut GN oluştuğunu gözlemişlerdir. Bu araştırma ile ilgili antijenlere antikor cevabının oluşmasını veya yetersizliğinde timusa bağımlı T hücre sisteminin önemli rolü olduğunu göstermiştir.

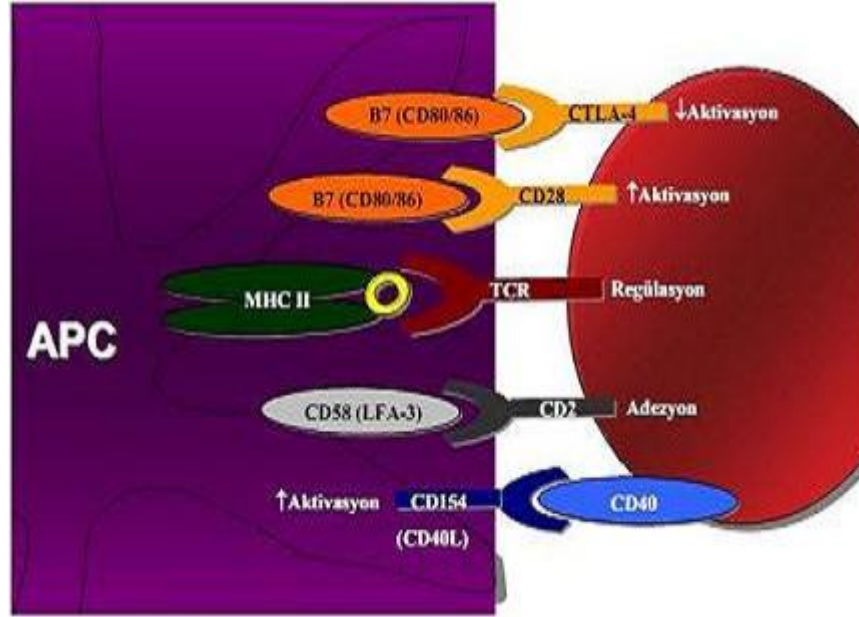
2.3.1. T Hücrelerinin Aktivasyonu

T lenfositlerin antijenle karşılaşım aktive olmalarından sonra kostimulatör denen ikincil uyarıcı sinyallerle yeteri kadar uyarılamaması neticesinde anergi oluşur. T hücrelerinin çoğalabilmesi ve farklılaşım fonksiyonel hücrelere dönüşebilmesi için en az iki sinyale ihtiyacı vardır. Sinyal I; her zaman antijenle, T hücre üzerinde bulunan T hücre reseptörünün birleşmesi ile gerçekleşirken, sinyal II; antijen sunan hücre (APC) üzerinde bulunan ikincil uyarıcı moleküllerin varlığı ile gerçekleşir. Dokularda ve lenfoid organlarda bulunan antijen sunan hücre, uyarılmadığı sürece dinlenme halindedir. Yani üzerinde B7 (CD80) gibi ikincil uyarıcı molekülleri yukarı çekmez. T lenfositler self antijeni birinci sinyalle tanırlar. Yani T hücre reseptörü (TCR) ile self antijen bağlanarak ilk sinyal oluşur. Ancak bu antijenin yabancı olmadığı durumda, ikincil sinyal molekülleri APC üzerinde gösterilmez. Böylece anergi gerçekleşmiş olur (Şekil 2.9).



Şekil 2.9. Lenfosit aktivasyonunun sinyal modeli (172)

Bazı durumlarda, self antijenle karşılaşım T hücre üzerinde, B7 (CD80) molekülüne yüksek bağlanma gücü ile bağlanan ve inhibitör sinyal göndererek T hücrelerini sessiz hale getiren CTLA-4 (CD152) gösterilir. T hücreleri APC üzerinde self antijen gördüklerinde, T hücre üzerinde yukarı doğru çekilen CTLA-4 molekülü, APC üzerindeki B7 ikincil sinyal molekülüne bağlanarak T hücrelerini inhibe eder. CD28 molekülü de ikincil sinyal molekülüdür ve B7 molekülüne bağlanarak T hücrelerini aktive eder. Fakat T hücrelerinin hangi molekülünü (CD28, CTLA-4) öncelikle B7 molekülüne bağladığı ve nasıl seçtiği bilinmemektedir (Şekil 2.10) (178).



Şekil 2.10. APC ve T hücre etkileşimi

Ayrıca timusta eğitimden geçen hücrelerin bir kısmı perifere çıkarken düzenleyici T hücrelerine dönüşerek çıkarlar. Bu hücreler self antijene veya saldırgana karşı oluşan T hücre aktivasyonunu sitokin yolu ile veya direkt temas yolu ile baskılayabilirler. Düzenleyici T hücreler (Treg) olarak da adlandırılan bu hücreler hem timusta hem de periferde oluşabilirler. Bu hücrelerin bağışıklık sistemini nasıl inhibe ettiği konusunda çok az şey bilinmektedir. Bazı düzenleyici yada baskılayıcı T hücreleri TGF- β veya IL-10 gibi sitokinlerle makrofajların veya lenfositlerin aktivasyonunu inhibe edebilmektedir. Ayrıca direkt olarak diğer lenfositlerle ve APC'lerle de temas kurarak inhibitör etki yaratabilmektedirler (178).

T reg hücreleri in vivo koşullarda otoimmün hastalıkları veya immünopatolojiyi inhibe edebilen CD⁺ T hücreleri olarak tanımlanabilirler. Ya da T reg hücreleri, diğer hücre fonksiyonlarını aktif olarak kontrol eden veya baskılayan hücrelerdir. Geçtiğimiz 10-15 yıl içinde T reg hücreleri; otoimmün hastalıklar, kanser, transplantasyon, ve maternal - fetal toleransta majör düzenleyici olarak kabul edilmektedir (193). Bunun en açık kanıtı insanlarda ve farelerde Treg hücreleri genetik olarak eksik olanlarda ana Treg transkripsiyon faktörü mutasyonlarının (foxp3) yaygın otoimmün hastalıkların oluştuğunun gösterilmesidir (193). T reg hücreleri özellikle, in vitro koşullarda naif T hücre çoğalmasını baskılayarak, in vivo koşullarda da CD4⁺ T ve CD8⁺ T hücre sayısını kontrol ederler.

T reg hücrelerinin başlıca iki büyük hücre grubu tanımlanmıştır. Bunlardan biri doğal T reg hücreleri, diğeri ise IL-10 salgılayan T reg hücreleridir (194-198). IL-10

T reg hücreleri in vitro koşullarda naif T hücre çoğalmasını inhibe eder, lenfopenik konakçılarda in vivo koşullarda deneysel olarak otoimmüniteyi baskılar ve CD4+ CD8+ T hücre sayısını kontrol eder (194-198). Şunu da akılda tutmak gerekir ki T reg hücreleri immün cevabın düzenlenmesinde önemli rol oynamalarına rağmen yardımcı T tip 1 (Th1) ve tip 2 (Th2) hücrelerinin salgıladığı sitokinler de immün sistemin düzenlenmesinde önemli rol oynarlar (Tablo 2.6).

Tablo 2.6. Düzenleyici T hücre (Treg) popülasyonu

Treg çeşitleri	Orijini	Fenotip ekspresyonu	Foxp3	Görevi
CD25- Treg	?	CD4+ CD25-	Var	?
Doğal oluşan CD4+ CD25+	timus (belki perifer)	CD4+ CD25+ CD45RBlow CD25-	Var	Hücre etkileşimi ? Membran veya çözünebilir TGF- β ve IL-10 salınımı
IL-10 Treg	Perifer	CD4+	Yok	Hücre-hücre etkileşimi IL-10 salınımı
TH1	Perifer	CD4+	Yok	IFN- γ salınımı Bazen de IL-10 salınımı
TH2	Perifer	CD4+	Yok	IL-4 salınımı IL-10 salınımı IL-13 salınımı

2.3.2. Doğal Olarak Oluşan CD4 + CD25+ T reg Hücreleri

CD4+ CD25+ T hücreleri sağlıklı yetişkin farelerde ve insanlarda CD4+ T lenfositlerin %1 - 5 inde gösterilirler. Bu hücrelerin hem doğal hem de sonradan kazanılmış bağışıklık sistemi kontrol mekanizmasında spesifikleşmiş bir rolü vardır (199-201). Bu hücrelerin CTLA-4 ve tümör nekrosis faktör reseptör içerdiği ve T reg aktivasyon mekanizmasında rol aldıkları bilinmektedir (202,203). Her iki molekül de aktivasyondan sonra düzenleyici olmayan T hücreler üzerinde yukarı doğru çekilirler.

TGF- β ve IL-10 salınımı T reg hücrelerinin bilinen genel özellikleridir (204). CD25+ T reg hücrelerinin adına foxp3 denilen bir transkripsiyon faktörü eksprese ettiği gösterilmiştir (205-207). Bu transkripsiyon faktörü T reg hücrelerinin gelişimi-

nin ve fonksiyonlarının programlanmasında görevli ve T reg hücreleri için önemli bir gösterge olduğundan, hem farelerde hem de insanlarda bu genin mutasyonu ile birçok otoimmün hastalıklar (besin alerjisi, atopi, tiroidit, otoimmün endokrinopati vb.) meydana gelebilir (208,209). İnsanlarda otoimmün hastalıkların kemik iliği transplantasyonu ile biraz da olsa düzeltilebiliyor olması da bunu desteklemektedir (210). Farelerde CTLA-4 geninin yokluğunda foxp3'ün ektopik ekspresyonu belirgin anlamda hastalığın ilerlemesini durdurabilir (206). Buna ek olarak, düzenleyici olmayan CD4+ T hücrelerine zorunlu olarak foxp3 eksprese ettirilirse T reg hücrelerinin karakteristik özelliklerini taşımaya başlarlar. İn vitro çalışmalarda foxp3 CD4+ T hücrelere transfer edildiğinde T hücre çoğalmasının durdurulduğu gösterilmiştir (206,207). CD4+ CD25+ T reg hücreleri lenfopenik fareleri barsak hastalıkları ve diyabetten korur ve transplant reddini engeller (211-214). CD4+ CD25+ Treg hücreleri hem in vivo hem de in vitro koşullarda naif T hücrelerinin çoğalmasını baskılamakta, buna karşılık in vivo ortamda IL-10 otoimmünitenin baskılanmasından sorumlu iken in vitro koşullarda naif T hücrelerinin çoğalmasının inhibisyonu IL-10'a bağlı değildir ve hücre-hücre etkileşimi gerektirir (194,200,204,215). Doğal T reg hücrelerinin membran bağlı TGF- β aracılığıyla inhibisyonu gerçekleştirdiği bilinmektedir.

İN vitro sistemde naif T hücre çoğalmasının baskılanması ile doğal immün cevap aktive olmadan baskılanmış olur. Burada seviyesi APC ile ilgili olan yarışa bağlı düzenleyici bir aktivite söz konusudur. İnhibisyon IL-10 bağlı değildir. Düzenlenmenin ikinci basamağında ise IL-10 ve/veya TGF- β üretilmesi gereklidir. İn vivo ortamda CD4+ CD25+ T reg hücreleri tarafından T hücrelerinin çoğalmasının kontrolü IL-10 bağımlıdır.

Buraya kadar anlatılan bilgiler ışığında, bağışıklık sisteminin çok önemli bir mekanizması olan toleransta görev alan, T hücrelerinin ve alt gruplarının da üzerinde gösterdiği CTLA-4 molekülü ve onun üzerindeki değişiklikler savunma sistemimiz için çok önemlidir.

İmmün yanıt çeşitli inhibisyon ve aktivasyon sinyalleri arasındaki denge ile düzenlenen dinamik bir süreçtir. Kostimülatör moleküller yapı ve fonksiyon olarak birbirlerine benzerler ancak T hücre aktivasyonunun farklı safhalarında görev alırlar. CD28 sürekli olarak T lenfositlerin yüzeyinde eksprese edilir, kostimülatör olarak rol alır, sitokin ve sitokin reseptörlerinin ekspresyonunu artırarak potansiyalize eder. CD28 ve CTLA-4 etkilerini, B7 ailesinin alt üyeleri olan B7.1 (CD 80) ve B7.2 (CD 86) ligandlarına bağlanarak gösterir. CTLA-4, B7 ligandlarına CD28'e göre yaklaşık 20 kat fazla bir afinite ile bağlanır. B7-1 (CD80) ve B7-2 (CD86), CTLA -4 ile

etkileştikleri bilinen iki moleküldür ve immün yanıtın negatif düzenlenmesinde rol alır.

2.4. CD80 ve CTLA-4

2.4.1. CD80 (Cluster of Differentiation 80) (B7-1)

Aktifleştirilmiş B hücreleri ve monositler üzerinde bulunan , T hücre aktivasyonunun sağlanması ve devamı için uyarıcı sinyal niteliğinde olan bir yüzey proteindir. Bu T hücre yüzeyinde iki farklı protein için ligand oluşturur: CD28 (otoregülasyon ve hücreler arası ilişki için) ve CTLA-4 (hücreSEL yönetim için). CD80 primer T hücreleri için CD86 ile işbirliği içinde çalışır (216,217).

Kromozom 3q13.3-q21'de lokalizedir. CD 80 geni şempanze, köpek, inek, fare ve sıçanlarda da saptanmıştır.

Bu genler tarafından kodlanan protein CD28 ya da CTLA-4'e bağlanarak aktive olan bir transmembran reseptör proteindir. Aktive olan protein T hücre aktivasyonu ve sitokin üretimini indükler. CD80; T hücre klonal proliferasyon ve farklılaşmasını sağlayan, T hücre reseptör (TCR) aracılıklı stimulatör sinyalleri modifiye eder.

2.4.2. CTLA-4 (*Cytotoxic T Lymphocyte Associated 4*) (CD 152)

CTLA-4, aktive T hücreleri üzerinde yukarı çekilen, Ig süperailesinde yer alan ikincil sinyal moleküllerinden biridir. CTLA-4 molekülü, T hücre ikincil sinyali olan CD28 molekülüne benzer bir moleküldür. Hem CD28 hem de CTLA-4 molekülleri antijen sunan hücreler üzerinde bulunan ve yine ikincil sinyal molekülleri olan B7-1 (CD80) ile B7-2 (CD86) moleküllerine bağlanır. Dinlenme halindeki ve naif T hücrelerinde CTLA-4 ekspres edilmemektedir, fakat CD28 bağımlı olarak aktive olan T hücreleri üzerinde upregülasyonu gerçekleşmektedir (193). CTLA-4 molekülü T hücrelerine inhibe edici sinyaller gönderirken, bunun aksine CD28 molekülü uyarıcı sinyaller gönderir (218). CTLA-4'ün T hücre çoğalması, hücre döngüsünün ilerlemesi ve IL-2 üretimi gibi T hücre aktivasyonunun birçok erken sonuçlarını antagonize ettiği gösterilmiştir (193). CTLA-4 ün T hücre fonksiyonlarının negatif regülatörü olduğu CTLA-4 negatif olan farelerin doğumdan yaklaşık 4 hafta sonra geliştirdikleri bir lenfoproliferatif hastalık nedeni ile ölmeleri ile desteklenebilir (193).

Darivach ve arkadaşları (219) 1988 yılında yaptıkları bir çalışmada insan CTLA-4 genini izole edebilmek için fare CTLA-4 probu kullanmışlardır. Sonuçta insan CTLA-4 proteini ile fare CTLA-4 proteini arasında %76 homoloji tespit edilmiştir. Periferik kandaki aktif T hücrelerinde 1,8 ve 0,8 kb'lık iki CTLA-4 mRNA transk-

ripi Northern blot yöntemi ile tespit edilmiştir. Ling ve arkadaşlarının (157) 1999'da yaptığı başka bir çalışmada hem insan hem de fare CTLA-4 proteininin sekansı yeniden yapılmıştır. İnsan proteininin 244 aminoasitinin fare proteini ile yüksek homoloji gösterdiği ortaya çıkarılmıştır.

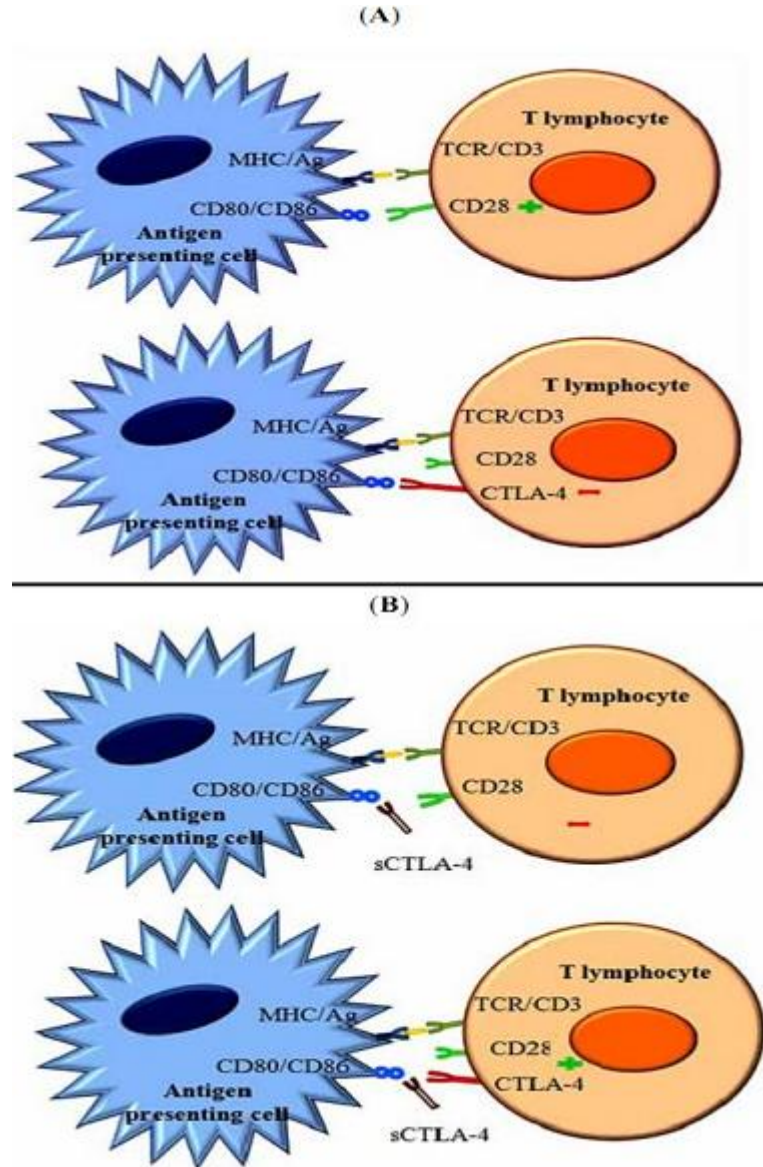
Dariavach ve arkadaşları (221) CTLA-4'ün ikinci kromozomun uzun kolunun 33. bölgesinde (2q33) bulunduğunu işaret etmişlerdir. Buonavista ve arkadaşları (222) ise, maya yapay kromozomları ile yaptıkları çalışmada insan CD28 ve CTLA-4 moleküllerinin genin aynı parçasında bulunduğunu göstermişlerdir. Harper ve arkadaşları çalışmalarında fare CTLA-4 molekülünün kromozom 1'e yakın bir bölgede yerleştiğini göstermişlerdir. Ayrıca bu çalışmada CTLA-4 molekülünün CD28 ile yakın geçiş gösterdiği de belirtilerek, sonuçta CD28 ile CTLA-4 moleküllerinin Ig süperailisinin yakın üyeleri olabileceği düşüncesine varılmıştır (219).

Northern Blot analizi ile CTLA-4 molekülü; dalakta, timusta, periferik kan lökositlerinde yüksek düzeyde, birçok dokuda, testiste, uterusu, kolonda, kalpte ve beyinde daha az düzeyde tespit edilmiştir (220).

2.4.3. Soluble CTLA-4 (sCTLA-4)

Magistrelli ve arkadaşları (218) 1999'da eş zamanlı polimeraz zincir reaksiyonunu (RT-PCR) kullanarak insan periferik kanında aktive olmamış T lenfositlerinin, CTLA-4 molekülünün alternatif formunu eksprese ettiğini belirlemişlerdir. Bu form ekson 2 tarafından kodlanan transmembran bölgenin delesyonuna neden olur. Bunun sonucunda moleküler ağırlığı 23 kilodalton olan bu molekülün çözülebilir formu üretilir. Fonksiyonel çalışmalar, çözülebilir CTLA-4 molekülünün T hücre aktivasyonu ile aşağı çekildiğini, buna karşılık membran CTLA molekülünün T hücre aktivasyonu ile yukarı çekildiğini göstermiştir (218). Oaks ve arkadaşları 2000 yılında CTLA-4 molekülünün başka bir formunu bulmuşlardır. Bu form 137 aminoasit içermektedir. Daha sonra bunun çözülebilir CTLA-4 (sCTLA-4) olduğu ve moleküler CTLA-4 (CTLA-4 TM)'ün sekansı ile karşılaştırıldığında 34 sitoplazmik kuyruk yerine bunlardan sadece 22 sini içerdiği tespit edilmiştir (223).

sCTLA-4 molekülünün gerçek fonksiyonu tam olarak bilinmemekle birlikte bir reseptör görevi yapabileceği düşünülmektedir. sCTLA-4'ün aktif olmayan T hücrelerinde B7 ile CD28 etkileşimini önlediği, aktive olmuş T hücrelerinde ise B7 ile CTLA-4'ün etkileşimine engel olabileceği düşünülmektedir (Bkz. Şekil 2.11). sCTLA-4 lenf nodları, dalak, CD4+ ve CD8+ T lenfositler, B lenfositler ve monositler üzerinde tanımlanmıştır (193). CD4+ hücrelerde hem tam uzunluktaki CTLA-4 hem de sCTLA-4 aynı şekilde eksprese edilirken, CD8+ T hücrelerde tam uzunluktaki



Şekil 2.11. sCTLA-4 ün etkileri (193)

CTLA-4 2,5 kat daha fazla eksprese edilmektedir (136). Düşük sCTLA-4 seviyeleri sağlıklı insan serumunda gösterilmiştir (136). Otoimmün hastalılarda aktive T hücrelerinde sCTLA-4 ün artmış olduğu gösterilmiştir. Graves hastalığı, hashimoto tiroiditi, myastenia gravis, SLE; sistemik sklerozis, çöliak, otoimmün pankreatit de serum sCTLA-4 düzeyleri yüksek bulunmuştur.

2.4.4. CTLA-4 ve CD80'in Biyokimyasal Özellikleri

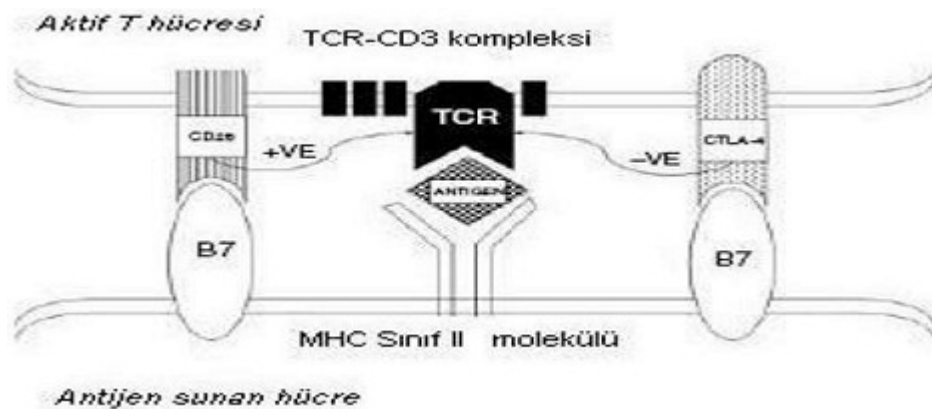
CTLA-4 molekülü B7 moleküllerinin izoformlarına CD28 molekülünden 10 - 100 kat daha fazla çekim ve güç ile bağlanır. Ostrov ve arkadaşları mürin CTLA-4'ünün, hücre dışı parçasının kristal yapısının 2 angström çözünürlükte olduğunu belirtmiş-

lerdir (224). Stamper ve arkadaşları 2001 yılında insan CTLA-4/CD80 (B7-1) ikincil sinyal molekülleri kompleksinin kristal yapısının 3 angström çözünürlükte olduğunu göstermişlerdir. Bu oldukça küçük kompleksin inanılmaz derecede yüksek tamamlayıcı bir şeklinin olduğunu belirtmişlerdir (225). Schwartz ve arkadaşları 2001 yılında yaptığı bir çalışmada insan CTLA-4 molekülüne disülfid bağları ile bağlanan yine insan CD86 (B7-2) molekülünün oluşturduğu homodimer yapının çözünürlüğünün 3,2 angström olduğunu vurgulamışlardır (226).

2.4.5. Otoimmünite ile CTLA-4 ve CD80 İlişkisi

Kemik iliğinden kaynaklanan T hücrelerinin olgunlaşma fazı timusta gerçekleşir. T hücreleri timik epitel hücreleri tarafından sunulan otoantijenlerle karşılaştıklarında reseptör özelliklerine göre bir kısmında programlı hücre ölümü (apoptoz) gerçekleşirken, bir kısmı olgunlaşarak periferik dolaşıma katılır (227). Otoreaktif T hücrelerinin apoptoz yoluyla eliminasyonuna “tolerans” denir; bu sistemdeki bir bozukluk sonucu ortaya çıkan tabloya ise “otoimmünite” adı verilmektedir. Bu otoreaktif T hücrelerinin aktivasyonunu önleyebilecek inhibitör moleküllerden en önemlisi sitotoksik T lenfosit antijeni- 4 (CTLA-4) dür.

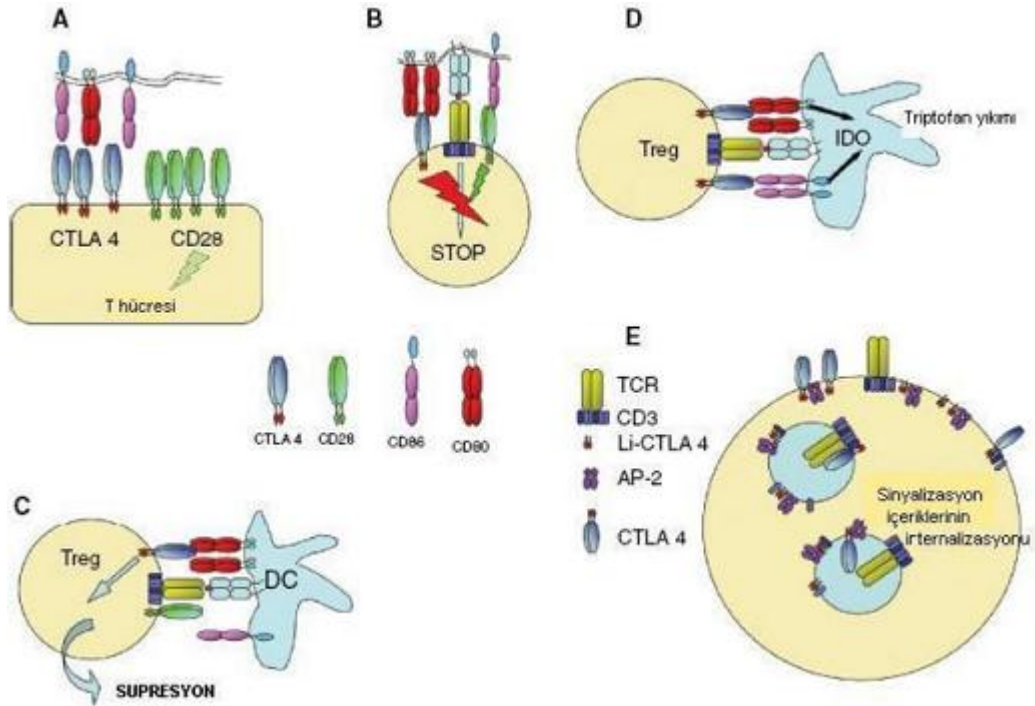
Antijenik peptid ile TCR-CD3 kompleksinin etkileşimini takiben antijen sunan hücreler üzerinde yer alan B7 molekülleri ve CD40 ile Th hücresi üzerinde bulunan CD28, CTLA-4 ve CD40L molekülü etkileşir (228). CD28’in B7’ye (CD80 veya CD86) bağlanması Th hücresinin uyarılmasına, CTLA-4 molekülünün B7’ye bağlanması ise hücrenin baskılanmasına yol açmaktadır (Şekil 2.12).



Şekil 2.12. Th hücresinin aktivasyonu üzerine CD28’in uyarıcı ve CTLA-4’ün baskılayıcı etkileri (229)

Yapısal olarak CTLA-4 ile CD28 arasında benzerlik bulunmasına rağmen CTLA-

4'ün aynı liganda bağlanma afinitesi 100 kat daha fazladır (230). CTLA-4 molekülünün iki ligandının (CD80 ve CD86) yapısal olarak birbirinden farklı olduğu gösterilmiştir (231). Bunlardan dimerik bir yapıya sahip olan CD80'in CD28/CTLA-4'e bağlanan iki bölgesi bulunmaktadır. TCR-CD3 kompleksinin antijenle birleşmesi CTLA-4 molekülünün indüklenmesine neden olur (232).



Şekil 2.13. CTLA-4 molekülünün muhtemel etki mekanizmaları (230)

CTLA-4'ün T hücreleri üzerindeki etki mekanizması kesin olarak açıklanamamıştır. Ancak olası bazı yorumlar aşağıda özetlenmiştir (Şekil 2.13) :

a. CTLA-4'ün CD28 ile yarışması; CTLA-4 CD28'e oranla ligandlara (B7 moleküllerine) daha fazla bağlanır. Bunun sonucunda CTLA-4 kendi başına sinyal oluşturmaz ancak CD28'in pozitif etkisini önler (Şekil 2.13/A).

b. CTLA-4'ün inhibitör sinyal oluşturması; CTLA-4 tirozin fosfatazlar gibi inhibitör moleküllerin sayısını artırır. Bunun sonucunda CD28'den kaynaklanan pozitif sinyallerin önü kesilir ve T hücreleri baskılanır (Şekil 2.13/B).

c. T regülatuar hücrelerin aktivasyonu; T regülatuar hücreler (T reg) periferik CD4+ T hücrelerinin küçük bir grubunu (%5 - 10) oluşturan CD4'e ek olarak CD25'de eksprese eden hücrelerdir. Aktive olmayan T hücrelerinin aksine bu hücreler sürekli olarak CTLA-4'de eksprese ederler, bu nedenle CTLA-4 aracılığıyla Treg'in supresör aktivitesinin artabileceği düşünülmektedir (Şekil 2.13/C).

d. İndolamin 2,3-dioksijenaz yolunun uyarılması; İndolamin 2,3 dioksijenaz en-

zimi (IDO) hücre içinde triptofanı yıkarak T hücresinin aktivasyonunu inhibe etmektedir. CTLA-4 bu enzim yolunu uyarır. CTLA-4 Ig füzyon proteininin de IDO emziminin up-regülasyonuna yol açtığı bildirilmiştir (Şekil 2.13/D).

e. CTLA-4' ün hücre içi protein trafiğine olan etkisi; CTLA-4'ün sitoplazmik kısmında oldukça güçlü bir internalizasyon sinyali bulunmaktadır. Bu modele göre CTLA-4 hücre içinde rahatlıkla dolaşabilmekte ve bu sırada TCR kompleksinden bazı önemli parçaları ayırarak, inhibitör etkisini gerçekleştirmektedir (Şekil 2.13/E).

CTLA-4 ün diğer fonksiyonları aşağıda özetlenmiştir (Tablo 2.7):

Tablo 2.7. CTLA-4 molekülünün başlıca fonksiyonları

Sitokin üretimi ve hücre proliferasyonunu önler (233)
Hücre siklusunun ilerlemesine mani olur, NF- κ B ile NF-AT gibi transkripsiyon faktörlerinin inhibisyonuna yol açar (234)
Hücre motilitesini artırır (235)
T hücresi-APC (antijen sunan hücre) temas süresini kısaltır (235)

Bugüne kadar CTLA-4 gen polimorfizminin farklı toplumlarda otoimmün hastalıkların etyopatogenezinde rol oynadığı bildirilmiştir. Örneğin; otoimmün tiroid hastalıklarında CTLA-4 gen polimorfizminin rolü kesinlik kazanmamakla birlikte, CTLA-4 molekülünün ekspresyon ve/veya fonksiyonunda yaratabileceği değişikliklerin hastalığa yol açabileceği tahmin edilmektedir (236). CTLA-4'ün inhibitör etkisindeki azalmayla ilgili hipotezlerden birinde CTLA-4'ün ekspresyon paterninin veya düzeyinin etkilendiği bildirilmektedir. Bu değişim sonucu ortaya çıkan yeni molekül CD28 ile CTLA-4 arasındaki dengeyi CD28 lehine çevirerek aktif T lenfositlerin down regülasyonunu ve programlı hücre ölümünü engellemektedir. Diğer bir hipotezde ise, CTLA-4 molekülünün hücre içi havuzdan hücre yüzeyine hareketinde azalma olduğu ileri sürülmüştür. Böylece her iki durumda da otoimmün hastalık tetiklenebilmektedir (237). İmmun cevabın down regülasyonunda rol oynayan bu gen bölgesinin polimorfizmlerinin graves hastalığında olduğu gibi pek çok otoimmün hastalıkla ilişkili olduğu gösterilmiştir (230,238).

İmmun sistem kendinden olanı kendinden olmayandan ayırt edebilmek için kullandığı mekanizmalardan herhangi birinde bir başarısızlık yaşadığında, kendi doku ve hücrelerine karşı reaksiyon gösterir. Bu reaksiyonlara otoimmünite, bu reaksiyonlardan dolayı oluşan hastalıklara da otoimmün hastalıklar denir. Birçok deneysel model T hücrelerinin self antijenlerine karşı anergi oluşturduklarını desteklemektedir. Farelerde yüksek düzeyde B7 molekülü eksprese ettirilirse bu farenin

otoimmün reaksiyon geliştirdiği gösterilmiştir. Eğer ikincil sinyallerin gösterilmesine izin verilirse ve anerji ortadan kaldırılırsa otoreaktif T hücrelerinin aktive olduğu gösterilmiştir. Yine farelerde CTLA-4 molekülünün bloke edilmesi veya ortadan kaldırılması ile farenin kendi dokularına karşı hızlı bir şekilde otoimmünite geliştirdiği gösterilmiştir. Bu sonuçlar inhibitör bir reseptör olarak çalışan CTLA-4 molekülünün otoreaktif T hücrelerinin kontrolünde görevli olduğunu işaret etmektedir. İkincil sinyal moleküllerinin veya CTLA-4 moleküllerinin anormallikleri ile insanda gelişen birçok otoimmün hastalık (örneğin SLE) gösterilmiştir.

Çocuklarda en sık nefrotik sendrom sebebi olan MLH'nin etyolojisi halen net olarak aydınlatılmış değildir. Etiyolojiye sebep olanın glomerüler kapiller geçirgenlik ve/veya glomerüler bazal membran heparan sülfat ve glikozaminoglikanlarında değişikliğe yol ačan dolaşımdaki bir T hücre faktörü olduğu, bunun podosit iskeletinde örgütsüzlüğe sebep olduğu ve bunun proteinüri ile sonuçlandığıdır. Son zamanlarda podositlerdeki CD80 (B7-1) ekspresyonundaki artış proteinüri için bir mekanizma olarak tespit edilmiştir. CD80, Treg hücrelerindeki CTLA-4 ile inhibe edilir. Son yıllarda MLH olanların idrarlarında CD80 artışı olduğu gösterilmiştir. Diđer glomerüler hastalığı olanların idrarında ise CD80'in artmadığı ortaya konmuştur. IL-13 veya mikrobiyal ürünler Toll like reseptörler yoluyla podositler üzerinde CD80 ifadesine neden olan faktörler olabilirler. CTLA-4 podositler üzerindeki CD80 ekspresyonunu düzenleyerek MLH'de değişikliğe sebep oluyor gibi görünmektedir. Bu bulgular, MLH'deki proteinürinin muhtemelen antijenler veya sitokinler tarafından bu hücrelerin uyarılması ile başlatılan podositlerde kalıcı CD80 ekspresyonu nedeni ile olduğunu düşündürmektedir (239).

T hücre kostimülatör reseptörleri olan CD28 ve CTLA-4 kendilerinin ligandları olan CD80 ve CD86 ya homolog olarak, ancak farklı afinite ve farklı kinetikte bağlanırlar. CD28'in CD80 ve CD 86'ya bağlanması ile TCR uyarılmakta ve IL-2 üretimi olmakta, T hücre proliferasyonu oluşmakta ve yanıt gerçekleşmektedir. Tersine CTLA-4'ün TCR ile etkileşimi T hücre proliferasyonunu engellemektedir. CTLA-4'ün CD80 ve CD86 ile etkileşiminin engellenmesi T hücre proliferasyonunu ve TH2 ye farklılaşmasını sağlar . CTLA-4, T hücre aktivasyonundan sonra hücre yüzeyinde eksprese olmakta ve CD80/CD86'ya yüksek afinite ile bağlanmaktadır. CTLA-4'ün CD80'e olan afinitesi CD28'den daha fazladır. Buna ek olarak CTLA-4 T hücre aktivasyonunda hücre siklusunu inhibe etmektedir. CTLA-4'ün CD80 ve CD86 ile olan bağlantısı periferik tolerans oluşumunda ve anerji oluşumunda etkilidir. Ayrıca diğer çalışmalarda da CTLA-4 ile CD80 bağlantısı olmadığında da anerji indüklenmektedir. Naif T hücrelerinin CTLA-4 ile tetiklenmesi sonucunda apoptoz indüksiyonu

olmadan T hücre proliferasyonu inhibe olmaktadır . CTLA-4 -/- olan farelerin radyasyonla indüklenen apoptozise ise dirençli olmaları (103) da apoptoziste CTLA-4'ün rolünü desteklemektedir (240).

CTLA-4'ün soluble formu olan sCTLA-4'ün CD80/CD86'ya bağlanarak aktivite gösterdiği ve immün regülasyonda rol aldığı gösterilmiştir. sCTLA-4 alternatif olarak mRNA tarafından kodlanmaktadır. Oysa normal insan serumunda sCTLA-4 düzeyleri düşük iken, ciddi otoimmün hastalıklarda düzeyinin arttığı gösterilmiştir (graves, myastenia graves, SLE, tip 1 DM, sistemik sklerozis, çöliak hastalığı, otoimmün pankreatit, primer bilier siroz). Artmış sCTLA-4 serum düzeylerinin biyolojik önemi henüz tam anlamıyla aydınlatılamamıştır. Bir taraftan da sCTLA-4'ün spesifik kostimülatör reseptör olarak CD28 ile CD80/CD86 arasındaki etkileşimi engelleyerek erken T hücre aktivasyonunu inhibe ettiği söylenebilir. Bir taraftan da sCTLA-4'ün artmış seviyeleri, CTLA-4'ün membran formu ile CD80/86'nın bağlanmasına ve geç dönem T lenfosit aktivasyonunda inhibitör sinyalleşmede azalmaya neden oluyor olabilir. Bu iki ucu keskin bıçak; sCTLA-4'ün CD28-CD80/86 bağlantısını bloke etmesi klinikte otoimmün hastalıkların etyolojisinde farklı sonuçlara sebep olmaktadır (193).

Bizde bu çalışma ile çocukluk çağında nefrotik sendromda, etyopatogeneizde etkilerinin olabileceği düşünülen belirteçlerin rolünü ortaya koymayı amaçladık.

Çocuklarda ve erişkinlerde NS'nin etyopatogenezi ortaya koymaya yönelik farklı, ancak sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Çocuklarda ve erişkinde NS'de serum ve idrar ghrelini ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle deneysel nefrotik sendrom oluşturulmuş ratlarda, serum ve idrar ghrelin düzeylerinin ölçülmesi, bunların nefrotik sendromun diğer bileşenleri ile nasıl değişiklik gösterdiği, enerji ve yağ metabolizması ile besin alımında daha önce yapılmış olan çalışmalarla etkilerinin olduğu gösterilmiş olan ghrelin hormonunun, NS'nin önemli tanı kriterlerinden biri olan ve patogenezi henüz tam olarak aydınlatılmış olmayan hiperlipidemi patogenezi ile ilişkisinin olup olmadığı, proinflamatuvar sitokinleri baskılayıcı etkileri olduğu bilinen ghrelinin NS etyopatogenezindeki rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

Dolaşımdaki lenfokinlerin, renal filtrasyon bariyerine toksik etkisi ile oluşan, immünolojik temeli olan bir hastalık olduğu düşünülen NS'de, bazı hastalarda T hücre alt gruplarında ve/veya T hücre işlevlerinde bozukluklar olduğu daha önce yapılan çeşitli çalışmalarla desteklenmiştir. Artmış protein yükü sonucu böbreklerde inflamatuvar ve oksidatif döngü uyarılmaktadır. Anormal T hücrelerinden salınan lenfokinlerin, bazal membran geçirgenliğini artırarak proteinüriye sebep olduğu ileri

sürülmektedir. Geçirgenliği artırdığı düşünölen bu faktörlerin yapıları ise halen bilinmemektedir. Ayrıca immünolojik mekanizmalarla oluştuğu düşünölen ve bu yönde çalışmaların sınırlı sayıda olmakla beraber literatürde yer aldığı görölen NS'nin etyopatogenezinde birçok otoimmün hastalıkla ilişkisi kanıtlanmış olan CD80 ve CTLA-4'ün idrar ve serum düzeylerinin ölçümü ile nefrotik sendromun ilişkisinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi bünyesinde bulunan Hayvan Etik Kurulu'nun 02.02.2011 Tarih ve 32/186-1 sayılı onayı alındıktan sonra başlandı. Çalışma grupları; ağırlıkları 200 - 250 gram, yaşları 12 - 14 hafta arasında değişen, dişi, Sprague-Dawley türü sıçanlardan oluşturuldu. Sıçanlar rastgele iki gruba ayrıldı. Deneysel nefrotik sendrom oluşturulacak grup 15, kontrol grubu ise 13 sıçandan oluşacak şekilde belirlendikten sonra, sıçanlar standart numaralandırma sistemi ile numaralandırıldı. Deneysel nefrotik sendrom oluşturmak üzere adriamisin kullanıldı. Adriamisin hidroklorür distile su ile sulandırılarak, 10 mg/kg, tek doz, intraperitoneal olarak uygulandı. Sonlandırmaya kadar sıçanlara başka herhangi bir işlem uygulanmadı. Adriamisin ile oluşturulan nefrotik sendromda proteinürinin 21. günde maksimuma ulaştığı bilindiğinden çalışma süresi 21 gün olarak belirlendi (102). Gruplardaki bütün sıçanlar 12 saatlik aydınlık/karanlık periyodunda tutularak, standart sıçan yemi ve musluk suyu ile beslendiler. Sağlam kontrol grubuna herhangi bir işlem uygulanmadı. Tüm sıçanlar sonlandırmadan 24 saat önce metabolik kafese alınarak 24 saatlik idrar örnekleri toplandı. Sonlandırma işlemi için gerekli anestezi ketamin 75 mg/kg intraperitoneal tek doz verilerek sağlandı. Sıçanlardan intrakardiak 5 ml kan örneği alındı. Aynı gün kan örnekleri 4000 devirde 4 dakika santrifüj edilerek serum örnekleri ayrıldı. Kan örneklerinde otoanalizör kullanılarak kan üre azotu (BUN), kreatinin, total protein, albümin, total kolesterol (TK), trigliserid (TG) ve HDL, 24 saatlik idrar örneklerinde ise volüm, protein ve kreatinin değerleri ölçüldü.

Biyokimyasal analizler Biyokimya Laboratuvarında Roche Modular cihazında, BUN kinetik enzimatik UV, serum ve idrar kreatinin Jaffe yöntemi, TG, TK ve HDL enzimatik kalorimetrik, total protein ve albümin BCG end point kalorimetrik, idrar proteini türbidimetrik yöntemlerle ölçüldü. VLDL düzeyleri TG/5 formülü ile, 24 saatlik idrarda protein düzeyi ise mg/gün olacak şekilde hesaplandı.

Serum ve idrar örnekleri -80°C de ghrelin, sCD80 ve sCTLA-4 ölçümleri için saklandı. Parametreler; Phoenix Ghrelin ELİSA, Cusabio Rat sCD80 ELİSA ve Cusabio Rat sCTLA-4 kitleri ile ölçüldü. ELİSA okuyucusu tarafından otomatik olarak hesaplanan sonuçlar, Ghrelin ve sCD80 için ng/ml, sCTLA-4 için pg/ml birimleri ile rapor edildi.

Verilerin istatistiksel analizi için SPSS for Windows 18.0 paket program kullanıldı. Öncelikle her grubun parametrelerinin dağılımının normal dağılıma uygun-

luğunu değerlendirmek için Shapiro-Wilk testi kullanıldı. Normal dağılıma uygun olmayan alt gruplar olduğu için değerlendirmede non parametrik testler kullanıldı. Çalışmada normal dağılıma uygun olan veriler için ortalama \pm standart sapma, normal dağılıma uygun olmayan veriler için median (minimum - maksimum) değer olarak belirtildi. Karşılaştırmalar için bağımsız örneklerde t Testi kullanıldı. Gruplar arası önemlilik değerlendirmesinde dağılımı uygun olmayan parametrelerde Man-Whitney U testi kullanıldı. Korelasyonlar için Pearson ve Spearman korelasyon testleri kullanıldı. p değerinin 0,05 altında olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

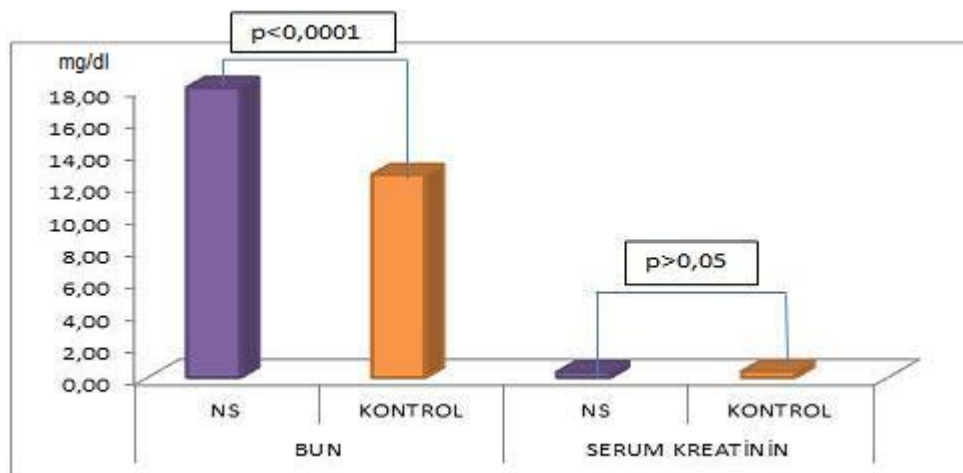
Bu çalışmaya Eskisehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde; yaşları 12 - 14 hafta, ağırlıkları 200 - 250 gram arasında değişen, dişi, Sprague-Dawley türü, 28 sıçan dahil edildi. Sıçanlar rastgele iki çalışma grubuna ayrıldı ve standart numaralandırma sistemi ile numaralandırıldıktan sonra 15 sıçanda intraperitoneal adriamisin uygulaması sonrası deneysel nefrotik sendrom oluşturuldu. Diğer 13 sıçan ise kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi.

Nefrotik sendromlu gruptaki sıçanların serum kan üre azotu değerleri (BUN) kontrol grubuna oranla anlamlı olarak yüksek bulundu (sırasıyla; 18,10 [13,50 - 21,65] mg/dl, 12,60 [10,70 - 13,65] mg/dl, $p < 0,0001$). Serum kreatinin düzeyleri açısından çalışma grupları arasında fark saptanmadı ($p > 0,05$) (Tablo 4.1, Şekil 4.1).

Tablo 4.1. Çalışma gruplarında serum BUN ve kreatinin düzeyleri

	NS (n=15)	Kontrol (n=13)	p
BUN (mg/dl) **	18,10 (13,50 - 21,65)	12,60 (10,70 - 13,65)	<0,0001
Serum Kreatinin (mg/dl) *	0,33 ± 0,34	0,39 ± 0,039	>0,05

* ortalama ± SD, ** ortanca (alt - üst sınırlar)



Şekil 4.1. Çalışma gruplarında serum BUN ve kreatinin düzeylerinin karşılaştırılması

Nefrotik sendromlu gruptaki sıçanların serum total protein düzeyleri kontrol grubundan belirgin olarak düşük saptandı (sırasıyla; $4,7 \pm 0,6$ g/dl ve $7,27 \pm 0,37$ g/dl, $p=0,0001$). Nefrotik sendromlu gruptaki sıçanların serum albümin düzeyleri kontrol grubundan belirgin olarak düşük saptandı (sırasıyla; $2,22 \pm 0,63$ g/dl ve $4,54 \pm 0,22$ g/dl, $p=0,0001$). Nefrotik sendromlu gruptaki sıçanların 24 saatlik idrar volümleri kontrol grubundan belirgin olarak düşük saptandı (sırasıyla; 2,15 [1,75 - 3] ml ve 4 [2,57 - 6] ml, $p=0,01$). Nefrotik sendromlu gruptaki sıçanların idrar protein düzeyleri kontrol grubundan belirgin olarak yüksek saptandı (sırasıyla; 2540 [917 - 4792] mg/dl ve 147,58 [121 - 189,5] mg/dl, $p=0,0001$). Nefrotik sendromlu gruptaki sıçanların 24 saatlik idrardaki protein düzeyleri kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek saptandı (sırasıyla; 48,75 [24,75 - 130,49] mg/gün ve 5,46 [4 - 6,56] mg/gün, $p=0,0001$) (Tablo 4.2, Bkz. Şekil 4.2).

Tablo 4.2. Çalışma gruplarında serum total protein, serum albümin, 24 saatlik idrar volümü, idrar protein düzeyleri ile 24 saatlik idrarda proteinüri şiddetleri

	NS (n=15)	Kontrol (n=13)	p
Serum Total Protein (g/dl) *	$4,70 \pm 0,63$	$7,27 \pm 0,37$	0,0001
Serum Albümin (g/dl) *	$2,22 \pm 0,63$	$4,54 \pm 0,22$	0,0001
24 Saatlik İdrar Volümü (ml) **	2,15 (1,75 - 3)	4 (2,57 - 6)	0,01
İdrar Protein Düzeyleri (mg/dl) **	2540 (917 - 4792)	147,58 (121 - 189,5)	0,0001
24 Saatlik İdrarda Proteinüri * (mg/gün)	48,75 (24,75 - 130,49)	5,46 (4 - 6,56)	0,0001

* ortalama \pm SD, ** ortanca (alt - üst sınırlar)



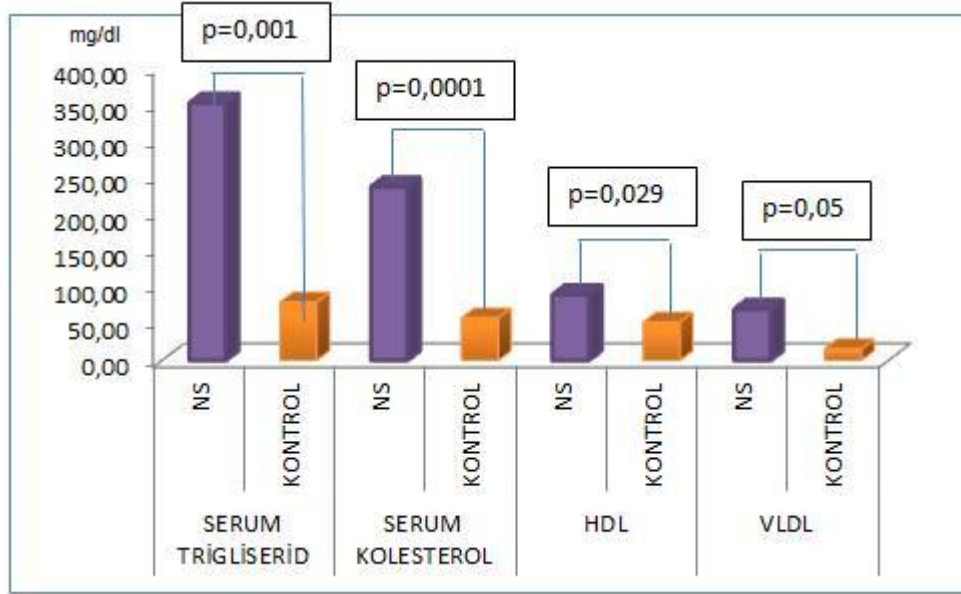
Şekil 4.2. Çalışma gruplarında serum total protein, serum albümin, 24 saatlik idrar volümü ve 24 saatlik idrarda proteinüri düzeylerinin karşılaştırılması

Nefrotik sendromlu çalışma grubunda serum trigliserid düzeyleri kontrol grubundan belirgin olarak yüksek bulundu (sırasıyla; 351,5 [147,25 - 876,25] ve 79 [68,5 - 116,5] mg/dl, $p=0,001$). Serum total kolesterol düzeyleri nefrotik sendromlu çalışma grubunda kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek saptandı (sırasıyla; $236,08 \pm 108,28$ mg/dl ve $57,76 \pm 4,83$ mg/dl, $p=0,0001$). Nefrotik sendromlu çalışma grubunda serum HDL düzeyleri kontrol grubundan belirgin olarak yüksek bulundu (sırasıyla; $89,53 \pm 58,30$ mg/dl ve $51,84 \pm 4,81$ mg/dl, $p=0,029$). Serum VLDL düzeyleri nefrotik sendromlu çalışma grubunda kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek saptandı (sırasıyla; 69,8 [23,65 - 117,70] mg/dl ve 15,80 [13,70 - 23,30] mg/dl, $p=0,005$) (Tablo 4.3, Bkz. Şekil 4.3).

Tablo 4.3. Çalışma gruplarında lipid düzeyleri

	NS (n=15)	Kontrol (n=13)	p
Serum Trigliserid (mg/dl) **	351,5 (147,25 - 876,25)	79 (68,5 - 116,5)	0,001
Serum Total Kolesterol (mg/dl) **	$236,08 \pm 108,28$	$57,76 \pm 4,83$	0,0001
HDL (mg/dl) *	$89,53 \pm 58,30$	$51,84 \pm 4,81$	0,029
VLDL (mg/dl) **	69,8 (23,65 - 117,70)	15,80 (13,70 - 23,30)	0,005

* ortalama \pm SD, ** ortanca (alt - üst sınırlar)



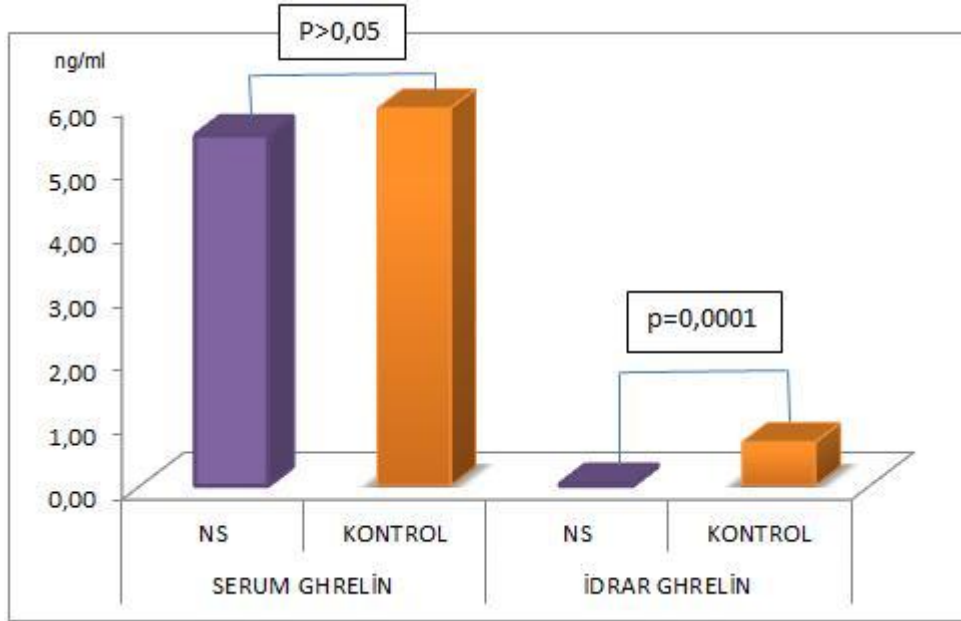
Şekil 4.3. Çalışma gruplarında lipid düzeylerinin karşılaştırılması

Serum Ghrelin düzeyleri açısından çalışma grupları arasında fark saptanmadı (sırasıyla; $5,48 \pm 3,26$ ng/ml ve $5,9 \pm 0,73$ ng/ml, $p > 0,05$). İdrar ghrelin düzeyleri nefrotik sendromlu grupta kontrol grubundan belirgin düşük saptandı (sırasıyla; $0,026 [0,012 - 0,19]$ ng/ml ve $0,68 [0,39 - 1,22]$ ng/ml, $p = 0,0001$) (Tablo 4.4, Bkz. Şekil 4.4)

Tablo 4.4. Çalışma gruplarında serum ve idrar ghrelin düzeyleri

	NS (n=15)	Kontrol (n=13)	p
Serum Ghrelin (ng/ml) *	$5,48 \pm 3,26$	$5,9 \pm 0,73$	$>0,05$
İdrar Ghrelin (ng/ml) **	$0,026$ (0,012 - 0,19)	$0,68$ (0,39 - 1,22)	0,0001

* ortalama \pm SD, ** ortanca (alt - üst sınırlar)



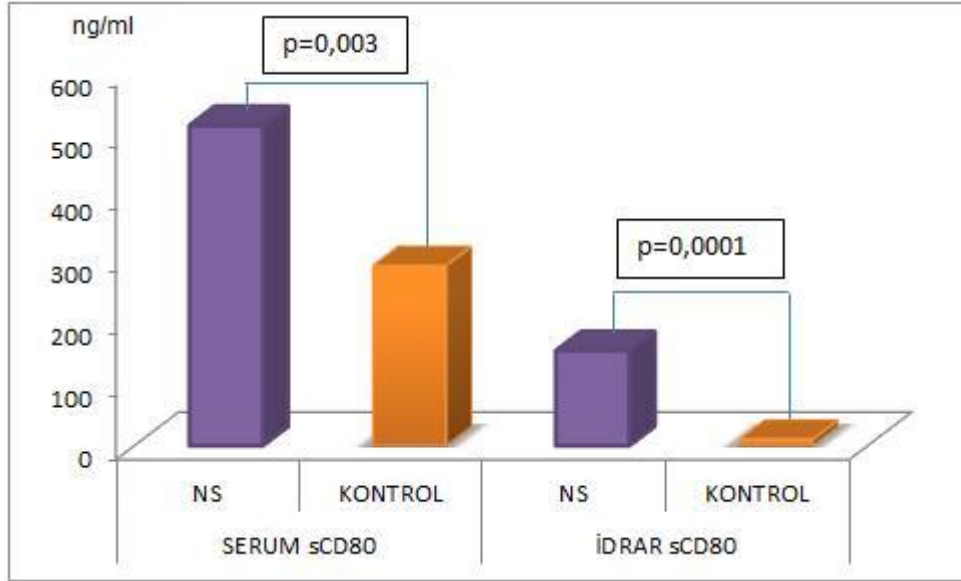
Şekil 4.4. Çalışma gruplarında serum ve idrar ghrelin düzeylerinin karşılaştırılması

Nefrotik sendromlu çalışma grubunda serum sCD80 düzeyleri kontrol grubundan belirgin olarak yüksek bulundu (sırasıyla; $514,01 \pm 234,20$ ng/ml ve $289,05 \pm 80,90$ ng/ml, $p=0,003$). İdrar sCD80 düzeyleri de NS'li grupta kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksekti (sırasıyla; $152,48$ [114,36 - 265,27] ng/ml ve 10 [9,34 - 53,94] ng/ml, $p=0,0001$) (Tablo 4.5, Bkz. Şekil 4.5).

Tablo 4.5. Çalışma gruplarında serum ve idrar sCD80 düzeyleri

	NS (n=15)	Kontrol (n=13)	p
Serum sCD80 (ng/ml) *	$514,01 \pm 234,20$	$289,05 \pm 80,90$	0,003
İdrar sCD80 (ng/ml) **	$152,48$ (114,36 - 265,27)	10 (9,34 - 53,94)	0,0001

* ortalama \pm SD, ** ortanca (alt - üst sınırlar)



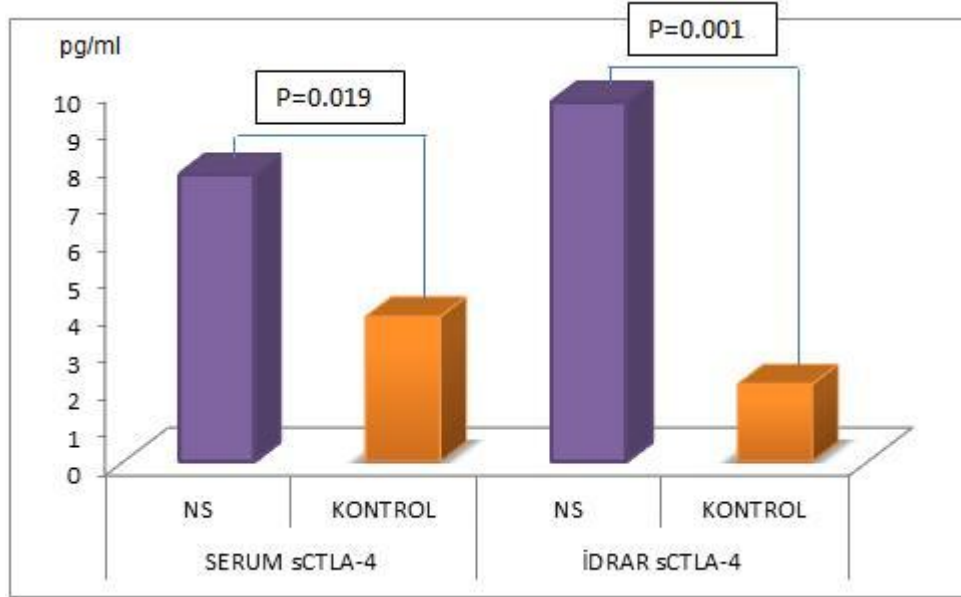
Şekil 4.5. Çalışma gruplarında serum ve idrar sCD80 düzeylerinin karşılaştırılması

Nefrotik sendromlu çalışma grubunda serum sCTLA-4 düzeyleri kontrol grubundan belirgin olarak yüksek bulundu (sırasıyla; 7,70 [5,02 - 10,58] pg/ml ve 3,88 [2,84 - 6,18] pg/ml, $p=0,019$). İdrar sCTLA-4 düzeyleri de NS'li grupta kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksekti (sırasıyla; 9,64 [7,87 - 27,34] pg/ml ve 2,07 [0,88 - 6,27] pg/ml, $p=0,001$) (Tablo 4.6, Bkz. Şekil 4.6).

Tablo 4.6. Çalışma gruplarında serum ve idrar sCTLA-4 düzeyleri

	NS (n=15)	Kontrol (n=13)	p
Serum sCTLA-4 (pg/ml) **	7,70 (5,02 - 10,58)	3,88 (2,84 - 6,18)	0,019
İdrar sCTLA-4 (pg/ml) **	9,64 (7,87 - 27,34)	2,07 (0,88 - 6,27)	0,001

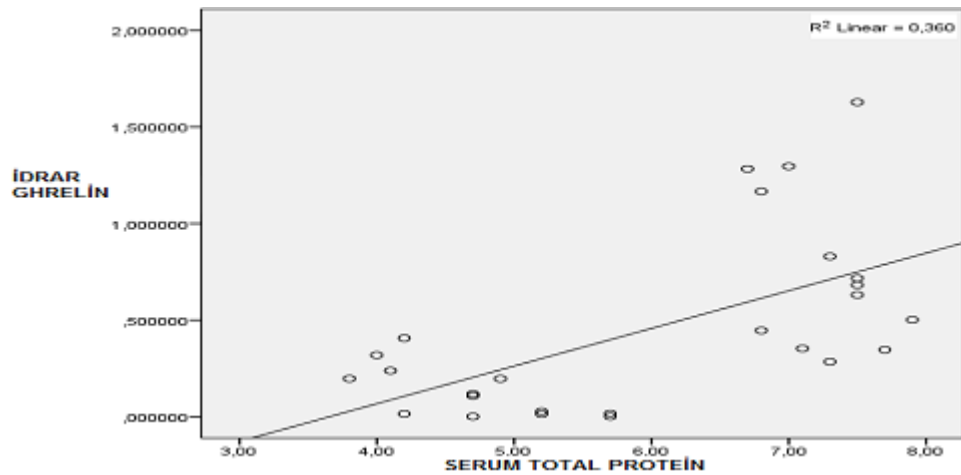
** ortanca (alt - üst sınırlar)



Şekil 4.6. Çalışma gruplarında serum ve idrar sCTLA-4 düzeylerinin karşılaştırılması

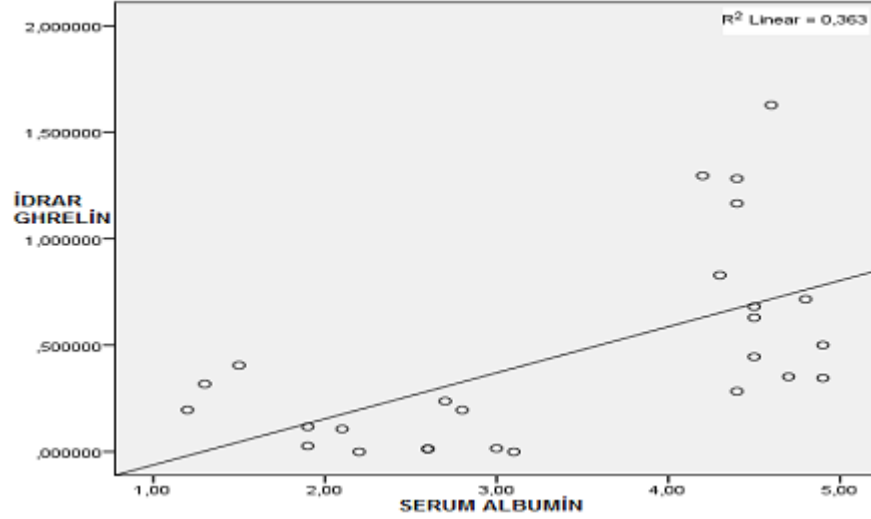
Çalışma gruplarında serum ghrelini ile çalışılan herhangi bir parametre (serum total protein, albümin, lipidler, sCD80 ve sCTLA-4) arasında korelasyon yoktu ($p > 0,05$).

NS ve kontrol grubunda, idrar ghrelinin düzeyleri ile serum total protein düzeyleri arasında pozitif korelasyon gösterildi ($r=0,590$, $p=0,002$) (Şekil 4.7).



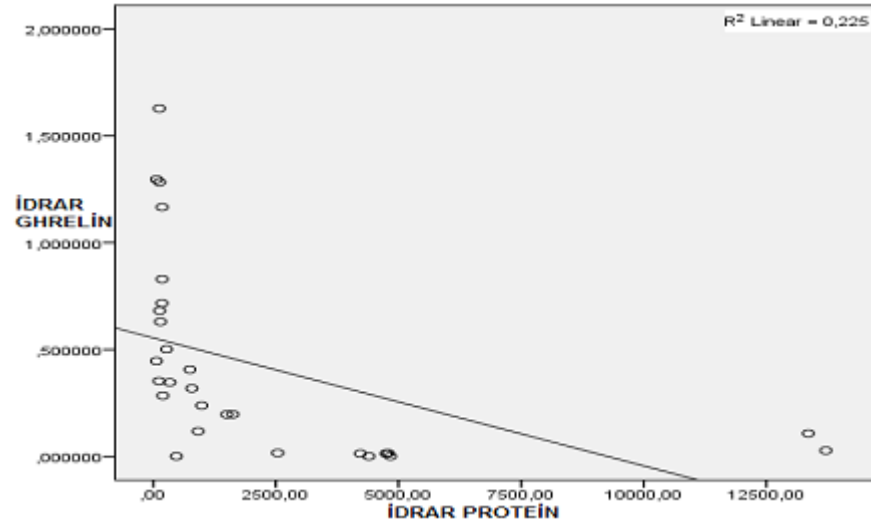
Şekil 4.7. Çalışma gruplarında idrar ghrelinin serum total protein düzeyi korelasyonu

NS ve kontrol grubunda, idrar ghrelin düzeyleri ile serum albümin düzeyleri arasında pozitif korelasyon gösterildi ($r=0,582$, $p=0,002$) (Şekil 4.8).



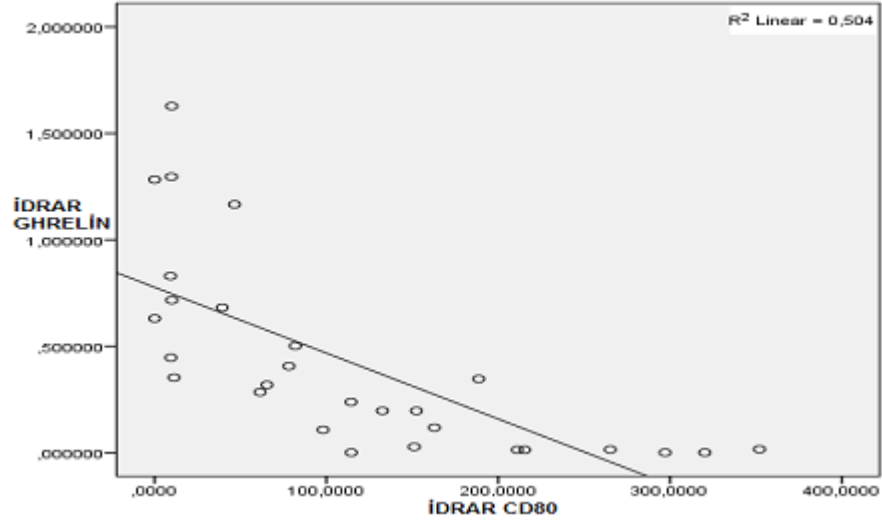
Şekil 4.8. Çalışma gruplarında grubunda idrar ghrelin serum albümin düzeyi korelasyonu

NS ve kontrol grubunda, idrar ghrelin düzeyleri ile idrar protein düzeyleri arasında negatif korelasyon gösterildi ($r=-0,837$, $p=0,0001$) (Şekil 4.9).



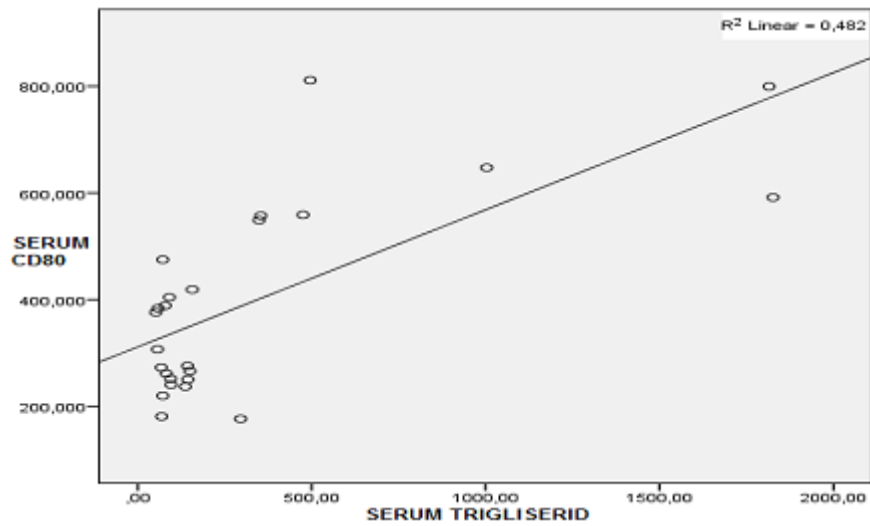
Şekil 4.9. Çalışma gruplarında idrar ghrelin idrar protein düzeyi korelasyonu

NS ve kontrol grubunda, idrar ghrelin düzeyleri ile idrar sCD80 düzeyleri arasında negatif korelasyon gösterildi ($r=-0,867$, $p=0,0001$) (Şekil 4.10).



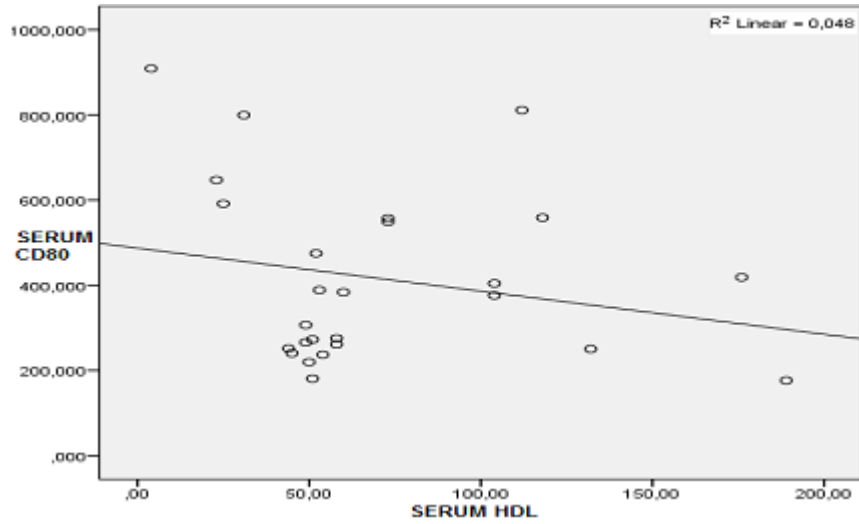
Şekil 4.10. Çalışma gruplarında idrar ghrelin idrar sCD80 düzeyi korelasyonu

NS ve kontrol grubunda, serum sCD80 düzeyleri ile serum TG düzeyleri arasında pozitif korelasyon gösterildi ($r=0,526$, $p=0,007$) (Şekil 4.11).



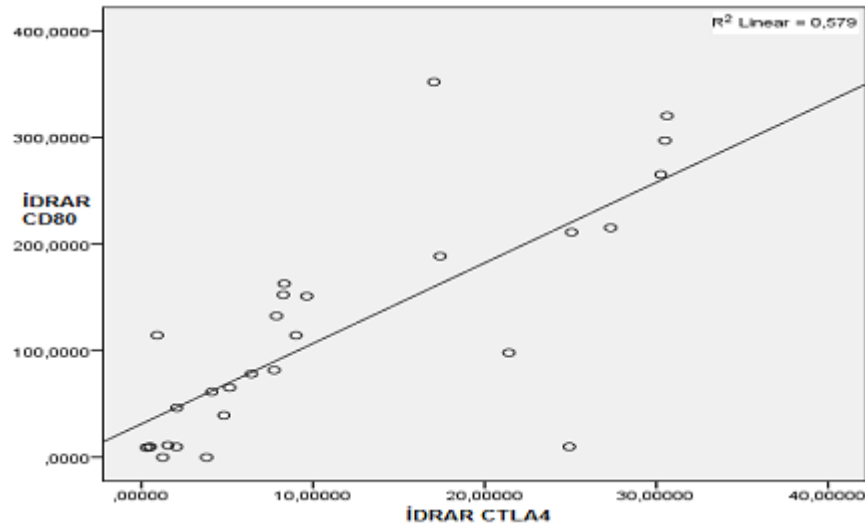
Şekil 4.11. Çalışma gruplarında serum sCD80 serum TG düzeyi korelasyonu

NS ve kontrol grubunda, serum sCD80 düzeyleri ile HDL düzeyleri arasında negatif korelasyon gösterildi ($r=-0,127$, $p=0,537$) (Şekil 4.12).



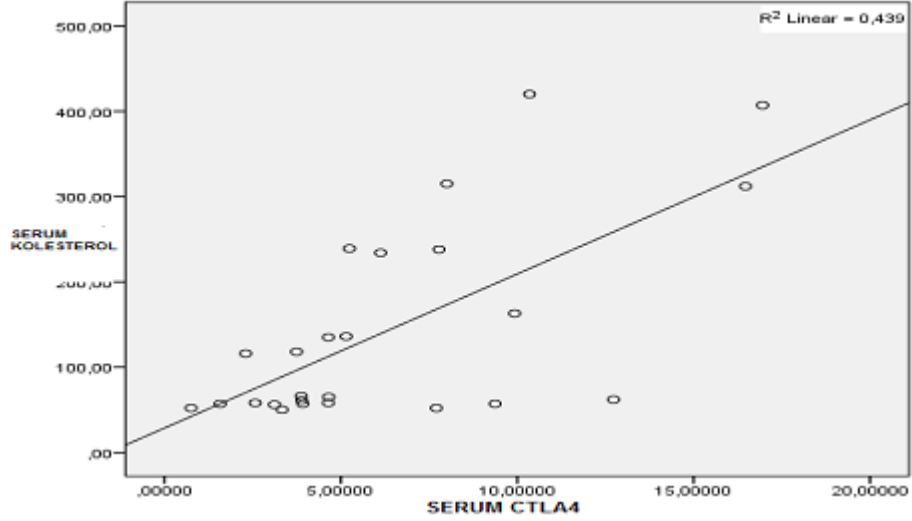
Şekil 4.12. Çalışma gruplarında serum sCD80 düzeyi serum HDL düzeyi korelasyonu

Çalışma gruplarında, idrar sCD80 düzeyleri ile idrar sCTLA-4 düzeyleri arasında pozitif korelasyon gösterildi ($r=0,738$, $p=0,002$) (Şekil 4.13).



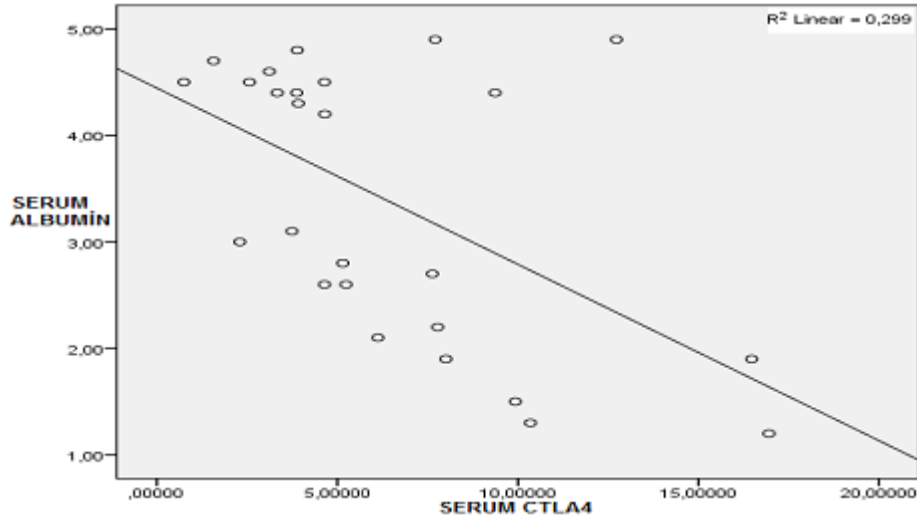
Şekil 4.13. Çalışma gruplarında idrar sCD80 düzeyi idrar sCTLA-4 düzeyi korelasyonu

Çalışma gruplarında, serum sCTLA-4 düzeyleri ile serum kolesterol düzeyleri arasında pozitif korelasyon gösterildi ($r=0,764$, $p=0,004$) (Şekil 4.14).



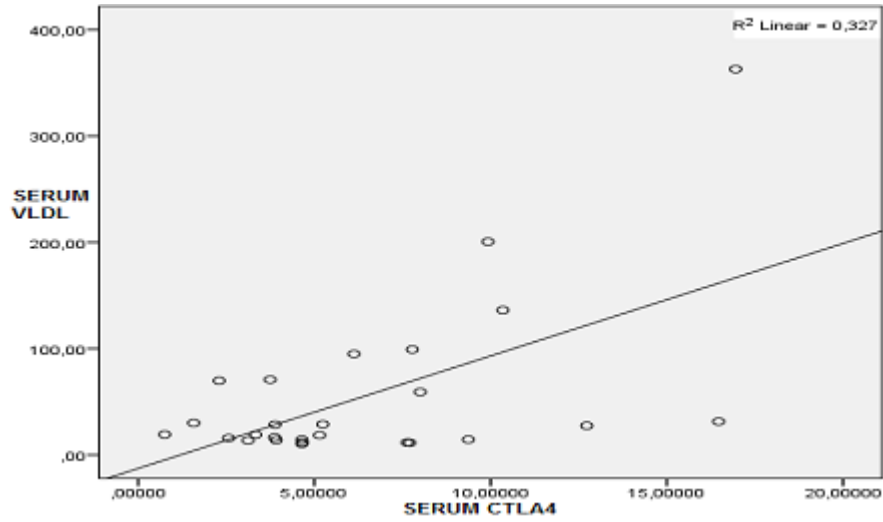
Şekil 4.14. Çalışma gruplarında serum sCTLA-4 düzeyi serum kolesterol düzeyi korelasyonu

Çalışma gruplarında, serum sCTLA-4 düzeyleri ile serum albümin düzeyleri arasında negatif korelasyon gösterildi ($r=-0,801$, $p=0,001$) (Şekil 4.15).



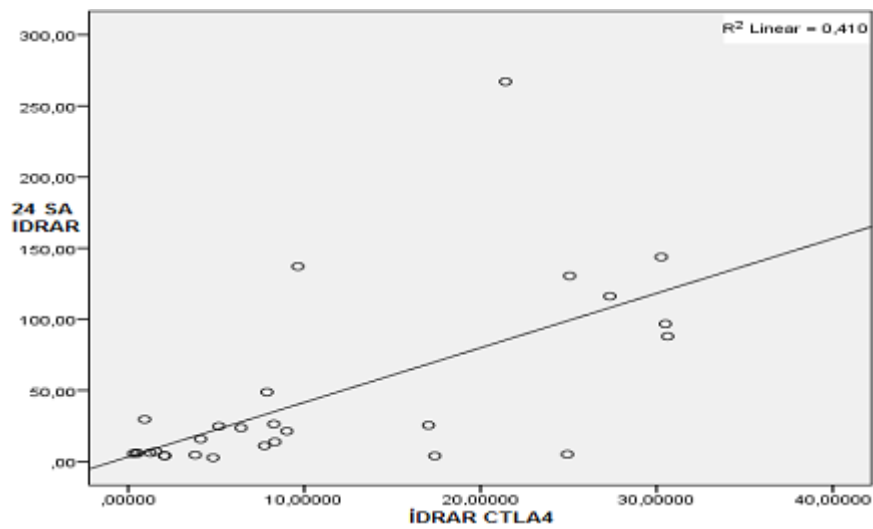
Şekil 4.15. Çalışma gruplarında serum sCTLA-4 düzeyi serum albümin düzeyi korelasyonu

Çalışma gruplarında, serum sCTLA-4 düzeyleri ile VLDL düzeyleri arasında pozitif korelasyon gösterildi ($r=0,590$, $p=0,034$) (Şekil 4.16).



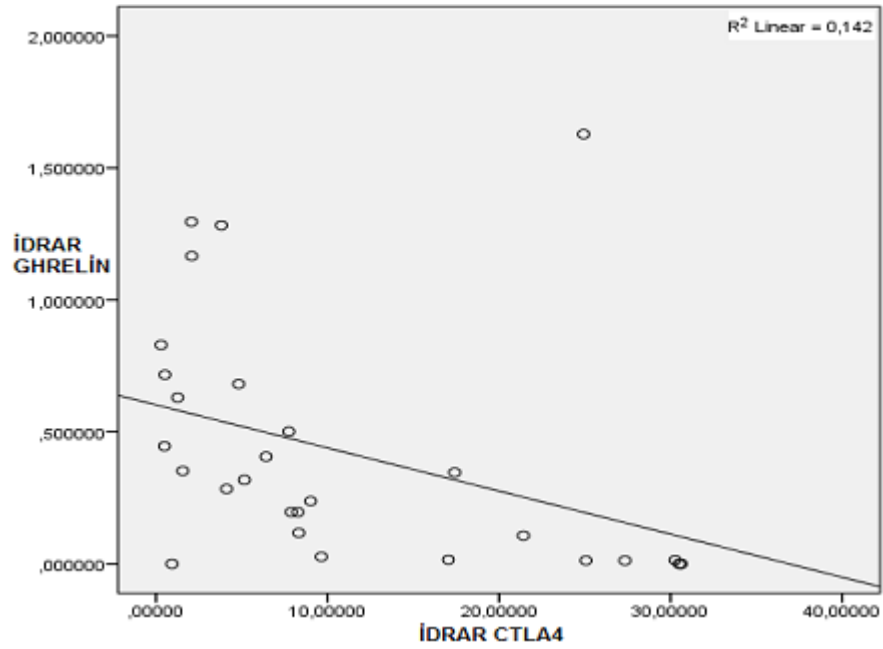
Şekil 4.16. Çalışma gruplarında serum sCTLA-4 düzeyi VLDL düzeyi korelasyonu

Çalışma gruplarında, idrar sCTLA-4 düzeyleri ile 24 saatlik idrarda protein düzeyleri arasında pozitif korelasyon gösterildi ($r=0,591$, $p=0,02$) (Şekil 4.17).



Şekil 4.17. Çalışma gruplarında idrar sCTLA-4 düzeyi 24 saatlik idrarda protein düzeyi korelasyonu

Çalışma gruplarında, idrar sCTLA-4 düzeyleri ile idrar ghrelin düzeyleri arasında negatif korelasyon gösterildi ($r=-0,608$, $p=0,016$) (Şekil 4.18).



Şekil 4.18. Çalışma gruplarında idrar sCTLA-4 düzeyi idrar ghrelin düzeyi korelasyonu

5. TARTIŞMA

Nefrotik sendrom; masif proteinüri, hipoproteinemi ve ödem ile karakterize, hipertrigliseridemi ve hiperkolesteroleminin eşlik ettiği bir hastalıktır. Çocukluk çağında en sık idiyopatik NS görülmekle birlikte birçok hastalığın seyri sırasında veya birçok nedenle NS ortaya çıkabilmektedir. NS'de çevresel ve genetik faktörler, ırksal ve coğrafi dağılımı etkilemektedir. En sık görülen form olan ve ışık mikroskopisinde glomerüllerde minimal değişikliklerle karakterize MLH, steroide yanıtı bir hastalıktır (2-5). Steroidlerin keşfinden önce tedavisi mümkün olmayan bir hastalık olarak bilinen NS'li hastalar araya giren sekonder enfeksiyonlardan veya hayatta kalabilenlerde proteinüriye bağlı gelişen son dönem böbrek yetmezliğinden kaybediliyordu (1,2). Steroidlerin bulunmasıyla çocukluk dönemi NS'lerin yaklaşık %80'i tedavi edilebilmesine rağmen, MLH dışındaki sebeplerle oluşan NS'li hastaların çoğunda steroid tedavisine başlangıçta veya daha sonra direnç geliştiği bilinmektedir (1,2,17,77). Steroide dirençli olgular uygun tedavi edilmezse proteinürileri devam ederek son dönem böbrek yetmezliğine ilerler (1,2,17,22). Steroide yanıtı hastaların tedavisi için siklofosamid, siklosporin A, azatiopirin, klorambusil, mikofenolat mofetil (MMF) ve takrolimus gibi immünsüpresif ajanlar denenmesine rağmen masif proteinürisi devam eden hasta sayısının küçümsenemeyecek kadar fazla olması araştırmacıları proteinüri patogenezini aydınlatmaya yönelik yeni araştırmalara yönlendirmiştir (2,59,77,86,241,242).

Hastalığın fizyopatolojisinde etkili olduğu ileri sürülen birçok faktör üzerinde araştırmalar halen devam etmektedir. MLH'lı hastaların renal biyopsi örneklerinde spesifik bir immün deposit görülmemesine rağmen, etyopatolojisinde immün sistemin önemli rol oynadığı bilinmektedir (36). MLH'lı hastalarda saptanan T hücre fonksiyon bozuklukları, immünsüpresyondan sorumlu tutulan özel bir lenfokinin bulunması, periferik kan mononükleer hücrelerinden sitokin salınımında artış belirlenmesi, serum immünglobülin düzeylerinde değişiklikler, kompleman aktivasyonunun alternan yoldaki faktörlerinden B ve D'nin düşük olması gibi birçok bulgu immün sistemin fizyopatolojideki rolünü destekler (42-48). Ancak tüm bu araştırmalara rağmen halen MLH ve proteinüri fizyopatolojisi henüz net olarak bilinmemektedir. Bu nedenle hastalık idiyopatik NS olarak adlandırılmaktadır. Biz de nefrotik sendromun patogenezinde etkili olabileceğini düşündüğümüz ghrelin, CD80 ve sCTLA-4 ün rollerini ortaya koyabilmek amacıyla bu çalışmayı planladık.

Nefrotik sendromda glomerüllerde büyük oranda değişim olur ve çok yakın olan podositler birleşmiş izlenimi verir, elektron mikroskobunda ayaklı şekildeki morfo-

loji düzleşmiş olarak görülür (podosit disfonksiyonu). MLH'de sitokin imbalansı, glomerül kapillerindeki elektriksel yük dengesinin bozulması ve podosit disfonksiyonu sonucunda proteinüri oluşmaktadır (2,36). Çalışmamızda NS grubunda 24 saatlik idrarda proteinüri ortalama 48,75 (24,75 - 130,49) mg/gün, kontrol grubunda ise 5,46 (4 - 6,56) mg/gün saptanmıştır (p=0,0001). NS grubundaki sıçanlarda kontrol grubuna göre serum albümin ve total protein düzeyleri de belirgin olarak düşük bulunmuştur.

Ghrelin 28 aminoasitlik, 3,2 kDa ağırlığında, büyük bölümü mideden üretilen endojen büyüme hormonu salgılatıcısıdır. Büyüme hormonu salgılatıcı etkisinin yanında besin alımının düzenlenmesi, kardiyovasküler sistem, kanser hücrelerinin büyümesi üzerine de etkileri saptanmıştır (6,7). Son yıllarda ghrelinin proinflamatuar sitokinler üzerine inhibitör etkisi saptanmıştır. Ghrelin aynı zamanda leptin tarafından uyarılan mononükleer ve T hücreleri aracılığıyla ortaya çıkan proinflamatuar sitokin ekspresyonunu inhibe etmektedir. Ghrelin ve hedef reseptörleri nötrofillerde, lenfositlerde, makrofajlarda yerleşmişlerdir ve immün hücre yanıtını modüle ederler. Patolojik inflammatuar olaylarda immün hücre yanıtında önemli bir role sahip olabilirler (157-159). İnsan T hücrelerinden ghrelin salgılandığı gösterilmiştir. Buna bağlı olarak immün sistemde ghrelinin antiinflammatuar etkisi olabileceği ifade edilmiştir (157). Hayvan modelleri oluşturularak yapılan çalışmalarda multipl skleroz ve otoimmün ensefalomyelit gibi hastalıklarda ekzojen uygulanan ghrelinin immün supressif etki gösterdiği, proinflamatuar sitokinleri baskıladığı, oksidatif stresi ve inflamasyonu azalttığı gözlenmiştir (243). Mori ve arkadaşları (244) tarafından preproghrelin geninin böbrek ve glomerüllerde eksprese edildiği gösterilmiştir. Ayrıca böbreklerin ghrelin için ana hedef dokulardan biri olduğu saptanmıştır. Renal yetmezlikte, renal fonksiyonun kaybının ciddiyetine bağlı olarak plazma ghrelin seviyesinin arttığı gösterilmiştir (244,245). Bilateral nefrektomili deneklerde plazma ghrelin seviyelerinin artması, böbreğin ghrelinin temizlenmesinde ve/veya parçalanmasında önemli rolü olduğunu gösterir. Çocuklarda ve erişkinlerde NS'de serum ve idrar ghrelin düzeyleri ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda NS'li deneklerde serum ghrelin düzeyleri açısından nefrotik sendrom ve kontrol grupları arasında fark saptanmadı (p>0,05). İdrar ghrelin düzeyleri ise NS grubunda kontrol grubundan belirgin derecede düşük saptandı (sırasıyla; 0,026 [0,012 - 0,19] ng/ml ve 0,68 [0,39 - 1,22] ng/ml, p=0,0001). Her iki çalışma grubunda da böbrek yetersizliği olmadığından idrardaki düşük ghrelin düzeylerini böbrek yetersizliği ile açıklamak mümkün değildir. Ancak her iki grup arasında serum ghrelin düzeyleri açısından fark saptanmamışken idrar ghrelin düzeylerinin nefrotik sendromlu

grupta düşük olması, böbrekte ghrelin yapımının azaldığı şeklinde yorumlanabilir. Çalışma gruplarında (NS ve kontrol) idrar ghrelin düzeyleri ile proteinüri şiddeti arasında negatif korelasyon olması da böbrek ghrelin üretimindeki azalma sonucu proteinürinin oluştuğunu düşündürür. Benzer şekilde idrar ghrelin düzeyleri ile serum total protein ($r=0,590$, $p=0,002$) ve serum albümin ($r=0,582$, $p=0,002$) arasında pozitif korelasyon bulundu. Yani idrar ghrelin düzeylerindeki düşüş sonucu serum total protein ve albümin düzeyleri de düşmekte idi. Tüm bunlardan yola çıkarak böbreğin salgıladığı ghrelinin antiproteinürik etki gösterdiği söylenebilir. Bunun muhtemel nedeni ise daha önceki çalışmalarda proinflamatuvar sitokinleri baskılayıcı etkileri gösterilmiş olan ghrelinin, T hücrelerinden salınan sitokinler sonucu meydana geldiği düşünülen proteinüri üzerine olan antagonist etkisinin ortadan kalkmış olmasına bağlanabilir.

Ghrelin büyüme, iştah, yağ birikimi ve glukoneogenezisi artırması gibi etkileri ile beyin ve periferik dokularda enerjinin harcanması ve depolanmasında görevli olan anabolik hormondur (121). Ekzojen ghrelin, farelerde besin alımını arttırmakta, yağ kullanımını azaltmakta ve sonuçta yağ dokusu artışına neden olmaktadır. Ghrelinin yağ dokusunu ve iştahı arttırıcı etkilerinin büyüme hormonu üzerine olan etkilerinden bağımsız olduğu ve bunun, leptinin de aracı olduğu santral sinir sistemindeki özel nöronlar tarafından düzenlendiği düşünülmektedir (137,152). Ghrelin iştah açıcı etkisini hipotalamusun arkuat nükleusunda bulunan NPY ve AGRP üzerinden yapar. Serebral ventrikül içine ghrelin enjeksiyonu ile NPY'de artış olduğu gösterilmiştir. Hayvan modellerinde ghrelinin açlık ve hipoglisemi esnasında artış gösterdiği bilinmektedir. Ghrelin düzeyleri obezlerde düşük iken anoreksia nervosa hastalarda yüksek bulunmuştur. En sık görülen genetik obezite sendromlarından biri olan Prader Willi sendromunda ghrelin seviyeleri zayıf ve obez kontrol gruplarına göre 3 - 4 kat daha yüksek bulunmuştur. Bu, hipotalamik disfonksiyona bağlı olarak ghrelin salınımının düzenlenmesindeki bozulma ile açıklanmıştır (246). Hızlı büyüyen SGA'lı yeni doğanlarda iyi büyümeyenlere oranla İV glukoz sonrası ghrelin düzeyleri anlamlı yüksek bulunmuştur. Bu da ghrelinin iştah arttırıcı etkisi ile gıda alımını arttırdığını desteklemektedir (247). Farelerde açlığın ghrelin salınımını uyardığı karbonhidrat alımının ise ghrelin düzeyini azalttığı gösterilmiştir. Wren ve arkadaşları (118), ghrelin infüzyonu yapılan bireylerde gıda alımının % 28 oranında arttığını göstermişlerdir. Ekzojen ghrelin farelerde besin alımını arttırmakta, yağ kullanımını azaltmakta ve sonuçta yağ dokusu artışına neden olmaktadır. Leptin ve ghrelinin karaciğer ve yağ dokusunda lipogenez üzerine etkileri vardır. Ghrelin hipotalamik APK (Aktive protein kinaz) yoluyla santral ve periferik lipid metabolizma-

sını düzenlemektedir. Bunu da AGRP ve NPY artışına sebep olarak yapmaktadır. Artan AGRP ve NPY santral sinir sisteminde melanokortin reseptörlerini bloke eder. Bunun sonucunda lipogenik enzimlerde artış meydana gelir. Karaciğerde siteanoyl-CoA desatüraz, yağ dokusunda asetil-CoA karboksilaz, yağ asit sentaz, lipoprotein lipaz artmaktadır. Dolayısı ile ghrelin serum lipidlerini düşürücü etki göstermektedir. Hepatositlerde mitokondriyal yağ asidi oksidasyonu ghrelin verilen sıçanlarda % 44 oranında azalmaktadır (248). Ghrelin kanda HDL'ye bağlanmaktadır. HDL'ye aynı zamanda bir kan esterazı olan paraoksanaz da bağlanır. Paraoksanaz; ghrelinin 3. aminoasidi olan serine bağlanan yağ asidinin, açıl bağlarını kırarak ghrelini inaktif forma getirmektedir. Çalışmamızda ayrıca enerji ve yağ metabolizması ile ilişkisi daha önce gösterilmiş olan ghrelin ile nefrotik sendromun bileşenlerinden biri olan hiperlipidemi ilişkisinin ortaya konması amaçlanmıştır. Serum TK, TG, VLDL konsantrasyonlarının artmasıyla gelişen hiperlipidemi NS'nin önemli bulgularından birisidir. NS'li hastalarda lipid metabolizmasındaki bozuklukların nedeni tam olarak aydınlatılamamıştır. Deneysel NS modellerinde yapılan çalışmalarda artmış hepatic HMG-CoA redüktaz ve açıl-koenzim A-kolesterol acil transferaz aktiviteleri ile azalmış kolesterol 7 α hidroksilaz ve lipoprotein lipaz aktiviteleri gösterilmiştir (62-64). İnsanlarda NS'de serum albümin düzeylerindeki düşüş ile serum kolesterol düzeylerindeki yükselik arasında ilişki olduğu öne sürülmüştür. Ancak daha önce yapılan çalışmalarda hiperlipidemiyi remisyona giren NS'li hastalarda devam ediyor olduğunun gösterilmiş olması (8), dislipidemi patogenezinde başka faktörlerin de etkili olduğunu düşündürmüştür. Biz de çalışmamızda deneysel nefrotik sendrom oluşturulmuş grupta serum TG, TK, VLDL düzeylerini kontrol grubundan belirgin olarak yüksek saptadık. Serum HDL kolesterol düzeyleri de NS grubunda kontrol grubundan belirgin olarak yüksekti. Serum albümin düzeyleri ile serum kolesterol düzeyleri arasında negatif korelasyon olduğunu saptadık ($r=-0,828$, $p=0,001$). Hem NS hem de kontrol gruplarında serum ghrelin düzeyleri ile lipid parametreleri arasında korelasyon saptanmadı. Ancak NS grubunda idrar ghrelin düzeylerinin kontrol grubuna göre düşük olduğu görüldü. Nefrotik sendromlu çalışma grubunda idrar ghrelin düzeyleri ile trigliserid düzeyleri ($r=-0,526$, $p=0,007$) ve total kolesterol düzeyleri ($r=-0,655$, $p=0,0001$) arasında negatif korelasyon saptandı. Buradan yola çıkılarak nefrotik sendromda idrar ghrelin düzeylerindeki azalma neticesinde hiperlipidemi ve lipidürinin meydana geldiği düşünülebilir. Bu da ghrelinin lipid metabolizmasında görevli olan enzimler üzerindeki düzenleyici etkisi ile oluyor olabilir. Azalmış lipoprotein lipaz aktivitesi hiperlipidemi etyopatogenezinde etkili olduğu en çok kabul edilen enzimdir. Nefrotik sendromda ghrelin düzeylerindeki düşüş netice-

sinde lipoprotein lipaz aktivisinde azalma olduğu hipotezi ise vaka sayısının arttığı çalışmalarla, serum ve idrar ghrelinindeki düşüşün gösterilmesi ile ortaya konabilir.

Klinik ve deneysel çalışmalar ile glomerülofritlerin patogeneğinde immünolojik mekanizmaların birinci derece de sorumlu olduğu ortaya konulmuştur. Mononükleer hücreler ve T hücrelerinin glomerüllerde saptanması patogeneğinde hücre immün mekanizmaların önemine dikkat çekmiştir. Çocuklarda NS etyopatogeneğinde etkin olanın dolaşımdaki bir T hücre faktörü olduğu, bunun podosit iskeletinde örgütsüzlüğe sebep olduğu ve bunun proteinüri ile sonuçlandığıdır. Son zamanlarda podositlerdeki CD80 ekspresyonundaki artış, proteinüri için bir mekanizma olarak tespit edilmiştir. CD80; düzenleyici T hücrelerindeki CTLA-4 ile inhibe edilir. Son yıllarda MLH olan hastaların idrarında CD80 artışı tespit edilmiştir. CTLA-4 podositler üzerindeki CD80 ekspresyonunu inhibe ederek T hücre aktivasyonunu inhibe etmektedir. Bu bulgular NS'deki proteinürinin muhtemelen antijenler veya sitokinler tarafından bu hücrelerin uyarılması ile başlatılan podositlerde kalıcı CD80 ekspresyonu nedeni ile oluştuğunu düşündürmektedir. Reiser ve arkadaşları (9) LPS enjeksiyonu ile foot proçes silinmesi oluşturulmuş ratlarda SD (slit diafram) ve aktin hücre iskeletinin CD80 ekspresyonu ile yeniden düzenlendiğini göstermişlerdir. Garin ve arkadaşları (10) yapmış oldukları bir çalışmada ise bizim çalışmamıza benzer şekilde MLH'de üriner sCD80 konsantrasyonlarını kontrol grubuna kıyasla yüksek bulmuşlardır. İmmün sistemin yabancıyı yok ettikten sonra, cevabı baskılayabilmesi ve aktivasyonun sonlandırabilmesi için frenleyici ya da inhibe edici sinyallere ihtiyacı vardır. Bu sinyallerden birinin de CTLA-4 molekülü olduğu bilinmektedir. Bu molekül, hem hayvanlarda hem de insanlarda T hücre aktivasyonunu negatif yönde düzenlemektedir. Yapılan deney hayvanları modellerinde CTLA-4 molekülünün otoimmün hastalıklar ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (249-251). CTLA-4 molekülünün rolü pek çok otoimmün hastalıkta araştırılmaktadır. Özellikle hücre immünitenin ön planda olduğu bir hastalıkta sıklıkla inhibitör molekül olarak bilinen CTLA-4 molekülünün önemi büyüktür. Çözünebilir CTLA-4 daha önce SLE'li hastalarda periferik kanda yüksek bulunmuş ve hatta hastalık aktivasyon belirleyicisi olabileceği dahi ima edilmiştir (252). Saverino ve arkadaşlarının (193) yapmış oldukları sCTLA-4'ün otoimmün hastalıklardaki rolü ile ilgili çalışmalarında; sCTLA-4'ün, membran CTLA-4 ile CD80 bağlanmasını inhibe ettiğini göstermişlerdir. Bunun neticesinde T hücre aktivasyonundaki inhibitör sinyalleşmede azalma meydana gelmekte ve otoimmün hastalıklar oluşmaktadır. Aynı çalışmada bu mekanizmanın otoimmün tiroitler, tip 1 diabet, diffüz kütanöz sistemik sklerozis, SLE, myastenia gravis, çölyak hastalığı ve otoimmün pankreatit ile ilişkilerinin olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda

alerjik astma, arı venomu alerjisi olan hastalarda da plazma sCTLA-4 düzeylerinin artmış olduğu gösterilmiştir.

Biz de çalışmamızda etyolojisi halen net olarak aydınlatılamamış olan NS'de CD80 ve CTLA-4'ün etkinliğini araştırmayı amaçladık. Serum sCD80 düzeylerinin NS'li grupta kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek olduğu görüldü (sırasıyla; $514,01 \pm 234,20$ ng/ml ve $289,05 \pm 80,90$ ng/ml, $p=0,003$). Yine benzer şekilde idrar sCD80 düzeyleri de NS'li grupta kontrol grubuna göre belirgin yüksek idi (sırasıyla; $152,48$ ($114,36 - 265,27$) ng/ml ve 10 ($9,34 - 53,94$) ng/ml, $p=0,0001$). Bu bulgulara paralel olarak NS'li grupta kontrol grubuna göre serum sCTLA-4 düzeyleri (sırasıyla; $7,70$ ($5,02 - 10,58$) pg/ml ve $3,88$ ($2,84 - 6,18$) pg/ml, $p=0,019$) ve idrar sCTLA-4 düzeyleri (sırasıyla; $9,64$ ($7,87 - 27,34$) pg/ml ve $2,07$ ($0,88 - 6,27$) pg/ml $p=0,001$) yüksek bulundu. Çalışma gruplarında idrar ghrelini ile idrar sCD80 ($r=-0,867$, $p=0,0001$) ve idrar sCTLA-4 ($r=-0,608$, $p=0,016$) düzeyleri arasında negatif korelasyon saptandı. İdrar ghrelinindeki düşüş sonucunda idrar sCD80 düzeyleri artmakta ve T hücrelerinin proliferasyon ve aktivasyonunda artış meydana gelmektedir. Bu durum ghrelinin immün sistemi baskılayıcı etkilerinin böbrekte kaybolduğunu gösterir. Ayrıca idrar ghrelini düştükçe idrar sCTLA-4 düzeyleri artmaktadır. CTLA-4'te artış olmasına rağmen CD80'in yeterince baskılanamıyor olduğunun gösterilmesi CD80 üzerine diğer inhibitör mekanizmaların da etkili olduğunu düşündürür. Bu inhibitörlerden biri de proinflamatuvar sitokinleri baskıladığı bilinen ghrelin olabilir (IL-2 ve TNF yi azaltır). Nefrotik sendromda meydana gelen ghrelin eksikliği nedeniyle CD80 üzerindeki inhibisyonun yetersizlik sonucu T hücrelerinin aktivasyonu artıyor ve inflamatuvar olaylar devam ediyor olabilir. Çalışmamızda ayrıca idrar sCTLA-4 düzeyleri ile 24 saatlik idrarda proteinüri düzeyleri arasında pozitif ($r=0,591$, $p=0,02$) korelasyon saptandı. Buna paralel şekilde de serum sCTLA-4 ile serum albümin ($r=-0,801$, $p=0,001$) düzeyleri arasında negatif korelasyon vardı. Daha önceki literatür bilgilerine dayanarak idrar CTLA-4 artışı ile proteinürinin azalması beklenirdi. Buradan CTLA-4'ün CD80'i baskılayamadığı veya bu inhibisyonun T hücre çoğalmasını ve aktivasyonunu önlemede yetersiz kaldığı sonucuna varılabilir. Burada yine T hücrelerinin baskılanmasındaki eksikliğin sebebi böbrekteki ghrelinin eksikliği olabilir. Ayrıca Saverino ve arkadaşlarının (193) yapmış oldukları çalışmaya benzer şekilde; soluble CTLA-4'teki artış nedeniyle, membran CTLA-4'ünün CD80 üzerindeki baskılayıcı etkisi ortadan kalkıyor olabilir. Çünkü sCTLA-4'ün erken dönemde CD80/CD86-CD28 bağlanmasını önleyerek T hücre proliferasyonunu baskıladığı, geç dönemde ise CD80/CD86-membran CTLA-4 bağlanmasını önleyerek T hücrelerinin çoğalmasının önüne geçilemediği bilinmektedir.

Sonuç olarak CD80 ve CTLA-4 otoimmün hastalıklarla ilişkisi olduğu düşünülen ve birçok immünolojik temeli olan hastalıkta rollerinin araştırıldığı kostimülator sinyal molekülleridir. Ghrelin ise sitokin salınımı üzerine baskılayıcı etkileri olduğu ortaya konmuş bir hormondur. Nefrotik sendrom etyopatogenezinde de rolleri olduğu düşünülen bu belirteçlerin işlevlerinin nasıl olduğunu desteklemek amacıyla yapmış olduğumuz bu çalışmada NS'de proteinürinin olduğu dönemde CD80'in idrar ve kanda artıyor olduğunu gösterdik. Daha önce Treg hücreleri üzerine etkileri gösterilmiş olan CD80 ve sCTLA-4 arasındaki ilişkiyi destekler nitelikte de; soluble CTLA-4'ün de proteinüri olduğu dönemde kan ve idrarda artıyor olduğunu saptadık. Buradan yola çıkarak soluble CTLA-4 artışının T hücrelerinde CD80 ekspresyonunun inhibisyonunu ortadan kaldırıyor olduğu sonucuna varılabilir. Dolayısıyla Treg hücrelerinin düzenlenmesinde etkileri olduğu bilenen sCTLA-4 ve sCD80 düzeylerinin artıyor olduğunu göstererek; NS'nin T hücre fonksiyonlarındaki bozukluk sonucu ortaya çıkan bir tablo olduğu hipotezini desteklemiş olduk. Bununla beraber NS etyopatogenezinde rolleri olduğu düşünülen bu belirteçlerin; işlevlerinin ne şekilde olduğunu desteklemek, nefrotik sendromda sCD80 ve sCTLA-4'ün neden artıyor olduğunu ortaya koymak, bunların Treg hücreler üzerine olan etkilerini ve bunların ghrelin ile olan ilişkilerini nefrotik sendromda göstermek üzere daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. NS'li gruptaki sıçanların kan üre azotu (BUN) düzeyleri kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek saptandı (18,10 (13,5 - 21,65) mg/dl ve 12,6 (10,7 - 13,65) mg/dl, $p < 0,0001$).
2. Serum kreatinin düzeyleri açısından NS'li grup ile kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmadı ($0,33 \pm 0,34$ mg/dl ve $0,39 \pm 0,039$ mg/dl, $p > 0,05$).
3. NS'li gruptaki sıçanların serum total protein düzeyi kontrol grubuna göre belirgin olarak düşük saptandı ($4,7 \pm 0,63$ g/dl ve $7,27 \pm 0,37$ mg/dl, $p = 0,0001$).
4. Serum albümin düzeyleri NS'li grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük saptandı ($2,22 \pm 0,63$ g/dl ve $4,54 \pm 0,22$ g/dl, $p = 0,0001$).
5. İdrar protein düzeylerinin NS'li grupta kontrol grubuna göre belirgin olarak artmış olduğu görüldü (2540 (917 - 4792) mg/dl ve 147,58 (121 - 189,5) mg/dl, $p = 0,0001$).
6. 24 saatlik idrar volümünün NS'li grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmış olduğu saptandı (2,15 (1,75 - 3) ml ve 4,00 (2,57 - 6) ml, $p = 0,01$).
7. 24 saatlik idrarda protein düzeyinin NS'li grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmış olduğu görüldü (48,75 (24,75 - 130,49) mg/gün ve 5,46 (4,00 - 6,56) mg/gün, $p = 0,0001$).
8. Serum TG düzeyleri karşılaştırıldığında NS'li grupta TG düzeyinin kontrol grubuna göre belirgin olarak artmış olduğu görüldü (351,5 (147,25 - 876,25) mg/dl ve 79 (68,5 - 116,5) mg/dl, $p = 0,001$).
9. NS'li gruptaki sıçanların serum kolesterol düzeyleri kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek saptandı ($236,08 \pm 108,28$ mg/dl ve $57,76 \pm 4,83$ mg/dl, $p = 0,0001$).
10. NS'li grupta serum VLDL düzeylerinin kontrol grubuna oranla belirgin olarak artmış olduğu görüldü (69,80 (23,65 - 117,70) mg/dl ve 15,80 (13,7 - 23,3) mg/dl, $p = 0,005$).
11. Serum HDL düzeylerinin NS'li grupta kontrol grubuna göre belirgin olarak artmış olduğu görüldü ($89,53 \pm 58,30$ mg/dl ve $51,84 \pm 4,81$ mg/dl, $p = 0,029$).
12. Serum ghrelin düzeyleri açısından NS'li grup ile kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmadı ($5,48 \pm 3,26$ ng/ml ve $5,90 \pm 0,73$ ng/ml, $p > 0,05$).
13. NS'li grupta idrar ghrelin düzeyleri kontrol grubuna göre belirgin olarak düşük saptandı (0,026 (0,012 - 0,19) ng/ml ve 0,68 (0,39 - 1,22) ng/ml, $p = 0,0001$).
14. Serum sCD80 düzeylerinin NS'li grupta kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek olduğu görüldü ($514,01 \pm 234,20$ ng/ml ve $289,05 \pm 80,90$ ng/ml, $p = 0,003$).

15. NS'li grupta idrar sCD80 düzeyleri kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek saptandı (152,48 (114,36 - 265,27) ng/ml ve 10 (9,34 - 53,94) ng/ml, $p=0,0001$).

16. Serum sCTLA-4 düzeylerinin NS'li grupta kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek olduğu görüldü (7,70 (5,02 - 10,58) pg/ml ve 3,88 (2,84 - 6,18) pg/ml, $p=0,019$).

17. İdrar sCTLA-4 düzeylerinin NS'li grupta kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek olduğu saptandı (9,64 (7,87 - 27,34) pg/ml ve 2,07 (0,88 - 6,27) pg/ml, $p=0,001$).

18. NS'li grupta serum ghrelin düzeyleri ile çalışılan herhangi bir parametre (BUN, serum kreatinin, serum total protein ve albümin, lipidler, sCD80 ve sCTLA-4) arasında korelasyon saptanmadı ($p>0,05$).

19. Çalışma gruplarında idrar ghrelin düzeyleri ile serum total protein düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptandı ($r=0,590$, $p=0,002$).

20. Çalışma gruplarında idrar ghrelin düzeyleri ile serum albümin düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptandı ($r=0,582$, $p=0,002$).

21. Çalışma gruplarında idrar ghrelin düzeyleri ile idrar proteinüri düzeyleri arasında negatif korelasyon saptandı ($r=-0,837$, $p=0,0001$).

22. Çalışma gruplarında idrar ghrelin düzeyleri ile idrar sCD80 düzeyleri arasında negatif korelasyon saptandı ($r=-0,867$, $p=0,0001$).

23. Çalışma gruplarında serum sCD80 düzeyleri ile serum trigliserid düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptandı ($r= 0,526$, $p=0,007$).

24. Çalışma gruplarında serum sCD80 düzeyleri ile serum HDL düzeyleri arasında negatif korelasyon saptandı ($r=-0,127$, $p=0,537$).

25. Çalışma gruplarında idrar sCD80 düzeyleri ile idrar sCTLA-4 düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptandı ($r= 0,738$, $p=0,002$).

26. Çalışma gruplarında serum sCTLA-4 düzeyleri ile serum kolesterol düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptandı ($r=0,764$, $p=0,004$).

27. Çalışma gruplarında serum sCTLA-4 düzeyleri ile serum albümin düzeyleri arasında negatif korelasyon saptandı ($r=-0,801$, $p=0,001$).

28. Çalışma gruplarında serum sCTLA-4 düzeyleri ile serum VLDL düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptandı ($r=0,590$, $p=0,034$).

29. Çalışma gruplarında idrar sCTLA-4 düzeyleri ile 24 saatlik idrarda proteinüri düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptandı ($r=0,591$, $p=0,02$).

30. Çalışma gruplarında idrar sCTLA-4 düzeyleri ile idrar ghrelin düzeyleri arasında negatif korelasyon saptandı ($r=-0,608$, $p=0,016$).

KAYNAKLAR

1. Holmberg C, Tryggvason K, Kestila MK, Jalanko HJ. Glomerular disease. *Pediatric Nephrology*, Avner E, Eds. 5th Ed, New York, In: *Pediatric Nephrology*, Lippincott Williams and Wilkins. 2004;501–664.
2. Eddy AA, Symsons JM. Nephrotic syndrome in childhood. *Lancet*. 2003; 362: 629-39.
3. International Study of Kidney Disease in Children. Nephrotic syndrome in children: prediction of histology from clinical and laboratory characteristics at time of diagnosis. *Kidney Int*. 1978;13(2):159–65.
4. Kher KK: Nephrotic syndrome. 'Clinical Pediatric Nephrology. Ed: KK Kher, SP Makkes, Mc Graw-Hill, Inc, New York. 1992;137-74.
5. Bergstein JM, Chesney RW. Nephrologic Disease. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, Nelson WE (editors). *Nelson Textbook of Pediatrics* (17th ed). Philadelphia: WB Saunders Co. 2004;1731-82.
6. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*. 1999;402:656-60.
7. Lazarczyk MA, Lazarczyk M, Grzela T. Ghrelin. A recently discovered gut-brain peptide. *Int J Mol Med*. 2003;12:279-87.
8. Querfeld U. Should hyperlipidemia in children with the nephrotic syndrome be treated? *Pediatr Nephrol*. 1999;13:77–84.
9. Reiser J, von Gersdorff G, Loos M, Oh J, Asanuma K, Giardino L, Rastaldi MP, Calvaresi N, Watanabe H, Schwarz K, Faul C, Kretzler M, Davidson A, Sugimoto H, Kalluri R, Sharpe AH, Kreidberg JA, Mundel P. Induction of B7-1 in podocytes is associated with nephrotic syndrome. *J Clin Invest*. 2004;113(10):1390-7.

10. Garin EH, Diaz LN, Mu W, Wasserfall C, Araya C, Segal M, Johnson RJ. Urinary CD80 excretion increases in idiopathic minimal-change disease. *J Am Soc Nephrol.* 2009;20(2):260-6.
11. Nash MA, Edelman CM, Bernstein J, Barnett HL. The nephrotic syndrome. Ed: Edelman CM, Vol II, Boston, *Pediatric Kidney Disease.* Little, Brown and Co. 1992;1247-90.
12. Clark AG, Barratt TM. Steroid responsive nephrotic syndrome. Barratt TM, Avner ED, Harmon WE (eds). *Pediatric Nephrology*, 4th edition, Baltimore, Lippincott Williams Wilkins A Wolters Kluwer Company. 1999;731-45.
13. Roth KS, Amaker BH, Chan JC. Nephrotic syndrome: pathogenesis and management. *Pediatr Rev.* 2002;23:237-48.
14. Sharples PM, Poulton J, White RH. Steroid responsive nephrotic syndrome is more common in Asians. *Arch Dis Child.* 1985;60:1014-17.
15. Abdurrahman MB, Aikhionbare HA, Babaoye FA, Sathiakumar N, Narayana PT. Clinicopathological features of childhood nephrotic syndrome in northern Nigeria. *Q J Med.* 1990;75:563-76.
16. McKinney PA, Feltbower RG, Brocklebank JT, Fitzpatrick MM. Time trends and ethnic patterns of childhood nephrotic syndrome in Yorkshire, UK. *Pediatr Nephrol.* 2001;16(12):1040-44.
17. Chesney R. The changing face of childhood nephrotic syndrome. *Kidney Int.* 2004;66:1294-302.
18. Bertani T, Poggi A, Pozzoni R, Delaini F, Sacchi G, Thoua Y, Mecca G, Remuzzi G, Donati MB. Adriamycin-induced nephrotic syndrome in rats: sequence of pathologic events. *Lab Invest.* 1982;46(1):16-23.
19. Bertani T, Remuzzi G, Rocchi G, Delaini F, Sacchi G, Falchetti M, Donati MB. Steroids and adriamycin nephrosis. *Appl Pathol.* 1984;2(1):32-38.

20. Bertani T, Remuzzi G, Poggi A, Delaini F, Sacchi G, Morassi L, Verroust P, Mecca G, Donati MB. Severe glomerular epithelial cell damage does not prevent passive Heyman nephritis in rats. *Clin Exp Immunol.* 1983;51(1):38–44.
21. Salcedo JR, Thabet MA, Latta K, Chan JC. Nephrosis in childhood. *Nephron.* 1995;71(4):373–385.
22. Valentini RP, Smoyer WE. Nephrotic syndrome. In: *Clinical Pediatric Nephrology*, Kher KK, Schnaper HW, Makker SP Eds. 2nd Ed, London: Informa UK Ltd. 2007;155–94.
23. Martin AN, Edelmann CM, Berstein J, Barnett H. The nephrotic syndrome. Edelmann CM Eds. 2nd Ed, Boston, In: *Pediatric Kidney Disease*, Little Brown and Company. 1992; 1274 - 90.
24. Holmberg C, Tryggvason K, Kestila MK, Jalanko HJ. Glomerular disease. Avner E, Eds. 5th Edition, In: *Pediatric Nephrology*, New York. Lippincott Williams and Wilkins. 2004;501-664.
25. Habashy D, Hodson EM, Craig JC. Interventions for steroid-resistant nephrotic syndrome: a systematic review. *Pediatr Nephrol.* 2003;18:906-12.
26. Troyanov S, Wall CA, Miller JA, Scholey JW, Cattran DC. Idiopathic membranous nephropathy: Definition and relevance of a partial remission. *Kidney Int.* 2004;66(3):1199-205.
27. Özkaya N, Çakar N, Ekim M, Kara N, Akkök N, Yalçinkaya F. Primary nephrotic syndrome during childhood in Turkey. *Pediatrics International.* 2004; 46: 436 - 38.
28. Gbadegesin R, Smoyer WE. Nephrotic syndrome. In Geary DF, Schaefer F (eds). *Comprehensive Pediatric Nephrology.* 1st ed. Philadelphia, Mosby. 2008;205-13.
29. Habashy D, Hodson EM, Craig JC. Interventions for steroid-resistant nephrotic syndrome: a systematic review. *Pediatr Nephrol.* 2003;18:906-12.

30. Weber S. Hereditary nephrotic syndrome. In Geary DF, Schaefer F (eds). *Comprehensive Pediatric Nephrology*. 1st ed. Philadelphia, Mosby. 2008; 219 - 28.
31. Korbet SM. Primary focal segmental glomerulosclerosis. *J Am Soc Nephrol*. 1998;9:1333–40.
32. Myllymaki J, Saha H, Mustonen J, Helin H, Pasternack A. IgM nephropathy: clinical picture and long-term prognosis. *Am J Kidney Dis*. 2003;41:343–50.
33. Wiggins RC. The spectrum of podocytopathies: a unifying view of glomerular diseases. *Kidney Int*. 2007;71:1205-14.
34. Bagga A, Mantan M. Nephrotic syndrome in children. *Indian J Med Res*. 2005;122:13-28.
35. Niaudet P. Steroid-resistant idiopathic nephrotic syndrome in children. In: Avner ED, Harmon WE, Niaudet P, eds. *Pediatric Nephrology*. Philadelphia, USA: Lippincott Williams Wilkins. 2004:557-73.
36. Camici M. The Nephrotic Syndrome is an immunoinflammatory disorder. *Med Hypotheses*. 2007;68:900-5.
37. Mathieson PW. Immune dysregulation in minimal change nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*. 2003;18:26-29.
38. Brenchley PE. Vascular permeability factors in steroid-sensitive nephrotic syndrome and focal segmental glomerulosclerosis. *Nephrol Dial Transplant*. 2003;18(Suppl6):21-5.
39. Savin VJ, Sharma R, Sharma M, et al. Circulating factor associated with increased glomerular permeability to albumin in recurrent focal segmental glomerulosclerosis. *N Engl J Med*. 1996;334:878-83.
40. Carraro M, Caridi G, Bruschi M, Artero M, Berteli R, Zennaro C, Musante L, Candiano G, Perfumo F, Ghiggeri GM. Serum glomerular permeability activity in patients with podocin mutations (NPHS2) and steroid-resistant nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol*. 2002;13:1946-52.

41. Şirin A. Nefrotik Sendrom. In: Neyzi O, Ertuğrul T (editors). *Pediatri*. 3th eds. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi. 2002;1184-7.
42. Shalhoub RJ. Pathogenesis of lipoid nephrosis: A disorder of T cell function. *Lancet*. 1974;7:556-9.
43. Heslan JM, Branellec A, Laurent J, Lagrue G. The vascular permeability factor is a T lymphocyte product. *Nephron*. 1986;42:187-8.
44. Schnaper HW. A regulatory system for soluble immune response suppressor production in steroide-responsive nephrotic syndrome. *Kidney Int*. 1990; 38: 151 - 9.
45. Schnaper HW, Aune TM. Identification of the lymphokine soluble immune response suppressor in urine of nephrotic children. *J Clin Invest*. 1985;76:341-9.
46. Schnaper HW, Aune TM, Pierce CW. Identification and initial characterization of concovalin A and interferon induced human supressor factors. Evidence for a human equivalent of murine soluble immune response supressor (SIRS). *J Immunol*. 1984;132:2429-35.
47. Frank C, Herrmann M, Fernandez S, Dirnecker D, Boswald M, Kolowos W, Ruder H, Haas JP. Dominant T cells in idiopathic nephrotic syndrome of childhood. *Kidney Int*. 2000;57:510-7.
48. Zachwieja J, Bobkowski W, Zaniew M, Dobrowolska Zachwieja A, Lewandowska Stachowiak M, Siwinska A. Apoptosis and antioxidant defense in the nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*. 2003; 18: 1116 - 21.
49. van den Berg JG, Weening JJ. Role of the immune system in the pathogenesis of idiopathic nephrotic syndrome. *Clin Sci (Lond)*. 2004;107:125-36.
50. Lama G, Luongo I, Tirino G, Borriello A, Carangio C, Salsano ME. T lymphocyte populations and cytokines in childhood nephritic syndrome. *Am J Kidney Dis*. 2002; 39: 958 – 65.

51. Mir S, Kutukculer N, Kavakli K. Major histocompatibility complex antigens and immune mechanisms in steroide-responsive nephrotic syndrome. *Acta Paediatr Jpn.* 1994;36:662-5.
52. Alfiler CA, Roy LP, Doran T, Sheldon A, Bashir H. HLA-DR7 and streoid responsive nephrotic syndrome of childhood. *Clin Nephrol.* 1980;14:71-4.
53. Salsano ME, Graziano L, Luongo I, Pilla P, Giordano M, Lama G. Atopy in childhood idiopathic nephrotic syndrome. *Acta Paediatr.* 2007;96:561-6.
54. Cheung W, Wei CL, Seah CC, Jordan SC, Yap HK. Atopy, serum IgE, and Interleukin-13 in steroide-responsive nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 2004;19:627-32.
55. Zenker M, Machuca E, Antignac C. Genetics of nephrotic syndrome: new insights into molecules acting at the glomerular filtration barrier. *J Mol Med.* 2009;87:849-57.
56. Rodewald R, Karnovsky MJ. Porous substructure of the glomerular slit diaphragm in the rat and mouse. *J Cell Biol.* 1974;60:423-33.
57. Kemper MJ, Wolf G, Müller-Wiefel DE. Transmission of glomerular permeability factor from a mother to her child. *N Engl J Med.* 2001;344:386-87.
58. Dantal J, Bigot E, Bogers W, et al. Effect of plasma protein adsorption on protein excretion in kidney-transplant recipients with recurrent nephrotic syndrome. *N Engl J Med.* 1994;330:7-14.
59. Kaysen GA, Gambertoglio J, Felts J, Hutchinson FN. Albumin synthesis, albuminuria and hyperlipidemia in nephrotic patients. *Kidney Int.* 1987;31: 1368 - 76.
60. Muls E, Rosseneu M, Daneels R, Schurgers M, Boelaert J. Lipoprotein distribution and composition in the human nephrotic syndrome. *Atherosclerosis.* 1985;54(2):225–37.
61. Thabet MA, Salcedo JR, Chan JC. Hyperlipidemia in childhood nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 1993;7(5):559–66.

62. Vaziri ND, Liang K. UpRregulation of acyl-coenzyme A: cholesterol acyltransferase (ACAT) in nephrotic syndrome. *Kidney Int.* 2002;61:1769–75.
63. Shearer GC, Kaysen GA. Proteinuria and plasma compositional changes contribute to defective lipoprotein catabolism in the nephrotic syndrome by separate mechanisms. *Am J Kidney Dis.* 2001;37(suppl2):119–22.
64. Shearer GC, Stevenson FT, Atkinson DN, Jones H, Staprans I, Kaysen GA. Hypoalbuminemia and proteinuria contribute separately to reduced lipoprotein catabolism in the nephrotic syndrome. *Kidney Int.* 2001;59:179–89.
65. Olbricht CJ, Koch KM. Treatment of hyperlipidemia in nephrotic syndrome: time for a change? *Nephron.* 1992;62(2):125–29.
66. Appel G. Lipid abnormalities in renal disease. *Kidney Int.* 1991;39(1):169–83.
67. Attman PO, Alaupovic P. Pathogenesis of hyperlipidemia in the nephrotic syndrome. *Am J Nephrol.* 1990;10Suppl1:69-75.
68. Delvin EE, Merouani A, Levy E. Dyslipidemia in pediatric nephrotic syndrome: causes revisited. *Clin Biochem.* 2003;36:95-101.
69. Cameron JS, Glassock RJ. Natural history and outcoma of the nephrotic syndrome. In: Cameron JS, Glassock RJ, eds. *The nephrotic syndrome.* New York : Marcel Dekker. 1988;999-1033.
70. Voght AB, Avner ED. Conditions Particularly Associated with Proteinuria. Kliegman RM, Behrman RE, Jenson HB, Stanton BF (eds). *Nelson textbook of pediatrics* (18nd ed). Philadelphia. 2007;2190.
71. Gulati S, Sharma AP, Sharma RK, Gupta A, Gupta RK. Do current recommendations for kidney biopsy in nephrotic syndrome need modifications? *Pediatr Nephrol.* 2002;17(6):404–08.
72. Vaziri ND, Liang K. UpRregulation of acyl-coenzyme A: cholesterol acyltransferase (ACAT) in nephrotic syndrome. *Kidney Int.* 2002;61:1769–75.

73. Shearer GC, Kaysen GA. Proteinuria and plasma compositional changes contribute to defective lipoprotein catabolism in the nephrotic syndrome by separate mechanisms. *Am J Kidney Dis.* 2001;37(suppl2):119–22.
74. Shearer GC, Stevenson FT, Atkinson DN, Jones H, Staprans I, Kaysen GA. Hypoalbuminemia and proteinuria contribute separately to reduced lipoprotein catabolism in the nephrotic syndrome. *Kidney Int.* 2001;59:179–89.
75. Attman PO, Alaupovic P. Pathogenesis of hyperlipidemia in the nephrotic syndrome. *Am J Nephrol.* 1990;10Suppl1:69-75.
76. Delvin EE, Merouani A, Levy E. Dyslipidemia in pediatric nephrotic syndrome: causes revisited. *Clin Biochem.* 2003;36:95-101.
77. Schwarz A. New aspects of the treatment of nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 2001;12:44–47.
78. Ueda N, Chihara M, Kawaguchi S, Niinomi Y, Nonoda T, Matsumoto J, Ohnishi M, Yasaki T. Intermittent versus long-term tapering prednisolone for initial therapy in children with idiopathic nephrotic syndrome. *J Pediatr.* 1988; 112(1): 122 - 26.
79. Çocuk Nefroloji Derneği: Çocuklarda Nefrotik Sendromun Tanı ve Tedavisi. 2006.
80. Ekka BK, Bagga A, Srivastava RN. Single-versus divided-dose prednisolone therapy for relapses of nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 1997; 11(5): 597 - 99.
81. Filler G. Treatment of nephrotic syndrome in children and controlled trials. *Nephrol Dial Transplant.* 2003;18(6):75–78.
82. A report of the International Study of Kidney Disease 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(4):561–64.

83. Yorgin PD, Krasher J, Al-Uzri AY. Pulse methylprednisolone treatment of idiopathic steroid-resistant nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 2001; 16(3): 245 - 50.
84. Guesry P, Lenior G, Broyer M. Gonadal effect of chlorambucil given to prepubertal and pubertal boys for nephrotic syndrome. *J Pediatr.* 1978;92(2):299-303.
85. 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(4): 653 - 56.
86. Loeffler K, Gowrishankar M, Yui V. Tacrolimus therapy in pediatric patients with treatment-resistant nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 2004; 19: 281 – 87.
87. Briggs WA, Choi MJ, Scheel PJ. Successful mycophenolate mofetil treatment of glomerular disease. *Am J Kidney Dis.* 1998;31:213-17.
88. Fu LS, Shien CY, Chi CS. Levamisole in steroid-sensitive nephrotic syndrome children with frequent relapses and/or steroid dependency: comparison of daily and every-other-day usage. *Nephron Clin Pract.* 2004;97:137–41.
89. Davin JC, Merkus MP. Levamisole in steroid-sensitive nephrotic syndrome of childhood: the lost paradise? *Pediatr Nephrol.* 2005;20:10-14.
90. Donia AF, Ammar HM, El-Agroudy AE, Moustafa FEH, Sobh MA. Long-term results of two unconventional agents in steroid-dependent nephrotic children. *Pediatr Nephrol.* 2005;20:1420-25.
91. Sümegi V, Haszon I, Ivanyi B, Bereczki C, Papp F, Turi S. Long-term effects of levamisole treatment in childhood nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 2004;19:1354-60.
92. Cartwright ME, Jaenke RS. Effects of dietary protein and captopril on glomerular permselectivity in rats with unilateral nephrectomy. *Lab Invest.* 1988; 59(4): 492 - 99.

93. 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(2):541–49.
94. 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(6): 1267 - 73.
95. Gansevoort RT, de Zeeuw D, de Jong PE. Dissociation between the course of the hemodynamic and antiproteinuric effects of angiotensin I converting enzyme inhibition. *Kidney Int.* 1993;44(3):579–84.
96. Baskın E, Beşbaş N. *Katkı Pediatri Dergisi.* 1999;20:346-75.
97. Bohrer MP, Baylis C, Robertson CR, Brenner BM, Troy JL, Willis WT. Mechanisms of the puromycin-induced defects in the transglomerular passage of water and macromolecules. *J Clin Invest.* 1977;60(1):152–61.
98. Caulfield JP, Farquhar MG. Loss of anionic sites from the glomerular basement membrane in aminonucleoside nephrosis. *Lab Invest.* 1978; 39(5): 505 - 51.
99. Ryan GB, Karnovsky MJ. An ultrastructural study of the mechanisms of proteinuria in aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int.* 1975;8(5):219–32.
100. Franco R, Gut A, Ferrari-Spadotto A, Georgette J, Gavras I, Gavras H. Pressor mechanisms in adriamycin-induced nephropathy with hypertension in rats. *Hypertension.* 1994;23(1):1246-49.
101. Okuda S, Oh Y, Tsuruda H, Onoyama K, Fujimi S, Fujishima M. Adriamycin-induced nephropathy as a model of chronic progressive glomerular disease. *Kidney Int.* 1986;29(2):502–10.
102. Weening JJ, Rennke HG. Glomerular permeability and polyanion in adriamycin nephrosis in the rat. *Kidney Int.* 1983;24(2):152–59.

103. Kojima K, Matsui K, Nagase M. Protection of 3-integrin-mediated podocyte shape by superoxide dismutase in the puromycin aminonucleoside nephrosis rat. *Am J Kidney Dis.* 2000;35:1175-85.
104. Zamlauski-Tucker MJ, van Liew JB, Noble B. Pathophysiology of the kidney in rats with Heymann nephritis. *Kidney Int.* 1985;28(3):504–12.
105. Büyükçelik M, Anarat A. Endotelin reseptör antagonistinin (Bosentan) deneysel nefrotik sendrom modelinde apoptoz üzerine etkisi. Yan Dal Uzmanlık Tezi. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adana. 2005.
106. Pedrycz A, Wieczorski M, Czerny K. Pseudoductules in the rat liver in experimental adriamycin-induced nephrotic syndrome. *Ann Univ Mariae Curie Skłodowska [Med].* 2002;57(1):154–60.
107. Whiteside C, Prutis K, Cameron R, Thompson J. Glomerular epithelial detachment, not reduced charge density, correlates with proteinuria in adriamycin and puromycin nephrosis. *Lab Invest.* 1989;61:650-60.
108. Bertolatus JA, Hunsicker LG. Glomerular sieving of anionic and neutral bovine albumins in proteinuric rats. *Kidney Int.* 1985;28:467-76.
109. Ginevri F, Ghiggeri GM, Oleggini R, Barbano G, Bertelli R, Candiano G, Perfumo F, Gusmano R. Low-protein diet and xanthine-metabolising enzymes in adriamycin nephrosis. *Nephrol Dial Transplant.* 1990;5(11):63–65.
110. Raats CJ, van den Born J, Berden JH. Glomerular heparan sulfate alterations: mechanisms and relevance for proteinuria. *Kidney Int.* 2000; 57(2): 385 - 400.
111. Jeansson M, Björek K, Tenstad O, Haraldsson B. Adriamycin alters glomerular endothelium to induce proteinuria. *J Am Soc Nephrol.* 2009;20(1):114-22.
112. Couser WG, Steinmuller DR, Stilmant MM, Salant DJ, Lowenstein LM. Experimental glomerulonephritis in the isolated perfused rat kidney. *J Clin Invest.* 1978;62(6):1275–87.

113. Kabuki N, Okugawa T, Hayakawa H, Tomizawa S, Kasahara T, Uchiyama M. Influence of age at onset on the outcome of steroidsensitive nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 1998;12:467–70.
114. Yap HK, Han EJ, Heng CK, Gong WK. Risk factors for steroid dependency in children with idiopathic nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 2001; 16: 1049 - 52.
115. Avner ED, Harmon WE, Niaudet P. *Pediatric Nephrology* (5th edition). Lippincott Williams Wilkins. 2003.
116. Mc Kee KK, Tan CP, Palyha OC, Liu J, Feighner SD, Hreniuk DL, Smith RG, Howard AD, Van der Ploeg LH. Cloning and characterization of two human G protein-coupled receptor genes (GPR38 and GPR39) related to the growth hormone secretagogue and neurotensin receptors. *Genomics.* 1997;46:426-34.
117. Korbonits M, Bustin SA, Kojima M, Jordan S, Adams EF, Lowe DG, Kangawa K, Grossman AB. The expression of the growth hormone secretagogue receptor ligand ghrelin in normal and abnormal human pituitary and other neuroendocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:881-87.
118. Wren AM, Seal LJ, Cohen MA, Brynes AE, Frost GS, Murphy KG, Dhillo WS, Ghatei MA, Bloom SR. Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(12):5992.
119. Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T, et al. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology.* 2000;141:4255-61.
120. Ariyasu H, Takaya K, Tagami T, Ogawa Y, Hosoda K, Akamizu T. Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. *J Clin Endocr Metab.* 2001; 86: 4753 - 58.
121. Aydın S. Ghrelin Hormonunun Keşfi: Araştırmaları ve Klinik Uygulamaları. *Türk Biyokimya Dergisi.* 2007;32:76-89.

122. Masayasu Kojima, Kenji Kangawa. Ghrelin: Structure and Function. *Physiol Rev.* 2005;85:495-522.
123. Seim I, Collet C, Herington AC, Chopin LK. Revised genomic structure of the human ghrelin gene and identification of novel exons, alternative splice variants and natural antisense transcripts. *BMC Genomics.* 2007;8:1-45.
124. Trudel L, Tomasetto C, Rio MC, Bouin M, Plourde V, Eberling P ve ark. Ghrelin/motilin-related peptide is a potent prokinetic to reverse gastric postoperative ileus in rat. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2002; 282: 948 - 52.
125. Zhao CM, Furnes MV, Stenström B, Kulseng B, Chen D. Characterization of obestatin- and ghrelin-producing cells in the gastrointestinal tract and pancreas of rats: an immunohistochemical and electron-microscopic study. *Cell Tissue Res.* 2008;331:575-87.
126. Hosoda H, Kojima M, Mizushima T, Shimizu S, Kangawa K. Ghrelin and des-acyl ghrelin: two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue. *Biochem Biophys Res Comm.* 2000;79:909–13.
127. Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes.* 2001;50:1714–19.
128. Kitamura K, Kato J, Kawamoto M, Tanaka M, Chino N, Kangawa K. The intermediate form of glycine-extended adrenomedullin is the major circulating molecular form in human plasma. *Biochem Biophys Res Comm.* 1998;244:551-5.
129. Thompson NM, Gill DA, Davies R, Loveridge N, Houston PA, Robinson IC, Wells T. Ghrelin and des-octanoyl ghrelin promote adipogenesis directly in vivo by a mechanism independent of the type 1a growth hormone secretagogue receptor. *Endocrinology.* 2004;145:234-42.
130. Muccioli G, Pons N, Ghe C, Catapano F, Granata R, Ghigo E. Ghrelin and des-acyl ghrelin both inhibit isoproterenol-induced lipolysis in rat adipocytes

- via a non-type 1a growth hormone secretagogue receptor. *Eur J Pharmacol.* 2004;498:27-35.
131. Gauna C, Meyler FM, Janssen J, Delhanty P, Aribat T, Van Koetsveld P, et al. Administration of acylated ghrelin reduces insulin sensitivity, whereas the combination of acylated plus unacylated ghrelin strongly improves insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:5035-42.
132. Cassoni P, Ghe C, Marrocco T, Tarabra E, Allia E, Catapano F, et al. Expression of ghrelin and biological activity of specific receptors for ghrelin and des-acyl ghrelin in human prostate neoplasms and related cell lines. *Eur J Endocrinol.* 2004;150:173-84.
133. Baldanzi G, Filigheddu N, Cutrupi S, Catapano F, Bonisconi S, Fubini A, et al. Ghrelin and des-acyl ghrelin inhibit cell death in cardiomyocytes and endothelial cells through ERK1/2 and PI 3-kinase/AKT. *J Cell Biol.* 2002;159:1029-37.
134. Bedendi I, Alloatti G, Marcantoni A, Malan D, Catapano F, Ghe C, et al. Cardiac effects of ghrelin and its endogenous derivatives des-octanoyl ghrelin and des-Gln14-ghrelin. *Eur J Pharmacol.* 2003;22(476):87-95.
135. Druce M, Bloom SR. Central regulators of food intake. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2003;6:361-67.
136. Morton GJ, Schwartz MW. The NPY/AgRP neuron and energy homeostasis. *Int J Obesity Relat Metab Disord.* 2001;25:56-62.
137. Yiş U, Öztürk Y, Büyükgebiz B. Ghrelin: enerji metabolizmasının düzenlenmesinde yeni bir hormon. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi.* 2005;48:196-201.
138. Inui A, Asakawa A, Bowers CY, Mantovani G, Laviano A, Meguid M and Fujimiyama MM. Ghrelin, appetite, and gastric motility: the emerging role of the stomach as an endocrine organ. *Faseb J.* 2004;18:439-56.
139. Saltık-Temizel İN. İştahsız çocuk. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi.* 2008; 51: 176 - 81.

140. Reiter EO, Rosenfeld RG. Normal and Aberrant Growth. In Larsen PR, Kronenberg HM, Melmed S, Kenneth SP (eds). *Williams Textbook of Endocrinology*, (10th ed), Philadelphia: W.B. Saunders. 2003;1011.
141. Committee on Nutrition. American Academy of Pediatrics: Iron supplementation for infant. *Pediatrics*. 1976;58(5):765-68.
142. Weikel JC, Wichniak A, Ising M, Brunner H, Friess E, Held K, et al. Ghrelin promotes slow-wave sleep in man. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2002;284:407-15.
143. Cassoni P, Papotti M, Ghe C, Catapano F, Sapino A, Graziani A, et al. Identification, characterization, and biological activity of specific receptors for natural (ghrelin) and synthetic growth hormone secretagogues and analogs in human breast carcinomas and cell lines. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; 86: 1738 - 45.
144. Korbonits M, Bustin SA, Kojima M, Jordan S, Adams EF, Lowe DG, et al. The expression of the growth hormone secretagogue receptor ligand ghrelinin normal and abnormal human pituitary and other neuroendocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:881-87.
145. Volante M, Allia E, Gugliotta P, Funaro A, Broglio F, Deghenghi R. Expression of ghrelin and of the GH secretagogue receptor by pancreatic islet cells and related endocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:1300-308.
146. Pagotto U, Gambineri A, Vicennati V, Heiman ML, Tschop M, Pasquali R. Plasma ghrelin, obesity, and the polycystic ovary syndrome: correlation with insulin resistance and androgen levels. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87: 5625 - 29.
147. Nagaya N, Uematsu M, Kojima M, Date Y, Nakazato M, Okumura H, et al. Elevated circulating level of ghrelin in cachexia associated with chronic heart failure: relationships between ghrelin and anabolic/catabolic factors. *Circulation*. 2001;104:2034-38.

148. Pettersson I, Muccioli G, Granata R, Deghenghi R, Ghigo E, Ohlsson C, Isgard J. Natural (ghrelin) and synthetic (hexarelin) GH secretagogues stimulate H9c2 cardiomyocyte cell proliferation. *J Endocrinol.* 2002;175:201-9.
149. Muller AF, Janssen JA, Hofland LJ, Lamberts SW, Bidlingmaier M, Strasburger CJ, Der Lely A. Blockade of the growth hormone (GH) receptor unmasks rapid GH-releasing peptide-6-mediated tissue-specific insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:590-93.
150. Broglio F, Arvat E, Benso A, Gottero C, Muccioli G, Papotti M, et al. Ghrelin, a natural GH secretagogue produced by the stomach, induces hyperglycemia and reduces insulin secretion in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:5083–86.
151. Asakawa A, Inui A, Kaga T, Katsuura G, Fujimiya M, Fujino MA, Kasuga M. Antagonism of ghrelin receptor reduces food intake and body weight gain in mice. *Gut.* 2003;52:947-52.
152. Tschöp M, Smiley D, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature.* 2000;407:908-13.
153. Barazzoni R, Bosutti A, Stebel M, Cattin MR, Roder E, Visintin L. Ghrelin regulates mitochondrial lipid metabolism gene expression and tissue fat distribution favoring triglyceride deposition in liver but not skeletal muscle, *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2004;288:228-35.
154. Dornonville De La Cour C, Lindstrom E, Norlen P, Hakanson R. Ghrelin stimulates gastric emptying but is without effect on acid secretion and gastric endocrine cells. *Regul Pept.* 2004;120:23-32.
155. Takaya K, Ariyasu H, Kanamoto N, Iwakura H, Yoshimoto A, Harada M, et al. Ghrelin strongly stimulates growth hormone release in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:4908-11.
156. Hataya Y, Akamizu T, Takaya K, Kanamoto N, Ariyasu H, Saijo M. A low dose of ghrelin stimulates growth hormone (GH) release synergistically with GH-releasing hormone in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:552-55.

157. Dixit VD, Schaffer H, Pyle R, Collins RT, Sakthivel SK, Palaniappan R. Ghrelin inhibits leptin and activation-induced proinflammatory cytokine expression by human monocytes and T cells. *J Clin Invest.* 2004;114:57-66.
158. Gonzalez-Rey E, Chorny A, Delgado M. Therapeutic action of ghrelin in a mouse model of colitis. *Gastroenterology.* 2006;130:1707-20.
159. Ma W, Lim W, Gee K, Aucoin S, Nandan D, Kozlowski M. The p38 mitogen-activated kinase pathway regulates the human interleukin-10 promoter via the activation of Sp1 transcription factor in lipopolysaccharide-stimulated human macrophages. *J Biol Chem.* 2001;276:13664-74.
160. Sun Y, Ahmed S, Smith, RG. Deletion of ghrelin impairs neither growth nor appetite. *Mol Cell Biol.* 2003;23:7973-81.
161. Kotamraju S, Tampo Y, Keszler A, Chitambar CH, Joseph J, Haas AL. Nitric oxide inhibits H₂O₂-induced transferrin receptor-dependent apoptosis in endothelial cells: role of ubiquitin-proteasome pathway. *Proc Natl Acad Sci.* 2003;100:10653-58.
162. Sibilgia V, Rindi G, Pagani F, Rapetti D, Locatelli V, Torsello A, et al. Ghrelin protects against ethanol-induced gastric ulcers in rats: studies on the mechanisms of action. *Endocrinology.* 2003;144:353-59.
163. Xiaojing Liu, Feng Ming, Luo MD. Ghrelin attenuates lps-induced acute lung injury via a mechanism that involves the no pathway chest. 2006;130:4(Supplement):209.
164. Makarov SS, Johnston WN, Olsen JC, Watson JM, Mondal K, Rinehart C, Haskill JS: NF- κ B as a target for anti-inflammatory gene therapy: suppression of inflammatory responses in monocytic and stromal cells by stable gene transfer of IB cDNA. *Gene Therapy.* 1997;4:846-52.
165. Chang L, Zhao J, Yang J, Zhang Z, Du J, Tang C. Therapeutic effects of ghrelin on endotoxic shock in rats. *Eur J Pharmacol.* 2003;473:171-76.

166. Li WG, Gavrilu D, Liu X, Wang L, Gunnlaugsson S, Lynn L, et al. Ghrelin inhibits proinflammatory responses and nuclear factor-kappa B activation in human endothelial cells. *Circulation*. 2004;109:2221-26.
167. Wu R, Dong W, Zhou M. Ghrelin attenuates sepsis-induced acute lung injury and mortality in rats. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2007;176:805-13.
168. Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K. Purification and characterization of rat des-Gln14- ghrelin, a second endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. *J Biol Chem*. 2000;29:995–2000.
169. Hosoda H, Kojima M, Mizushima T, Shimizu S, Kangawa K. Structural divergence of human ghrelin. Identification of multiple ghrelin-derived molecules produced by posttranslational processing. *J Biol Chem*. 2003;278:64–70.
170. Jeffery PL, Duncan RP, Yeh AH, Jaskolski RA, Hammond DS, Herington AC. Expression of the ghrelin axis in the mouse: an exon 4-deleted mouse proghrelin variant encodes a novel C terminal peptide. *Endocrinology*. 2005;146:432–40.
171. Casanueva FF, Dieguez C. Ghrelin; The link connecting growth with metabolism and energy homeostasis. *Reviews in Endocrine Disorders*. 2002;3:325-38.
172. Yavuz A. Polikistik over sendromlu kadınlarda ghrelin ve obestatinin serum ve tükürük düzeylerinin araştırılması, Uzmanlık Tezi. 2008.
173. Hosoda H, Doi K, Nagaya N, Okumura H, Nakagawa E, Enomoto M. Optimum collection and storage conditions for ghrelin measurements: octanoyl modification of ghrelin is rapidly hydrolyzed to desacyl ghrelin in blood samples. *Clin Chem*. 2004;50:1077–80.
174. Akamizu T, Shinomiya T, Irako T, Fukunaga M, Nakai Y, Nakai Y. Separate measurement of plasma levels of acylated and desacyl ghrelin in healthy subjects using a new direct ELISA assay. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90:6–9.

175. Yeğın O. Temel İmmünoloji ve İmmün Eksiklik Hastalıkları, 1.Basım, Ankara, Palme Yayın Dağıtım. 1990;pp:7-24,134-141.
176. Mossman TR, Sad S. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunol Today*. 1996;17:138-46.
177. Bluher M, Krohn K, Wallashofski H, Braverman LE, Paschke R. Cytokine gene expression in autoimmune thyroiditis in Biobreeding/Worcester rats. *Thyroid*. 1999;9:1049-55.
178. Abbas AK, Lichtman AH. *Basic Immunology: Functions and Disorders of the Immune System*. Saunders, Philadelphia. 2004.
179. Tait K, Marshall T, Berman J, Carr-Smith J, Rowe B, Todd JA, Bain SC, Barnett AH, Gough SC. Clustering of autoimmune disease in parents of siblings from type 1 diabetes Warren Repository. *Diabetic Medicine*. 2004;21:358-62.
180. Fillit HM, Zabriskie JB. Cellular immunity in glomerulonephritis. *Am j Pathol*. 1982;109:227-43.
181. Darmady EM, Maciver AG. Chapter 10 in *Renal Pathology*, First edition, London-Boston. Sydney-Wellington-Durban-Toronto, Butterworth and Co Ltd. 1980; 224 - 63.
182. Holdsworth SR, Tipping DG, Hooke DH, Atkins RC. Role of the macrophage in immunologically induced glomerulonephritis. *Contr Nephrol*. 1985;45:105-14.
183. Catell V. Methods of identification of macrophages in tissues. *Contr Nephrol*. 1985;45:123-30.
184. Harrison DJ, Macdonald MK: The origin of cells in glomerular crescent investigated by the use of monoclonal antibodies. *Histopathology*. 1986;10:945-52.
185. Border WA. Distinguishing minimal change disease from mesangial disorders. *Kidney Int*. 1988;34:419-34.

186. Nakabayashi K, Arimura Y, Yoshida M, Nagasawa T. Anti-T cell antibodies in primary glomerulonephritis. *Clinical Nephrology*. 1985;23(2):74-80.
187. Bach MA, Bach JF. The use of monoclonal anti-T cell antibodies to study T cell imbalances in human disease. *Clin Exp Immunol*. 1985;45:449-56.
188. Raeman F, De Cock W, De Beukelaar T, De Cree J, Verhaegen H. Enumeration of T lymphocyte subsets in autoimmune disease using monoclonal antibodies. *Clin Exp Immunol*. 1981;45(3):475-479.
189. Monga G, Mazzucco G, Castello R. Monocytes in human glomerulonephritides: Immunohistochemical and ultrastructural correlations. *Cont Nephrol*. 1985;45:141-51.
190. Kondo Y, Shigemitsu H. Cellular aspects of rabbit Masugi nephritis: I. Cell kinetics in recoverable glomerulonephritis. *Virchows Arch (Cell Pathol)*. 1972;10: 40 - 50.
191. Kondo Y, Shigemitsu H, Kobayashi Y. Cellular aspects of rabbit Masugi nephritis: II. Progressive glomerular basement injuries with crescent formation *Lab Invest*. 1972;27:620-31.
192. Schreiner GF, Cotran RS, Pardo V. A mononuclear cell component in experimental immunological glomerulonephritis. *J Exp Med*. 1985;147:369-384.
193. Daniele Saverino, Rita Simone, Marcello Bagnasco and Giampaola Pesce. The soluble CTLA-4 receptor and its role in autoimmune disease an update. *Autoimmunity Highlights Volume 1, number 2:73-81*.
194. Sundstedt A, O'Neill EJ, Nicolson KS, Wraith DC. Role for IL-10 in suppression mediated by peptide-induced regulatory T cells in vivo. *J Immunol*. 2003;170:1240.
195. Barrat FJ, Cua DJ, Boonstra A, Richards DF, Crain C, Savelkoul HF, de Waal-Malefyt R, Coffman RL, Hawrylowicz CM, O'Garra A. In vitro generation of interleukin-10 producing regulatory CD4(+) T cells is induced by immunosuppressive drugs and inhibited by T helper type 1 (Th1) and Th2-inducing cytokines. *J Exp Med*. 2002;195:603.

196. Oida T, Zhang X, Goto M, Hachimura S, Totsuka M, Kaminogawa S, Weiner HL. CD4+CD25- T cells that express latency-associated peptide on the surface suppress CD4+CD45RB high induced colitis by a TGF-beta-dependent mechanism. *J Immunol.* 2003;170:2516.
197. Groux H, O'Garra A, Bigler M, Rouleau M, Antonenko S, De Vries JE, Roncarolo MG. A CD4+ T-cell subset inhibits antigen-specific T-cell responses and prevents colitis. *Nature.* 1997;389:737.
198. Roncarolo MG, Bacchetta R, Bordignon C, Narula S, Levings MK. Type 1 T regulatory cells. *Immunol Rev.* 2001;182:68.
199. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Shimizu J, Yamazaki S, Sakihama T, Itoh M, Kuniyasu Y, Nomura T, Toda M, Takahashi T. Immunologic tolerance maintained by CD25+CD4+ regulatory T cells: their common role in controlling autoimmunity, tumor immunity, and transplantation tolerance. *Immunol Rev.* 2001;182:18.
200. Shevach EM. CD4+CD25+ suppressor T cells: more questions than answers. *Nat Rev Immunol.* 2002;2:389.
201. Maloy KJ, Salaun L, Cahill R, Dougan G, Saunders NJ, Powrie F. CD4+CD25+ T(R) cells suppress innate immune pathology through cytokine - dependent mechanisms. *J Exp Med.* 2003;197:111.
202. Shimizu J, Yamazaki S, Takahashi T, Ishida Y, Sakaguchi S. Stimulation of CD25(+)CD4(+) regulatory T cells through GITR breaks immunological self-tolerance. *Nat Immunol.* 2002;3:135.
203. McHugh RS, Whitters MJ, Piccirillo CA, Young DA, Shevach EM, Collins M, Byrne MC. CD4(+)CD25(+) immunoregulatory T cells: gene expression analysis reveals a functional role for the glucocorticoid-induced TNF receptor. *Immunity.* 2002;16:311.
204. Suri-Payer E, Cantor H. Differential cytokine requirements for regulation of autoimmune gastritis and colitis by CD4(+)CD25(+) T cells. *J Autoimmun.* 2001;16:115.

205. Khattri R, Cox T, Yasayko SA, Ramsdell F. An essential role for Scurfin in CD4+CD25+ T regulatory cells. *Nat Immunol.* 2003;4:337.
206. Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY. Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Nat Immunol.* 2003;4:330.
207. Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science.* 2003;299:1057.
208. Ramsdell F. Foxp3 and natural regulatory T cells: key to a cell lineage? *Immunity.* 2003;19:165.
209. O'Garra A, Vieira P. Twenty-first century Foxp3. *Nat Immunol.* 2003;4:304.
210. Baud O, Goulet O, Canioni D, Le Deist F, Radford I, Rieu D, Dupuis-Girod S, Cerf-Bensussan N, Cavazzana-Calvo M, Brousse N, Fischer A, Casanova JL. Treatment of the immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) by allogeneic bone marrow transplantation. *N Engl J Med.* 2001;344:1758.
211. Salomon B, Lenschow DJ, Rhee L, Ashourian N, Singh B, Sharpe A, Bluestone JA. B7/CD28 costimulation is essential for the homeostasis of the CD4+CD25+ immunoregulatory T cells that control autoimmune diabetes. *Immunity.* 2000;12:431.
212. Hara M, Kingsley CI, Niimi M, Read S, Turvey SE, Bushell AR, Morris PJ, Powrie F, Wood KJ. IL-10 is required for regulatory T cells to mediate tolerance to alloantigens in vivo. *J Immunol.* 2001;166:3789.
213. Kingsley CI, Karim M, Bushell AR, Wood KJ. CD25+CD4+ regulatory T cells prevent graft rejection: CTLA-4- and IL-10-dependent immunoregulation of alloresponses. *J Immunol.* 2002;168:1080.
214. Green EA, Choi Y, Flavell RA. Pancreatic lymph node-derived CD4+ CD25+ T reg cells: highly potent regulators of diabetes that require TRANCE-RANK signals. *Immunity.* 2002;16:183.

215. Vieira PL, Christensen JR, Minaee S, O'Neill EJ, Barrat FJ, Boonstra A, Barthlott T, Stockinger B, Wraith DC, O'Garra A. IL-10-secreting regulatory T cells do not express Foxp3 but have comparable regulatory function to naturally occurring CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells. *J Immunol.* 2004;172:5986.
216. Peach RJ, Bajorath J, Naemura J, Leytze G, Greene J, Aruffo A, Linsley PS. Both extracellular immunoglobulin-like domains of CD80 contain residues critical for binding T cell surface receptors CTLA-4 and CD28. *J Biol Chem (UNITED STATES).* 1995;270(36):21181-7.
217. Stamper CC, Zhang Y, Tobin JF, Erbe DV, Ikemizu S, Davis SJ, Stahl ML, Sehra J, Somers WS, Mosyak L. Crystal structure of the B7-1/CTLA-4 complex that inhibits human immune responses. *Nature (England).* 2001; 410 (6828): 608 - 11.
218. Magistrelli G, Jeannin P, Herbault N, Benoit De Coignac A, Gauchat JF, Bonnefoy JY, Delneste Y. A soluble form of CTLA-4 generated by alternative splicing is expressed by nonstimulated human T cells. *Eur J Immunol.* 1999;29:3596.
219. Harper K, Balzano C, Rouvier E, Mattei MG, Luciani MF, Golstein P. CTLA-4 and CD28 activated lymphocyte molecules are closely related in both mouse and human as to sequence, message expression, gene structure, and chromosomal location. *J Immunol.* 1991;147:1037.
220. Ling V, Wu PW, Finnerty HF, Sharpe AH, Gray GS, Collins M. Complete sequence determination of the mouse and human CTLA4 gene loci: cross-species DNA sequence similarity beyond exon borders. *Genomics.* 1999;60:341.
221. Dariavach P, Mattei MG, Golstein P, Lefranc MP. Human Ig superfamily CTLA-4 gene: chromosomal localization and identity of protein sequence between murine and human CTLA-4 cytoplasmic domains. *Eur J Immunol.* 1988; 18: 1901.
222. Buonavista N, Balzano C, Pontarotti P, Le Paslier D, Golstein P. Molecular linkage of the human CTLA4 and CD28 Ig-superfamily genes in yeast artificial chromosomes. *Genomics.* 1992;13(3):856-61.

223. Oaks MK, Hallett KM, Penwell RT, Stauber EC, Warren SJ, Tector AJ. A native soluble form of CTLA-4. *Cell Immunol.* 2000;201:144.
224. Ostrov DA, Shi W, Schwartz JC, Almo SC, Nathenson SG. Structure of murine CTLA-4 and its role in modulating T cell responsiveness. *Science.* 2000; 290: 816.
225. Stamper CC, Zhang Y, Tobin JF, Erbe DV, Ikemizu S, Davis SJ, Stahl ML, Sehra J, Somers WS, Mosyak L. Crystal structure of the B7-1/CTLA-4 complex that inhibits human immune responses. *Nature.* 2001;410:608.
226. Schwartz JC, Zhang X, Fedorov AA, Nathenson SG, Almo SC. Structural basis for co-stimulation by the human CTLA-4/B7-2 complex. *Nature.* 2001; 410: 604.
227. Kamradt T, Mitchison NA. Tolerance and autoimmunity. *N Eng J Med.* 2001; 334: 655 - 64.
228. Mueller DI, Jenkins MK, Schwartz RH. Clonal expansion versus functional clonal inactivation: a costimulatory signalling pathway determines the outcome of T cell antigen receptor occupancy. *Annu Rev Immunol.* 1989;7:445-80.
229. Simmonds MJ. Unravelling the genetic complexity of autoimmune thyroid disease. *Clin Exp Immunol.* 2004;136:1-10.
230. Gough SC, Walker LS, Sansom DM. CTLA-4 gene polymorphism and autoimmunity. *Immunol Rev.* 2005;204:102-15.
231. Sansom DM. CD28, CTLA-4 and their ligands: who does what and to whom? *Immunol.* 2000;101:169-77.
232. Ikemizu S, Gilbert RJ, Fennelly JA, Collins AV, Harlos K, Jones EY, Stuart DI, Davis SJ. Structure and dimerization of a soluble form of B7-1. *Immunity.* 2000;12:51-60.

233. Chambers CA, Sullivan TJ, Allison JP. Lymphoproliferation in CTLA-4 deficient mice is mediated by costimulation-dependent activation of CD4+ T cells. *Immunity*. 1997;7:885-95.
234. Fraser JH, Rincon M, McCoy KD, Le Gros G. CTLA-4 ligation attenuates AP-1, NF-AT and NF-kappaB activity in activated T cells. *Eur J Immunol*. 1999;29:838-44.
235. Schneider H, Downey J, Smith A, Zinselmeyer BH, Rush C, Brewer JM, Wei B, Hogg N, Garside P, Rudd CE. Reversal of the T cell receptor signal by CTLA-4. *Science*. 2006;313:1972-5.
236. Ueda H, Howson JM, Esposito L. Association of the T cell regulatory gene CTLA-4 with susceptibility to autoimmune disease. *Nature*. 2003;423:506-11.
237. Chiastikov DA, Turakulov RI. CTLA-4 and its role in autoimmune thyroid disease. *J Mol Endocrinol*. 2003;31:21-36.
238. Yanagawa T, Hidaka Y, Guimares V, Soliman M, De Groot LJ. CTLA-4 gene polymorphism associated with Graves disease in Caucasian population. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995;80:41-5.
239. Ishimoto T, Shimada M, Araya CE, Huskey J, Garin EH, Johnson RJ. Minimal change disease: a CD80 podocytopathy? Source Division of Renal Diseases and Hypertension. *Semin Nephrol*. 2011;31(4):320-5.
240. Mukherjee S, Maiti PK, Nandi D. Role of CD80, CD86, and CTLA4 on mouse CD4(+) T lymphocytes in enhancing cell-cycle progression and survival after activation with PMA and ionomycin. *J Leukoc Biol*. 2002;72(5):921-31.
241. Schweda F, Liebl R, Riegger GA, Kramer BK. Tacrolimus treatment for steroid and cyclosporin-resistant minimal-change nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant*. 1997; 12: 2433 - 35.
242. Barletta GM, Smoyer WE, Bunchman TE, Flynn JT, Kershaw DB. Use of mycophenolate mofetil in steroid-dependent and -resistant nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*. 2003;18(8):833-37.

243. Miyake S, Yamamura T. Ghrelin: friend or foe for neuroinflammation. *Discov Med.* 2009;8:64-7.
244. Mori K, Yoshimoto A, Takaya K, Hosoda K, Ariyasu H, Yahata K, Mukoyama M, Sugawara A, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Nakao K. Kidney produces a novel acylated peptide, ghrelin. *FEBS Lett.* 2000;486:213-6.
245. Yoshimoto A, Mori K, Sugawara A, Mukoyama M, Yahata K, Suganami T, Takaya K, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Nakao K. Plasma ghrelin and desacyl ghrelin concentrations in renal failure. *J Am Soc Nephrol.* 2002; 13: 2748 - 52.
246. Bilgin HM. Ghrelin; Gündemdeki Hormon. *Dicle Tıp Dergisi.* 2006;33:268-72.
247. Günöz H, Öcal G, Yordam N, Kurtoğlu S, *Pediatric Endocrinoloji, Pediatric Endocrinoloji ve Oksoloji Derneği Yayınları.* 2003;68:488-89.
248. Varela L, Vazquez MJ, Cordido F, Nogueiras R, Vidal - Puiq A, Dieguez C, Lopez M. Ghrelin and Lipid Metabolism: Key Partners in Energy Metabolism. *J Mol Endocrinol.* 2011;15:43-63.
249. Tivol EA, F. Borriello AN, Schweitzer WP, Lynch JA, Bluestone and AH Sharpe. Loss of CTLA-4 leads to massive lymphoproliferation and fatal multiorgan tissue destruction, revealing a critical negative regulatory role of CTLA-4. *Immunity.* 1995; 3: 541.
250. Waterhouse P, Penninger JM, Timms E, Wakeham A, Shahinian A, Lee KA, Thompson CB, Griesser H, Mak. TW. Lymphoproliferative disorders with early lethality in mice deficient in *Ctla-4*. *Science.* 1995; 270: 985.
251. Herold KC, Vezys V, Koons A, Lenschow D, Thompson C, Bluestone JA. CD28/B7 costimulation regulates autoimmune diabetes induced with multiple low doses of streptozotocin. *J Immunol.* 1997;158:984.
252. Wong CK, Lit LC, Tam LS, Li EK, Lam CW. Aberrant production of soluble costimulatory molecules CTLA-4, CD28, CD80 and CD86 in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford).* 2005;44:989.

