



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

**ADRIAMİSİN İLE NEFROTİK SENDROM
OLUŞTURULAN RATLARDA SİKLOSPORİN A VE
MİKOFENOLAT MOFETİL KOMBİNASYON TEDAVİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ayşe SÜLÜ

Antalya, 2011



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

ADRIAMİSİN İLE NEFROTİK SENDROM OLUŞTURULAN RATLARDA SİKLOSPORİN A VE MİKOFENOLAT MOFETİL KOMBİNASYON TEDAVİSİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ayşe SÜLÜ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Sema AKMAN

“Kaynakça gösterilerek tezinden yararlanılabilir ”

Antalya, 2011

**Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Yönetim Birimi
tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2009.04.0103.007)**

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım tüm değerli hocalarıma,

Tezimin tüm aşamalarında ve asistanlık eğitimim süresinde her türlü desteğini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Sema AKMAN'a,

Tezimin yapımında yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalından Doç. Dr. Halide AKBAŞ ve ekibine, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalından Prof. Dr. Bahar KILIÇARSLAN AKKAYA ve ekibine,

Deney süresince yardımlarını esirgemeyen deney hayvanları ünitesi çalışanlarına,

Asistanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım kliniğimizden uzmanlığını almış ve halen çalışmakta olan tüm uzman doktor arkadaşlarıma,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma ve hemşire arkadaşlarıma,

Her zaman desteğini ve sevgisini esirgemeyen aileme teşekkür eder saygılarımı sunarım.

Ayrıca bu aşamaya gelmemde desteği bulunan tüm eğitim hayatım boyunca her türlü desteklerini gördüğüm başta lise dönemi hocalarım olmak üzere tüm hocalarıma teşekkürü borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Kısaltmalar Dizini	iii
Şekiller Dizini	v
Çizelgeler Dizini	vi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Nefrotik Sendrom	4
2.2. Klinik	11
2.3. Laboratuvar	13
2.4. Komplikasyonlar	15
2.5. Tedavi	17
2.6. Prognoz	25
3. AMAÇ	27
4. GEREÇ VE YÖNTEM	28
5. BULGULAR	31
5.1. Ratların Ağırlık Takipleri	31
5.2. Böbrek Ağırlıkları	31
5.3. Sistolik Kan Basıncı Değerleri	33
5.4. Diastolik Kan Basıncı Değerleri	35
5.5. 24 Saatlik İdrar Hacimleri	35
5.6. Serum Albümin Düzeyleri	38
5.7. Serum Total Protein Düzeyleri	38
5.8. Serum Kolesterol Düzeyleri	41
5.9. Serum Trigliserit Düzeyleri	41
5.10. Serum Kreatinin Düzeyleri	44
5.11. İdrar Protein Düzeyleri	44
5.12. İdrar Protein/Kreatinin Düzeyleri	47
5.13. Kreatinin Klirensi	47

5.14. Total Oksidan Status	50
5.15. Total Antioksidan Status	50
5.16. Oksidatif Stres İndeksi	53
5.17. Histolojik Analiz Sonuçları	53
6. TARTIŞMA	58
7. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	64
8. ÖZET	65
9. ABSTRACT	68
10. KAYNAKLAR	71

KISALTMALAR DİZİNİ

ABY	Akut böbrek yetmezliği
ACE	Anjiotensin konverting enzim
ADH	Antidiüretik hormon
CNS	Konjenital nefrotik sendrom
CsA	Siklosporin A
DMP	Diffüz mezengial proliferasyon
ECM	Ekstrasellüler matriks
FSGS	Fokal segmental glomeruloskleroz
GFR	Glomerular filtrasyon hızı
GMB	Glomerul bazal membran
İNS	İdiopatik nefrotik sendrom
İSKDC	International Study of Kidney Disease in Children
İMPDH	İnozin monofosfat dehidrogenaz
KBY	Kronik böbrek yetmezliği
MLNS	Minimal lezyon nefrotik sendrom
MMF	Mikofenolat mofetil
MPGN	Membranoproliferatif glomerulonefrit
NS	Nefrotik sendrom
SBNS	Steroid bağımlı nefrotik sendrom
SDNS	Steroid dirençli nefrotik sendrom

SDBY	Son dönem böbrek yetmezliği
SYNS	Steroid yanıtı nefrotik sendrom
TAS	Total antioksidan status
TGF- beta	Transforming growht faktör beta
TOS	Total oksidan status



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sekil

Sayfa

2.1. Nefrotik sendrom ile ilişkili podosit proteinleri

7



ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Nefrotik sendrom nedenleri	5
2.2. Steroid dirençli nefrotik sendromun herediter formları	8
5.1. Grupların ağırlık verileri ile grup içi ve gruplar arası, haftalara göre karşılaştırılması	32
5.2. Grupların böbrek ağırlıkları ve gruplar arası karşılaştırılması	33
5.3. Grupların sistolik kan basıncı ölçümleri ile grup içi ve gruplar arası, haftalara göre karşılaştırılması	34
5.4. Grupların diastolik kan basıncı ölçümleri ile grup içi ve gruplar arası, haftalara göre karşılaştırılması	36
5.5. Grupların 24 saatlik idrar hacimleri ile grup içi ve gruplar arası haftalara göre karşılaştırılması	37
5.6. Grupların serum albümin düzeyleri ile grup içi ve gruplar arası haftalara göre karşılaştırılması	39
5.7. Grupların serum total protein düzeyleri ile grup içi ve gruplar arası haftalara göre karşılaştırılması	40
5.8. Grupların serum kolesterol düzeyleri ile grup içi ve gruplar arası haftalara göre karşılaştırılması	42
5.9. Grupların serum trigliserit düzeyleri ile grup içi ve gruplar arası haftalara göre karşılaştırılması	43
5.10. Grupların serum kreatinin düzeyleri ile grup içi ve gruplar arası haftalara göre karşılaştırılması	45
5.11. Grupların 24 saatlik idrar protein düzeyleri ile grup içi ve gruplar arası haftalara göre karşılaştırılması	46

5.12.	Grupların idrar protein/kreatinin oranları ile grup içi ve gruplar arası haftalara göre karşılaştırılması	48
5.13.	Grupların kreatinin klirensi değerleri ile grup içi ve gruplar arası haftalara göre karşılaştırılması	49
5.14.	Grupların serum total oksidan status (TOS) düzeyleri ile grup içi ve gruplar arası haftalara göre karşılaştırılması	51
5.15.	Grupların serum total antioksidan status (TAS) düzeyleri ile grup içi ve gruplar arası haftalara göre karşılaştırılması	52
5.16.	Grupların oksidatif stres indexi (OSİ) grup içi ve gruplar arası haftalara göre karşılaştırılması	54
5.17.	Ratların glomerüler skleroz indeksi (GSI), total hasarlanma skoru (THS), interstisyel fibrozis skoru (İFS), TGF-β ve Osteopontin (OPN) ile boyanabilme değerleri	55
5.18.	Grupların histopatolojik inceleme verileri	56
5.19.	Grupların histopatolojik inceleme verilerinin karşılaştırıldığı p değerleri	57

1. GİRİŞ

Nefrotik sendrom (NS) yoğun proteinüri, hipoalbuminemi ve ödem ile karakterize bir hastalık tablosudur. Hiperlipidemi, artmış lipidüri ve hiperkolesterolemi sıklıkla eşlik eder. Çocuklarda görülme sıklığı 2-15/100.000 olarak değişmektedir (1). Nefrotik sendromda görülen proteinüri histolojik tipten bağımsız olarak albumine selektiftir. İdiopatik nefrotik sendrom histopatolojik tip böbrek biopsi bulgularına göre; minimal lezyon hastalığı, mezengioproliferatif glomerulonefrit, fokal segmental glomeruloskleroz olarak sınıflandırılmaktadır (2). Ancak son yıllarda steroidde alınan yanıtla göre sınıflandırma daha yaygın olarak kabul görmektedir. Steroide duyarlı, dirençli ve bağımlı olmak üzere 3 gruba ayrılarak incelenmektedir. Tedaviye alınan yanıt hastalığın prognozunu üzerine etkili en önemli faktördür. 4 haftalık steroid tedavisine rağmen yanıt alınamaması durumuna steroid dirençli nefrotik sendrom adı verilir (1-3).

Siklosporin A hücre içinde cyclophilin ile kompleks oluşturup, kalsinörin isimli enzimin aktivasyonunu engeller. Aktive T lenfositlerden interlekin 2 ve diğer lenfokinlerin (IL4, IFN γ , TNF α) salınımını inhibe eder (4). İmmünsüpresif özelliğine ek olarak siklosporin A'nın antiproteinürik etkinliği de vardır ve steroid dirençli nefrotik sendrom (SDNS) tedavisinde kullanılmaktadır. Siklosporin A antiproteinürik etkinliğini; lenfokin sekresyonunun inhibisyonuyla olan immünolojik etkisi, renal vazokonstriksiyon ve buna bağlı glomerüler filtrasyon oranındaki azalma ile elektrokimyasal bariyeri etkileyerek ve glomerül bazal membranın geçirgenliğini direkt azaltarak gösterir. Yine siklosporin A etkisiyle lipid peroksidasyonu oluşmakta ve ortama salınan serbest oksijen radikallerinin etkisiyle hipertansiyon ve nefrotoksisite oluşmaktadır (5). Siklosporin A steroid dirençli nefrotik sendrom tedavisinde etkinliği gösterilen tek ilaç, ancak nefrotoksisite başta olmak üzere çeşitli yan etkileri kullanımını kısıtlamakta ve güçlüklerle yol açmaktadır. Bu nedenle steroid dirençli nefrotik sendrom tedavisinde çeşitli ilaçlar ve kombinasyon tedavileri gündeme gelmektedir. Mikofenolat mofetil (MMF) lenfositlerin de novo purin sentezini inhibe eder. Purin guanin sentezinde temel basamak olan inozin monofosfat dehidrogenaz (İMPDH) enziminin spesifik ve geri dönüşümlü inhibitörüdür. MMF steroid bağımlı nefrotik sendromda etkin olarak

kullanılmakta olan bir tedavi yöntemidir. Daha önce yapılan çalışmalarda antiproteinürik etkinliği gösterilmiş ve yan etkileri siklosporin A tedavisine oranla daha az oranda saptanmıştır (6-9). SDNS patogeneğinde süregelen ağır proteinüriyle birlikte siklosporin A gibi kullanılan tedavilerin de etkisiyle, böbrek dokusunda oluşan oksidatif strese bağlı olarak serbest oksijen radikallerinin artması, sitokin üretiminin doku düzeyinde yoğunlaşmasını da içeren bir dizi immün reaksiyon sonucu böbrek dokusunda fibrozis gelişmesi, fibrozisin ilerleyerek skleroza gitmesi ile son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) geliştiği bildirilmektedir (5). Adriamisin ile nefrotik sendrom oluşturma kabul gören deneysel bir modeldir (10). Daha önce yaptığımız 3 çalışmada bu deneysel model kullanılmıştır (11,12,13). Daha önce yaptığımız bir deneysel çalışmamızda adriamisin ile nefrotik sendrom oluşturulan ratlarda siklosporin A ile proteinüride belirgin azalma olduğu gösterilmiş ancak böbrek fonksiyonlarını bozduğu gösterilmiştir. MMF ise; proteinüriyi ılımlı derecede azaltmış ve renal fonksiyonlarda bozulmaya neden olmamıştır (11). Buradan yola çıkarak düşük doz siklosporin A ve MMF birlikte kullanımı ile daha etkin ve yan etkinin daha az görüldüğü bir kombinasyon olabileceği düşünülmüştür.

TGF- β potent bir fibrojenik faktördür ve glomerüloskleroz patogeneğinde belirleyici rolü vardır. TGF- β fibroblastlar için kemoatraktan olup fibroblast proliferasyonu ve epitelyal hücrelerde ekstrasellüler matriks (ECM) proteinlerinin sentezini uyarır. TGF- β , ECM protein yıkımını sağlayan metaloproteinazların aktivitesini direk yoldan azaltırken aynı zamanda metalloproteinaz doku inhibitörlerinin etkisini arttırarak indirekt yoldan ECM yıkımını inhibe eder (14).

Osteopontin normalde distal tubülüslerden salgılanan, 44 kilodalton ağırlığında fosfoprotein yapısında bir moleküdür. Ancak interstisyel fibrozisin görüldüğü renal patolojilerde (IgA nefropatisi, lupus nefriti, membranöz nefropati, vs) proksimal tubülüslerden de salgılanır ve makrofajlar için kemotaktik adhesiv bir molekül olduğu düşünülmektedir (15). Lim ve ark. (16) siklosporin A tedavisi alan NS'lu çocuklarda yapmış oldukları çalışmada, siklosporin A tedavisi öncesi ve sonrasında osteopontin düzeyleri ile renal biopsi bulgularının değerlendirilmesi sonucunda; siklosporin A'nın nefrotoksik etkisiyle oluşan renal mikrovasküler hasarla birlikte osteopontin salınımının arttığı gösterilmiştir. Takeda ve ark. (17) anti-GBM antikolları ile kresantik glomerulonefrit oluşturdıkları ratlarda, MMF verilmesiyle glomerüler kresentlerin, glomerülosklerozun ve glomerüler osteopontin

ekspresyonunun belirgin olarak azaldığını göstermişlerdir. Böbrekte fibrozisin oluşmasında oldukça önemli bir faktör olduğu düşünülmektedir.

Siklosporin A'nın renal dokudaki oksidan seviyesini arttırdığı daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (5). Ancak MMF ile ilgili bu yönde bir çalışma bulunmamaktadır. Daha önce yapmış olduğumuz çalışmada; MMF alan grupta total oksidan seviye (TOS) diğer gruplardan daha düşük olduğu görülmüştür (11). Siklosporin A tedavisi alan grupta ise bu değer en yüksek saptanmıştır. Bu çalışmada amacımız; adriamisin ile nefrotik sendrom oluşturulan ratlarda siklosporin A, MMF ve kombine tedavi (düşük doz siklosporin A ve MMF) seçeneklerinin etkinlik ve yan etkilerini karşılaştırmaktır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Nefrotik Sendrom

Nefrotik sendrom masif proteinüri bunun yol açtığı hipoproteinemi ve sonuçta yaygın ödem ile karakterize klinik tablodur. Masif proteinüri nefrotik sendromda görülen primer anormalliktir. 24 saatlik idrarda $1\text{gr/m}^2/\text{gün}$ veya $40\text{mg/m}^2/\text{saat}$ veya spot idrarda protein/kreatinin oranının 2 mg/mg'ın üzerinde olması masif proteinüri olarak tanımlanır. Nefrotik sendromda görülen proteinüri histolojik tipten bağımsız olarak albumine selektiftir. Hiperlipidemi, artmış lipidüri ve hiperkolesterolemi sıklıkla eşlik eder. Nefrotik sendromlu hastaların bir kısmında hipertansiyon (%20,7), hematüri (%22,7) ve azotemi (%32,5) meydana gelebilir. Nedene bağlı olarak primer ve sekonder olarak sınıflandırılır. Primer nefrotik sendrom glomerul kaynaklıdır. Sekonder nefrotik sendrom nedenleri Çizelge 2.1’de verilmiştir. Çocuklarda primer idiopatik nefrotik sendrom %90 oranında görülürken sekonder nefrotik sendrom daha az oranda görülür (1, 2). İdiopatik nefrotik sendrom histopatolojik tip böbrek biopsi bulgularına göre; minimal lezyon nefrotik sendrom (MLNS), fokal segmental glomeruloskleroz (FSGS), mezengioproliferatif glomerulonefrit olarak sınıflandırılmaktadır ancak son yıllarda steroidle alınan yanıtla göre sınıflandırma daha yaygın olarak kabul görmektedir. Steroide yanıtı (SYNS), dirençli (SDNS) ve bağımlı (SBNS) olarak 3 gruba ayrılarak incelenmektedir. Tedaviye alınan yanıt hastalığın prognozu üzerine etkili en önemli faktördür. Doğumdan itibaren ilk 3 ayda görülen konjenital nefrotik sendrom ise sadece infant döneminde ve nadir görülen bir klinik antitedir. Konjenital nefrotik sendrom (CNS) intrauterin enfeksiyonlara veya genetik mutasyonlara bağlı olarak gelişebilir (1, 2, 18).

Çizelge 2.1. Nefrotik sendrom nedenleri (19, 20).

Primer Nefrotik Sendromlar

Minimal lezyonlu nefrotik sendrom
Fokal segmental glomeruloskleroz
Diffüz mezengioproliferatif glomerulonefrit
Membranoproliferatif glomerulonefrit (MPGN)
Membranöz glomerulonefrit

Sekonder Nefrotik Sendrom

Böbrek hastalıkları: Hemolitik üremik sendrom, antiglomerüler bazal membran hastalığı, hızlı ilerleyen glomerulonefrit

Enfeksiyon hastalıkları: Bakteriyel (poststreptokoksik, enfektif endokardit, şant nefriti, lepra, sifiliz), Viral (hepatit B ve C, sitomegalovirüs, Ebstein-Barr, varisella, HIV), Protozoal (şistozomiyazis, filariyazis, toksoplazmozis)

Neoplastik hastalıklar: Lenfoma, lösemi, Wilms tümörü

İlaçlar: Civa ve altın bileşikleri, penisilamin, trimetadion, pamidronate, interferon, eroin, lityum

Sistemik hastalıklar: Sistemik lupus eritematozus, Henoch-Schönlein purpurası, poliarteritis nodoza, Takayasu arteriti, sarkoidozis, amiloidozis, diabetes mellitus, Sjögren sendromu

Kalıtsal hastalıklar: Alport sendromu, Fin tipi nefropati, Fabry hastalığı, Nail patella sendromu, orak hücreli anemi, glikojen depo hastalığı, mitokondrial sitopatiler

Alerjik reaksiyonlar: Arı sokması, serum hastalığı, Castleman hastalığı, Kimura hastalığı, gıda alerjileri

Nefrotik sendrom prevalansı coğrafi bölge ve ırka bağlı olarak değişmekle birlikte 2-5/100.000 ile 12-16/100.000 arasında sonuçlar bildirilmiştir. Asya ve Afrika ırklarında daha fazla oranda görülmektedir (1, 3, 18). Erkek/kadın oranı 2/1 ve 3/2 oranında değişir. Büyük çocuklarda ve adolesanlarda sıklık eşittir. Çocuklarda görülen nefrotik sendromun %75'i 6 yaş altındadır ve 2-3 yaş arasında pik yapar. Ortalama başlangıç yaşı Asya'da 3,4 yaş, Avrupa'da 4,2 yaştır (21). Nefrotik sendrom küçük çocuklarda sıklıkla (%90) MLNS'dur, daha az oranda FSGS ve MPGN görülür. 10 yaş üzerinde ise MLNS %50, FSGS ve MPGN ise %20-30 arasındadır (1). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda değişik sonuçlar bildirilmekle beraber MLNS sıklığı daha az FSGS sıklığı ise daha fazla oranda

bildirilmektedir (21, 22). Bu iki hastalığın aynı hastalığın farklı dönemleri olduğu ileri sürülmüştür. Başlangıç renal biopsi örneklerinde MLNS olan hastaların tekrarlayan biopsilerde FSGS geliştirmeleri bu hipotezi desteklemektedir.

Hastalar histopatolojik kategorilere ayrıldığında başlangıç steroid tedavisine MLNS %91, FSGS %29, MPGN %6,9 oranında yanıt vermektedir. FSGS tanısı almış 75 hastayı 5 yıl izleyen bir çalışmada %37 inatçı proteinüri, %23 kronik böbrek yetmezliği (KBY), %21 son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) saptanmıştır (23).

2.1.1. Tanımlamalar

Remisyon: 3 gün arka arkaya proteinürinin stik ile negatif, idrar protein kreatinin oranının $<0,2 \text{ mg/mg}$ 'ın veya $4 \text{ mg/m}^2/\text{saat}$ 'in altında olması

Relaps: Daha önce remisyonunda olan hastanın idrarında 3 gün arka arkaya stickle $>3+$, protein kreatin oranının 2'den büyük veya idrar proteininin $40 \text{ mg/m}^2/\text{saat}$ veya $1 \text{ gr/m}^2/\text{gün}$ 'ün üzerinde olmasıdır.

Sık relaps: Başlangıçta remisyona girmiş olan hastada ilk 6 ayda en az 2 relaps veya herhangi bir 12 aylık dönemde en az 4 relaps görülmesi sık relaps olarak adlandırılır.

Steroid bağımlı: Steroide önceden cevap veren ve proteinüri kaybolan hastada steroid azaltılırken proteinürinin yeniden ortaya çıkması veya remisyona girdikten sonra steroid kesilmesini takip eden 2 hafta içinde relaps görülmesi ve bu durumun 2 kez tekrarlaması olarak tanımlanır.

Steroid dirençli: Dört haftalık (bazı yayınlarda 6 hafta steroid tedavisi önerilmiştir) düzenli tam doz steroid kullanımına karşın remisyona girmemesidir.

2.1.2. Patogenez

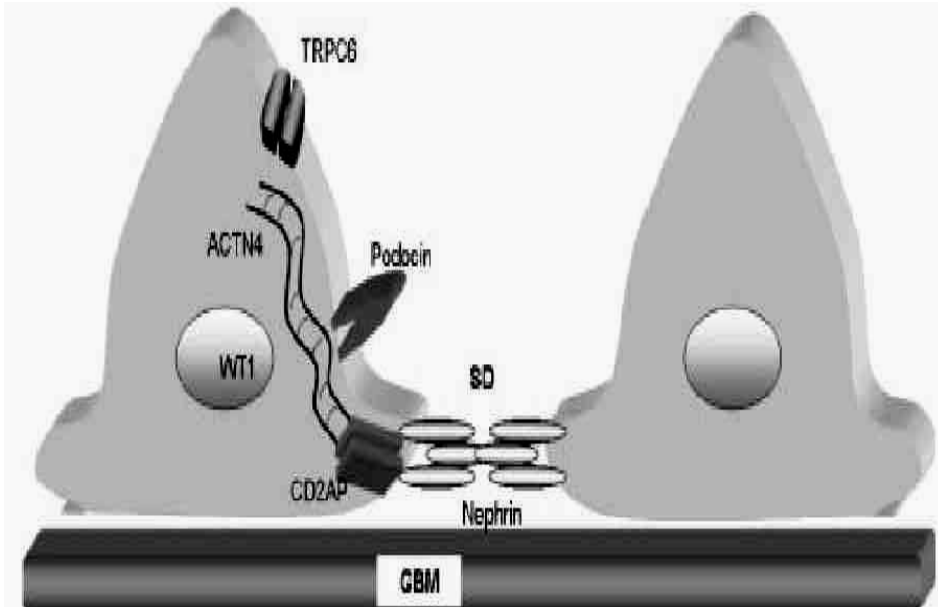
Nefrotik sendrom patogenezinde çeşitli faktörler öne sürülmektedir. Proteinüri nefrotik sendromdaki primer patolojidir ancak proteinüriyi neyin başlattığı henüz bilinmemektedir. Nefrotik sendromda görülen protein kaçağı glomerular kapiller membranda gerçekleşmektedir. Glomerular kapiller membran 3 tabakadan oluşmaktadır:

- 1-) Glomerular kapiller endoteli
- 2-) Glomerular bazal membran

3-) Glomerular epitel hücreleri ve podositler

Podosit ayaksa çıkıntıları slit diagram denilen özel bağlarla birbirlerine bağlanmışlardır. Burada görev alan proteinler Şekil 2.1’de gösterilmiştir (23). Nefrotik sendromda podosit ayaksa çıkıntılarında kayıp elektron mikroskopik olarak gösterilmiştir ancak bunun proteinüriye neden oluş mekanizması ve hasarın nedeni henüz tam olarak net değildir. Genetik, atopi, immun sistem, T hücreleri ve sitokinlerin patogeneizde rol aldığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir.

Nefrin ilk tanımlanan slit diagram proteindir. Geni kromozom 19q13’tedir. 136 kDa ağırlığında bir proteindir. Nefrin mutasyonu ile otozomal resesif konjenital nefrotik sendrom (Fin tipi) görülür. Bu hastalarda proteinüri neonatal dönemde başlar ve hızla böbrek yetmezliğine ilerleyebilir. Heterozigot mutasyonu ile daha geç çocukluk döneminde başlayan nefrotik sendrom görülür. Podocin; geni 1q25-q31’de bulunan NS nedeni bir diğer proteindir. Podocin mutasyonu ile erken başlangıçlı NS/FSGS görülür. Otozomal resesif familial NS nedenidir. Farklı çalışmalarda sporadik NS olgularında %8-20 oranında bildirilmiştir. Diğer genetik geçişli sendromik ve sendromik olmayan nefrotik sendrom formları, sorumlu gen ve exprese ettiği protein ile kalıtım şekli Çizelge 2.2’de verilmiştir.



Şekil 2.1. Nefrotik sendrom ile ilişkili podosit proteinleri. SD:Slit diafram, GBM:glomerular bazal membran (24).

Çizelge 2.2. Steroid dirençli nefrotik sendromun herediter formları (25).

Gen	Loküs	Kalıtım	Protein	Hastalık
Nonsendromik form				
NPHS1	19q13.1	OR	Nefrin	Fin tipi CNS
NPHS2	1q25-31	OR	Podosin	CNS. Erken ve geç başlangıçlı SDNS
PLCE1	10q23	OR	Fosfolipaz C epsilon1	Erken başlangıçlı DMS ve FSGS
CD2AP	6p12.3	OR	CD2 ilişkili protein	Erken başlangıçlı SDNS ve FSGS
ACTN4	19q13	OD	Alfa-aktinin-4	Geç başlangıçlı SDNS tam olmayan penetrans ve SDBY'ne yavaş gidiş
TRPC6	11q21-22	OD	Transient reseptör potential iyon kanal 6	Erişkin başlangıçlı SDNS ve FSGS
Bilinmiyor	2p12-13.2	OR	Bilinmiyor	SYNS
Sendromik formlar				
WT1	11p13	OD	Wilms tümör 1	Dennys-Drash sendromu, Frasier sendromu, WAGR sendromu, izole FSGS ve DMS
LAMB2	3p21	OR	Laminin beta 2	Pierson sendromu
SMARCAL1	2p35	OR	SW1/SNF ilişkili, matrix ilişkili, aktin bağımlı regülatör kromatin subfamilya-like1	Schimke immuno-osseoz displazi
SCARB2	4q13-21	OR	Scavenger reseptör 2 (LIMP-2)	Miyoklonus ve renal yetmezlik
LMX1B	9q34.1	OD	LIM-homeodomain transkripsiyon faktör1 beta	Nail-patella sendromu
COQ2	4q21-q22	OR	Paraoksijenoate-polifenil transferaz enzimi	COQ10 eksikliği, erken başlangıçlı SDNS, ensefalomyopati?
PDSS2	6q21	OR	Dekafrenyl difosfataz sentetaz-2	COQ10 eksikliği, Leigh sendromu ve SDNS
MTTL1	Mitokondrial		Lösin mitokondrial tRNA (UUR)	MELAS sendromu. FSGS
ITGB4	17q25.1	OR	İntegrin- beta4	Epidermolizis bullosa ve FSGS,
Bilinmiyor	14q24.2	OR	Bilinmiyor	SDNS ve sağırılık
Bilinmiyor	11q24	OD	Bilinmiyor	SDNS ve sağırılık
Bilinmiyor	Bilinmiyor	OR	Bilinmiyor	Galloway-Mowat sendromu

İmmün sistem, NS patogeneğinde etkili bir diğerk faktördür. 1974'te Shalhoub (26); INS'un bir T lenfosit hastalığı olduğunu öne sürmüştür. Bir T lenfosit klonunda ekspansiyon lenfokin üretimi ile sonuçlanmakta ve glomerular filtrasyon bariyerinin proteinlere geçirgenliğinin artmasına neden olmaktadır. Kortikosteroidler, alkileyici ajanlar, kabakulak ile remisyon ilişkisi bilgileri bu hipotezi destekler. Hastalığın patogeneğinde diğerk bir neden mononükleer hücrelerden üretilen dolaşımdaki permeabilite faktörüdür (27-29). Bazı hastalarda renal transplant sonrasında proteinürinin hızla rekürrensi, nefrotik sendrom olmayan bir hastaya MLNS'lu böbrek transplante edildiğinde proteinürinin görülmemesi, FSGS'lu bir anneden doğan 2 bebekte 2-3 hafta içinde neonatal proteinüri gelişimi ve transplant sonrası NS rekürrensi olan hastanın serumunun rata enjeksiyonu ile proteinürinin görülmesi bu hipotezi destekler. Tersine, proteinüri ve renal lezyon olan hasta rattan sağlıklı rata nakil yapılan böbrekte daha iyi sonuçlar bildirilmiştir (30-33).

Sadece artmış permeabilite faktörlerinin rolü yoktur aynı zamanda bunların inhibitörlerinin kaybı da söz konusu olabilir. Sharma ve ark (34); normal insan serumu verilerek FSGS'da artmış albumin permeabilitesinin önlenileceğini göstermişlerdir. INS'lu hasta plazma faktörlerinin inhibitörlerinin idrarla kaybı görülebilir ve bu idrarda gösterilebilir. INS hastasının serumu enjeksiyonu ile indüklenmiş albumin permeabilitesi hastaların idrarı verilerek azaltılabilir (35). Sonuç olarak FSGS'da glomerular albumin permeabilitesi artmıştır ve bunun nedeni permeabilite faktörleri veya bunların doğal inhibitörleri arasındaki dengenin bozulmasının sonucudur.

INS'lu hastaların lenfosit kültür süpernatantlarında IL2 seviyesi artmıştır, rat böbreğine enjekte edildiğinde glomerul bazal membran (GBM) anyonik yükünde azalma ve proteinüride artış görülür (36). Ayrıca steroid duyarlı NS'da relaps döneminde CD8 ve CD4 hücreleri ve IL13 gen ekspresyonu artmıştır (37). IL13; Th2 hücrelerden sentezlenen bir sitokindir bu da NS'da Th2 yönünde bir T hücre aktivasyonu olduğunu göstermektedir (38). IL13 öncülleri 2 tane NFkB elementi içerir. NFkB, İkB α tarafından baskılanır. Bu steroid ve siklosporin A'nın additif etkisini açıklayabilir: steroid İkB α 'nın transaktivasyonunu indüklerken, siklosporin aktif formunun degradasyonunu bloke eder (39). Yapılan çalışmalarda interlökin 4 ve 10 anlamlı oranda artmış bulunmuştur. Ancak bunun rolü bilinmemektedir (18).

Osteopontin inflamasyon, kanser ve çeşitli durumlarda salınımı artan pleotropik bir sitokindir. Gen ekspresyon çalışmalarında diabetik albuminüri, glomerulosklerozlar, akut ve kronik glomerulonefrit ve transplant renal hastalıkta osteopontin ve mRNA'larının arttığı gösterilmiştir. Ayrıca osteopontin delesyonu ile proteinürinin gelişimin önlendiği gösterilmiştir. Çocuklarda steroidde yanıtı değerlendirmede yol gösterici olabileceği savunulmuştur (40). Ayrıca proteinüri tedavisinde osteopontin inhibitörlerinin kullanılabileceği gibi bir öneride yapılmıştır (40).

Reaktif oksijen radikallerinin kontrolsüz üretimi hücre hasarına neden olur. Reaktif oksijen radikallerinden korunma mekanizmaları; enzim sistemleri (süperoksiddismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz), endojen moleküller (albumin, glutatyon, ürik asit) ve diyetle elde edilenlerdir (vitamin C, E, karotenoidler, selenyum, çinko). Reaktif oksijen radikallerin üretimi ve eliminasyonu arasındaki denge bozulursa oksidatif stres görülür. Son yıllarda yapılan çalışmalarda total antioksidan status (TAS) ve total antioksidan status (TOS) ile ilgili hayvan ve insan çalışmalarına dikkat çekilmiştir. Ancak yapılan çalışmaların sonuçları birbiri ile uyumsuz bulunmuş. Primer nefrotik sendromlu 33 hasta ile yapılan çalışmada sağlıklı kontrol grubuna göre düşük olmakla birlikte; TAS remisyon döneminde ve nonrelaps hastalarda daha düşük bulunmuş, TOS ise tüm gruplarda kontrol grubuna oranla yüksek bulunmuştur. Kortikosteroidlere yanıtı değerlendirmede ve relapsı öngörmeye kullanılabileceği öne sürülmüştür (41).

Alerji, nefrotik sendromlu olguların %30'unda görülür (42-44). Laurent ve ark (45); 13 hastaya 10-15 gün boyunca oligoantijenik diyet ile 9 hastada proteinüride düzelme ve 5 hastada tam remisyon göstermişlerdir. 72 hastanın alındığı bir çalışmada SYNS'da atopi SDNS'dan daha sık saptanmıştır. IL 4 seviyeleri kontrol grubu ve nefrotik sendrom grupları arasında farklı bulunmamış ve serum IgE seviyesi ile IL 4 seviyesi arasında anlamlı ilişki bulunmamış. Ancak IL5 ve IL13 seviyeleri kontrol grubuna oranla SYNS'da daha yüksek saptanmıştır (43).

MLNS'un maligniteler ile ilişkisi ana olarak lenfomalarladır (46, 47). NS bu hastaların başvuru şekli olabilir ve hastalığın başarılı tedavisi ile NS da geriler. Diğer NS ilişkili maligniteler; kolon karsinomu, bronkojenik ve küçük hücreli akciğer karsinomudur (48). Eozinofilik lenfoid granülomun (Kimura hastalığı) INS ile ilişkisi olgu bazında bildirilmiştir (49-51).

NS'un HLA-DR7, HLA-DQB1, HLA-DQW2, HLA-B8 doku grupları ile ilişkisi gösterilmiştir. HLA-DR9 alleleline sahip olanlarda sık relapslar gözleendiği, bir çalışmada ise HLA-A11 allelinin kontrol grubuna göre daha sık görüldüğü tespit edilmiştir (52, 53). Atopisi olan çocuklarda, HLA-B12 varlığının NS riskini 13 kat arttırdığı bildirilmiştir (19).

2.1.3. Ödem patofizyolojisi

Klasik teori; serum albumininde azalmaya bağılı olarak plazma onkotik basıncında düşme sonrası ödem formasyonudur. Sıvı interstisyel alana ekstravaze olmaktadır. İntravasküler volümde azalma renal kan akımının azalmasına ve renin anjiyotensin aldosteron sisteminin aktivasyonuna neden olmaktadır. Aldosteron nefronun distal segmentinde sodyum ve su emilimini artırır. Bu hipotez kabul edilebilir bir hipotezdir ancak klinik bulgularla desteklenmemiştir. Plazma volümünde azalma sadece MLNS olan çocukların bazılarında gösterilebilmiştir. Erişkin hastaların çoğunda plazma volümü normaldir. Aynı zamanda renin, aldosteron, artışı gösterilememiştir (21, 53).

Bir diğeri teori sodyum atılımındaki primer defekte bağılı olarak sodyum retansiyonudur. Deneysel olarak tek böbrekte proteinüri oluşturulan ratlarda sadece proteinürik böbrekte sodyum atılımının azalması gösterilmiştir ve bunun moleküler mekanizması açıklanamamıştır. Ancak bunun nedeninin distal tübüllerde atrial natriüretik peptid (ANP)'e rezistans ile ilişkili olması muhtemeldir (20, 54, 55).

3. teori ise NS'un evresi ile ilişkili olarak erken dönemde plazma onkotik basıncında düşme daha sonraki evrelerde ise sodyum retansiyonu ile ödem oluşumunun devam etmesidir (20).

2.2. Klinik

Major klinik bulgu % 95 sıklıkla görülen ödemdir. Ödem öncelikle doku direncinin düşük olduğı bölgelerde pretibial, skrotal ve labial bölgelerde görülür. Tipik olarak sabahları daha fazladır. Ödem gode bırakır ve deri normalden ince görülür. Nadiren gros hematüri görülür. MCNS'de mikroskopik hematüri daha sık görülür. Oligüri sıklıkla görülür. Genellikle solukluk, anoreksi, irritabilite, abdominal rahatsızlık, asit ve diare eşlik eder. Öyküde öncesinde üst solunum yolu

enfeksiyonu sıklıkla bulunur. Ateş ve septik görünüm eşlik eden peritonit vs enfeksiyon varsa görülebilir. Allerji ve atopi öyküsü %30-50 oranında görülebilir. Fazla süt tüketimi de öyküde sıklıkla saptanabilen bulgulardandır (1). Ödem anazarka tarzında ve akciğer ödemi veya plevral sıvı eşlik ediyorsa takipne ve solunum sıkıntısı görülebilir. Hipertansiyon, ‘International Study of Kidney Disease in Children’ (ISKDC)’in verilerine göre %30 oranında görülebilmektedir (1, 21). Daha nadir olarak arteriyel veya venöz tromboz bulguları fizik muayenede saptanabilir.

Ayırıcı tanıda; alerjik reaksiyonlar, konjenital kalp hastalığı, hepatik yetmezlik, protein kaybettiren enteropati, albumin sentez defektleri, diğer renal hastalıklar yer almaktadır (1).

2.2.1. Böbrek biopsisi endikasyonları

INS’lu çocuklara renal biopsi genellikle gerekli değildir. 1-12 yaş arası INS’ların %80’i MLNS’dur. MLNS’lu çocukların %93- 97’si kortikosteroidlere yanıt verir. Steroid duyarlıların %91.8’i MLNS’dur. Böbrek biopsisinin ana endikasyonu 4 hafta uygun kortikosteroid tedavisine yanıt alınamayan hastalardır (3). Diğer endikasyonlar; 10 yaş üzerinde veya 1 yaş altındaki hastalar, hipertansiyon, azotemi ve önemli hematüri veya idrar sedimentinde hücresel silendirlerin eşlik ettiği NS başlangıcı, serum kompleman seviyesi düşük olan çocuklar ve klinik bulguların sistemik hastalığa sekonder nefrotik sendromu düşündürmesidir (1, 2).

2.2.2. Patoloji

Minimal lezyon nefrotik sendromda, ışık mikroskopisinde patoloji gözlenmez ya da mezengial matriks ve selülaritede minimal bir artış saptanabilir (56). İmmünfloresans ile incelemede patoloji saptanmazken, bazı çalışmalarda mezengiumda az miktarda IgM ve/veya C3 depolanmalarının olabileceği gösterilmiştir. Elektron mikroskopisinde ise yalnızca ‘foot processler’ arası yapışıklıklar olduğu, elektron yoğun depolanma olmadığı gösterilmiştir (1).

Fokal segmental sklerozda, ışık mikroskopisinde fokal ve segmental olarak, subendotelial hiyalinoz ve lipid damlacıklarını da içeren skleroz saptanır. Kalan glomerüller, mezengial proliferasyonun değişik derecelerini gösterebileceği gibi

normal de olabilir. Skleroz başta jukstamedüller glomerüllerde saptanır. IgM ve C3 depolanmalarını içeren skleroz alanları immünfloresans incelemede gözlenir (1).

Mezengioproliferatif glomerulonefritte en erken gözlenen histolojik lezyon, segmental mezengial hiperselülerite ve matriks genişlemesidir. Sonuç olarak ortaya segmental veya diffüz skleroz çıkar (1).

2.3. Laboratuvar

Tam idrar tetkiki proteiüri gösterilebilir, mikroskopik veya daha az oranda makroskopik hematüri eşlik edebilir. Mikroskopik hematüri başlangıçta %20-30 sıklıkta görülebilir. Selektif proteinüri histolojik subtipte bağlı olarak görülebilir MLNS'da albumine daha selektiftir.

Tam idrar tetkikinde 3-4+ proteinüri tespit edilir. Kantitatif olarak 1 gr/gün'den az veya 10 g/gün den fazla proteinüri görülebilir. Küçük çocuklarda 24 saatlik idrar toplamak zor olabileceği için idrar protein/kreatinin veya idrar albumin/kreatinin oranı kullanılabilir.

Proteinüri yüksek derecede selektiftir, ana olarak albumin ve düşük moleküler ağırlıklı proteinlerdir. Proteinürinin selektivitesi poliakrilamid jel elektroforez veya Cameron indexi (Immünglobulin G / transferin klirensi) ile değerlendirilebilir. İndeks:<0,10 olmalıdır (daha da iyisi<0,05). Kötü indeks ise 0,15-0,2'nin üzeridir. Kötü indeks daha sıklıkla FSGS ile ilişkilidir. SDNS bazı çocuklarda ve tübülointerstisyel hasarı olanlarda glomerular ve tübüler proteinüri görülür. B2 mikroglobulin, retinol bağlayıcı globulin ve lizozim proksimal tübülden reabsorbsiyon bozulmasına bağlı olarak tübüllerden kaybedilir.

INS'lu hastaların idrar sedimentinde sıklıkla yağ damlaları görülür. Masif proteinürlü hastalarda sıklıkla hiyalin silendirler görülür. Akut böbrek yetmezliği ve akut tübüler nekroz da gelişmişse granüler silendir görülebilir. Makroskopik hematüri (%3) nadirdir. Mikroskopik hematüri %20 oranında görülür. Üriner sodyum atılımı azalmıştır (<5 mmol/24 saat).

Hipoalbuminemi nefrotik sendromun en önemli 2. bulgusudur, genellikle 2.5 gr/dl altındadır. Histolojik tipe bağlı olarak hypoalbuminemisinin derecesi değişebilir. MLNS'da diğer NS tiplerine oranla daha belirgindir. Protein elektroforezinde albuminde düşme aynı zamanda alfa2 globulin artmış ve daha az oranda beta

globulinler ve gama globulinler azalmıştır. IgG belirgin azalmış, IgA hafif azalmış ve IgE normal veya artmıştır. Diğer proteinlerden fibrinojen ve beta lipoproteinler artmış ve antitrombin 3 azalmıştır.

Hiperlipidemi NS'da sıklıkla görülen diğer bir bulgudur. Serum albumin konsantrasyonu ile ters orantılıdır. Artmış hepatik lipoprotein sentezi, regülatuar substratların üriner kaybı, HMGCoA redüktaz ve açıl koenzim A kolesterolaçıl transferaz aktivitesinde artma, kolesterol 7 alfa hidroksilaz ve lipoprotein lipaz aktivitesinde azalma hiperlipideminin nedenleridir (1, 20, 21). Total kolesterol ve LDL kolesterol artmış HDL kolesterol normal veya azalmıştır. Ciddi hipoalbuminemi olan hastaların trigliserid ve VLDL seviyeleri artmıştır. Apoproteinler, apoB, apo C2, apoC3 artmıştır. Lipoprotein a seviyesi artmıştır ve kardiyovasküler risk ve trombotik komplikasyonların artmasına neden olur.

Serum elektrolitleri genellikle normal sınırlardadır. Düşük sodyum seviyesi dilüsyon ile ilişkili olabilir (dilüsyonun nedeni; hipovolemi nedeni ile renal retansiyona ve uygunsuz ADH sekresyonudur). Plazma sodyum konsantrasyonun hafif düşük olması sıklıkla hiperlipidemiye bağlı yalancı düşüklüktür. Oligürik hastalarda serum potasyum seviyesi yüksek olabilir. Serum kalsiyum sıklıkla hipoproteinemiye bağlı olarak düşük bulunur. İyonize kalsiyum sıklıkla normaldir ancak 25-OH Vitamin D3 kaybına ve uygunsuz normal kalsitriol seviyesine bağlı olarak azalmış bulunabilir (25). BUN ve kreatinin seviyeleri sıklıkla normaldir.

Plazma volüm kontraksiyonuna bağlı olarak serum hemoglobin ve hematokrit düzeyleri artmış olabilir. Anemi ve mikrositoz görülebilir ve muhtemelen üriner siderofilin kaybı ile ilişkilidir. Eritropoetinin üriner kaybı anemiye neden olabilir (25). Trombositosis sıktır ve 500.000 veya 1 milyon olabilir. Beyaz küre artışı genellikle enfeksiyona sekonderdir (1).

Serum komplemanı MPGN dışında normaldir.

Akciger grafisi; plevral effüzyon ve pnömoni tanısında yardımcıdır. Renal USG; rutin olarak kullanılmaz MPGN'de ekojenite artışı ve böbreklerde hafif büyüme görülebilir (1).

2.4. Komplikasyonlar

2.4.1. Hipovolemi ve akut böbrek yetmezliği

Bazı çocuklar hipovolemi ve komplikasyonları ile tipik olarak relapsın erken dönemlerinde başvurur. Sepsis, diare ve diüretikler hipovolemiyi yoğunlaştırabilir. Bu çocuklar sıklıkla karın ağrısı, hipotansiyon ve periferik soğukluk ile başvurabilir, hematokritte artış ve hemokonsantrasyon görülebilir.

Renal fonksiyonlar genellikle normal sınırlardadır. Hipovolemiye sekonder GFR'da azalma olabilir (57, 58). Bazı hastalar ABY bulguları ile başvurabilir. Bu bulgular genellikle albumin infüzyonu, diüretik tedavisi ile geri dönüşümlüdür. Nadiren bilateral renal ven trombozuna bağlı ABY görülebilir (21).

2.4.2. Kronik böbrek yetmezliği

Steroid yanıtı ve yanıtı olmayan nefrotik sendrom arasındaki ana fark son dönem böbrek yetmezliğidir. Steroide yanıtı olanlarda farklı serilerde %3 altında görülmektedir. SDNS'lularda bu sıklık 10 yıllık takiplerden sonra %50 ve daha fazla bildirilmiştir. GFR azalmasının tek yararı proteinüride azalmaya bağlı olarak nefrotik sendromda düzelmez. KBY için kötü prognostik faktörler asemptomatik proteinüri ile başvuru, başlangıçta böbrek yetmezliği ve segmental sklerozlu glomerul oranının fazla olmasıdır. Ayrıca SDBY'ne ilerleme oranları Kafkaslar ile karşılaştırıldığında Afrikalılarda ve zencilerde daha hızlıdır (59).

2.4.3. Büyüme

Steroid dirençli NS'da çocuklarda büyüme ciddi anlamda etkilenebilir. Üriner kayıp nedeni ile hormonlarda azalma kısa boyluluğun muhtemel nedenlerinden birisidir. İyodinize proteinlerin üriner kaybı ile ilişkili hipotiroidizm saptanmıştır (60). Büyüme geriliği uzamış steroid alımının sonucu olarak da görülebilir. Ortalama yaşları 8 yaş olan sık relaps 34 hastanın alındığı bir çalışmada 13 yıllık izlem sonrasında hedef boyda ortalama 2,5 cm kayıp olmuştur. Sık relaps ve steroid bağımlı çocuklarda büyüme yakından izlemeli ve alternatif tedaviler açısından değerlendirilmelidir (21).

2.4.4. Enfeksiyon

Enfeksiyon NS sendromda görülen diğer ciddi komplikasyondur. Üriner faktör b kaybı (bakteri opsonizasyonuna katkıda bulunur), azalmış immünglobulin G sentezi, T hücre fonksiyon bozukluğu enfeksiyonlara yatkınlığın nedenleridir. En sık görülen enfeksiyon peritonittir (%2-6). Sıklıkla Streptokokus pnömonia'ya bağlıdır. Aşılama ile Strep. pnömonia insidansında azalma ile gram negatif bakterilerin insidansında göreceli artma görülebilir. Asitli hastalar peritonit açısından yakın izlenmelidir: ateş, üşüme, karın ağrısı, ileus ve diare görülebilir. Asit sıvısında nötrofil>500/mcL olmasının sensitivitesi %86, spesifitesi %98'dir (21). Ampirik penisilin ve aminoglikozid kombinasyonu ile %90 olgu tedavi edilebilir. Sellülit pnömoni, üst solunum yolu enfeksiyonu ve menenjit görülebilen diğer enfeksiyonlardır (18, 21). Viral enfeksiyonlar kortikosteroid ve immünsupresif ajan alan hastalarda saptanabilir. Küçük çocuklarda suçlu olduğu görülebilir ve eğer asiklovir erken başlanmazsa yaşamı tehdit edebilir. İlginç olarak kızamık uzun dönem remisyonundaki hastalarda azalmıştır.

2.4.5. Tromboz

Nefrotik hastalar tromboembolik komplikasyonlar geliştirme açısından risk altındadır. Erişkinlerde %40 kadar sık görülürken çocuklarda bu oran daha düşük (%1,8-5) ancak ciddi bir komplikasyondur (20). Arteriyel tromboz (%19-27) venöz tromboza (%73-81) oranla daha az görülmektedir (61, 62). Bazı faktörler hiperkoagülabite, hipovolemi, immobilizasyon ve enfeksiyon artmış riske katkıda bulunabilir. Nefrotik sendromlu hastaların bir numaralı hemostatik anomalisi artmış trombosit agregasyonudur. Fibrinojen, faktör 5, 7, 8, 10, 13 artmış ve antitrombin 3, heparin kofaktör, protein C, protein S, faktör 11 ve 12'de ve fibrinolitik sistem komponentleri tPA, PAI-1 azalmıştır (61). Pulmoner emboli pulmoner veya kardiyak semptomu olan hastalarda şüphelenilmeli ve anjiyografi ve anjiosintigrafi ile doğrulanmalıdır. Renal ven trombozu, ABY veya ani makroskopik hematüri ile başvuran hastalarda şüphelenilmelidir. Doppler USG ile böbrek boyutunda artış ve renal ven akımında yokluk gösterilebilir. Tromboz diğer derin venlerde veya arterlerde de görülebilir. Bazı çalışmalarda tromboembolik olayların nedeni olarak antifosfolipid sendrom suçlanmıştır ancak mekanizması açık değildir. Tromboemboli tedavisi düşük molekül ağırlıklı heparin ile yapılır (21).

2.4.6. Diğer Komplikasyonlar

Azalmış kemik mineral dansitesi uzamış steroid alımı ve muhtemelen vitamin D eksikliğine bağlıdır. Hindistan’da yapılan prospektif bir çalışmada 100 NS’lu hasta çalışmaya alınmış ve 22 hastada kemik mineral dansitesi azalmış olarak tespit edilmiştir. Başlangıç yaşının büyük olması, düşük kalsiyum alımı ve kümülatif steroid dozu ile ilişkili bulunmuştur (63). MLNS’lu 40 çocukta yapılan bir çalışmada 400İU vitamin D ve 1 gr kalsiyum tedavisi verilmiş ve çalışma sonunda kemik mineral dansitesinde azalma olmamıştır (21).

Uzun dönemde kardiyovasküler hastalık riski artmıştır. Kortikosteroidler, hiperlipidemi, oksidan stres, hipertansiyon, hiperkoagülabilité ve anemi kardiyovasküler hastalık riskini arttıran faktörlerdir.

Akut adrenal kriz genellikle uzun süre kortikosteroid tedavisi alan hastalarda stres durumunda gözlenir uygun kortikosteroid tedavisi ile düzelir (3).

2.5. Tedavi

2.5.1. Nonspesifik tedavi

2.5.1.a. Diyet – aktivite

Yaşa bağlı olarak günlük alınması gereken protein miktarının %130-140’ı kadar protein içeren diyet önerilir. NS’da sodyum retansiyonu sıvı retansiyonundan daha fazladır ve ödem görülür. Tuz kısıtlaması ödem tedavisi ve önlenmesinde önerilmektedir. Çok düşük tuz içeren diyet sadece masif ödemi olan hastalarda önerilir. Sıvı kısıtlaması ciddi ve orta dereceli ödem tedavisinde önerilmektedir (plazma Na^+ konsantrasyonu $<125 \text{ meq/L}$ ise). Doymuş yağların azaltılması önerilmektedir. Karbonhidratlar nişasta veya dextrin-maltoz tercihli olarak verilmelidir. Sukroz lipid anomalilerini arttırabilir. Ayrıca vitamin D ve Ca^{++} suplemantasyonu tavsiye edilir (21). Normal aktivite sürdürülmelidir. Ciddi ödem dışında aktivite kısıtlaması yapılmasına gerek yoktur. Kalabalık ortamlara potensiyel enfeksiyonların neden olacağı alevlenmeler açısından girilmemelidir (1).

2.5.1.b. Plazma volümü

Hipovolemi proteinlerin hızlı kaybı nedeni ile görülür bazen de diüretiklerin kullanımı ağırlaştırılmaktadır. Ciddi hipovolemi acilen plazma (20 ml/kg) veya albumin verilerek düzeltilmelidir. Albumin; anazarka şeklinde ödemi olan ve buna bağlı fonksiyon bozukluğu olan hastalarda ödemin hızla azaltılması gereken durumlarda kullanılabilir. 0,5 gr/kg doz ile başlanır gerekir ise 1 gr/kg'a çıkarılır. 30-60 dk'lık infüzyon şeklinde kan basıncı, kalp hızı, solunum takibi ve volüm yüklenmesi açısından yakın takip edilerek ayrıca infüzyonun ortasında furosemid eklenerek uygulanabilir. Serum elektrolitlerinin kontrolü yapılmalıdır (2).

Diüretikler; ödemli hastalarda hipotansiyon ve hipovolemi yok ise verilebilir (2). Hipovolemi düzeltildikten sonra sadece ciddi ödemi olan hastalarda kullanılmalıdır. Furosemid 1-2 mg/kg dozunda verilmelidir. Etkisiz ise spironolakton (5-10 mg/kg) veya amilorid (0,2- 0,5 mg/kg) verilebilir ancak plazma kreatinin değeri normal olan hastalarda kullanılabilir (55).

2.5.1.c. Antihipertansifler

Hipertansiyon hipervolemiye ve sodyum retansiyonuna bağlı olarak veya steroid yan etkisi olarak görülebilir. Arteriyel hipertansiyon dikkatli bir şekilde kontrol edilmelidir. Farmakolojik tedavi gerekirse atenolol (0,5-1 mg/kg/tek dozda) ve/veya nifedipin (0,25-2 mg/kg/ iki dozda) tercih edilir (2). Kalıcı hipertansiyon durumunda ise ACE inhibitörleri önerilmektedir.

2.5.1.d. Tromboz

Tromboz saptanması durumunda antikoagülanlarla tedavi edilmelidir. Ancak tedavi süresi tartışmalıdır (3). Heparin başlangıçta trombusü olan hastalara tek başına veya trombolitik ajanlarla kullanılabilir. Heparin antitrombin 3 seviyesi düşük ise daha fazla dozda terapötik etki gösterir.

Albumin konsantrasyonu <20 g/L, fibrinojen seviyesi >6 g/L antitrombin 3 seviyesi normalin %70'inin altında olduğu yüksek riskli hastalara profilaktik warfarin verilebilir. Risk altındaki hastalara düşük doz aspirin ve dipyridamol önerilebilir (25).

2.5.1.e. Enfeksiyon ve immünizasyon

Başlangıç kortikosteroid tedavisi süresince Streptococcus pnömonia'nın oral penisilin ile profilaksisi sıklıkla uygulanmaktadır. Peritonitli hastalara kültür için örnek alımından sonra Streptococcus pnömonia ve gram negatif bakterilere yönelik antibiotik başlanmalıdır.

NS'lu hastaların aşılması etkili bulunmuş. Pnömonok, influenza, varisella, hepatit antikor yanıtları yeterli bulunmuş ve yan etkiler normal populasyondan farklı bulunmamıştır. Fakat pnömonok ve hepatit antikorları normal populasyondan daha hızlı düşmüştür. Amerikan Pediatri Akademisi'nin enfeksiyon hastalıkları komitesi konjuge pnömonok aşısını önermektedir (3). Günlük kortikosteroid veya immüsupresif tedavi alan hastalarda suçıceği ciddi bir enfeksiyondur. Varisella öncesi aşılama durumu değerlendirilmeli ve hasta ile temas olursa immünglobulin verilmeli ve asiklovir başlanmalıdır (2, 21). Eğer çocuk gün aşırı steroid alıyor veya remisyonda ise varisella aşılması etkin ve güvenilirdir (3, 64, 65).

Çok yaygın ödemi ve asiti olan hastalara ödem düzelene kadar oral penisilin profilaksisi (2x125-250 mg) önerilebilir (2, 3).

2.5.1.f. Lipid düşürücü ajanlar

Hiperlipideminin hayvan deneylerinde glomerular sklerozun ilerlemesini arttırdığı gösterilmiştir. Erişkin hastalarda yapılan kontrolü çalışmalarda renal fonksiyonların düşmesini lipid düşürücü ajanların önlediği gösterilmiştir (25).

Hiperlipidemi bazen remisyona rağmen devam edebilir. Bu da prematür ateroskleroz ve erken miyokard enfarktüsü ile ilişkilidir. Bu nedenle bazı yayınlarda statin tedavisi önerilmektedir. Statinin başlıca etkileri kronik renal hastalığa progresyonu yavaşlattığı gösterilmiştir. Bu etkiler; endotelial fonksiyonların onarımı, sitemik veya intrarenal antiinflamatuvar etkiler, oksidatif stresin dengelenmesi ve makrofaj fonksiyonlarının düzenlenmesidir (21). Ancak çocuklarda bu konu ile ilgili henüz yeterli bir öneri bulunmamaktadır (3).

2.5.1.g. Nonsteroid anti-inflamatuvar ilaçlar

Bu ilaçlar proteinüriyi azaltabilir. Bazı yazarlar INS'un indometazin ile tedavisinde değişken sonuçlar bulmuşlardır (66, 67)

2.5.1.h. Diğer

Kalsiyum metabolizması taşıyıcı proteinlerin ve 25 hidroksikolekalsiferolün üriner kaybı nedeni ile değişmektedir. Vitamin D tedavisi yararlıdır ancak kemik kaybını tam olarak önlemez (68). İyonize proteinlerin kaybına bağlı olarak hipotiroidi görülen hastalarda tiroksin idamesi gerekmektedir (25).

2.5.2. Spesifik tedavi

Yüksek doz kortikosteroid kullanımının kontrendikasyonu dışlandıktan sonra oral prednizol veya prednizolon 2 mg/kg/gün veya 60 mg/m²/gün başlanır. 2 dozda 4-8 hafta süreyle başlangıç tedavisi uygulanır. Kilo olarak hastanın boyu için %50 persantil değerine uyan ağırlık (kuru ağırlık) baz alınır. MLNS'lu hastaların %90'ı bu tedaviye yanıt verir. FSGS'lu hastaların %20'si MPGN'li hastaların %5'i bu tedaviye yanıt verebilir. İdame tedavi 1,5 mg/kg/gün veya 40 mg/m²/gün dozunda verilmesi önerilmektedir. Tedavinin süresi tartışmalıdır (4-6 hafta ?, 3-6 ay?). Son yıllarda yapılan kontrollü metaanalizde 4 hafta günlük tedavi sonrasında 4 hafta 1.5 mg/kg/günaşırı, 4 hafta 1 mg/kg/günaşırı, 4 hafta 0.5 mg/kg/günaşırı ve 8 hafta 0.25 mg/kg/günaşırı tedavi önerilmektedir (1, 2, 21).

1- Modifiye ISKDC rejimi

60 mg/m²/g 4 hafta prednisolon sonrasında 40mg/m²/günaşırı 4 hafta

2- Uzun başlangıç prednisolon rejimi

60mg/m²/gün, 4 hafta

40mg/m²/günaşırı, 4 hafta

Sonra her ay için %25 azaltma şeması ile devam edilir.

Ueda ve ark (3), bu iki rejimi karşılaştırmışlar ve 2 yıl sonunda uzun dönem steroid kullananlarda relaps olmayan %50 iken modifiye ISKDC rejiminde relaps görülmeyen %27,3 olarak bulunmuştur.

2.5.2.a. Başlangıç tedavisi

Nefrotik sendrom tanısı konulunca hızla steroid tedavisi başlanmaktadır. Başlangıç steroid tedavisi geciken hastalarda, 1-2 hafta içinde %5 hastada spontan remisyon görülebilmektedir (69). 1-10 yaş arası çocuklara, hipertansiyon, gross

hematüri veya ekstrarenal semptomlar olmadığında ve kompleman seviyesi normal olduğunda; nefrotik sendrom tanısı konulduğu zaman steroid tedavisi başlanır.

Çoğu olguda cevap 10-15 gün içinde görülür. ISKDC'e göre; yaklaşık %90 hastanın günlük steroid tedavisi ile 4 hafta içinde remisyona girmekte oysa %10'dan daha az hasta 2-4 hafta daha steroid tedavisi ile remisyona girmektedir. Daha az oranda hasta ise 8-12 hafta steroid tedavisi ile remisyona girmektedirler ancak uzatılmış steroid tedavisi ile steroid tedavisi altında 4-5 haftada yan etki riski artmaktadır (70, 71). 4 hafta sonra remisyona girmeyen hastalar için alternatif bir rejimde 3-4 kez pulse metilprednisolon verilmesidir. Bu rejimde uzatılmış günlük steroid alımından daha az yan etki görülmektedir ve bazı hastalar daha hızlı remisyona girmektedir (72).

Uzun prednison rejimi ile sık relaps olan çocukların sayıları azalmıştır. Relaps sıklığını azaltmada uzama süresi kümülatif steroid dozundan daha anlamlıdır. 7 aya kadar eklenen her ay için rölatif risk %13 azalmaktadır (73). 7 aydan daha uzun tedavi ile ilgili yararını gösterir herhangi bir bilgi yoktur.

2.5.2.b. Relaps tedavisi

Enfeksiyon var ise kontrol altına alınana kadar beklenir, sonra steroid başlanır.

I.protokol

-2 hafta 2 mg / kg /gün prednisolon (2 veya 3 dozda). (60 mg /m²/gün) (İlk iki haftada remisyona girmezse tedavi 4 haftaya uzatılır, Proteinüri negatifse gūnaşırı tedaviye geçilir)

Gūnaşırı tedavide:

- 2 hafta 1 mg / kg / gūnaşırı tek dozda
- 2 hafta 0,5 mg / kg / gūnaşırı tek dozda
- 2 hafta 0,25 mg / kg / gūnaşırı tek dozda

II-protokol

-2 hafta 2 mg / kg /gün prednisolon (1 veya 2 dozda). (60 mg / m² /gün)

İlk iki haftada remisyona girmezse tedavi 4 haftaya uzatılır, Proteinüri negatif olunca;

- 2 hafta 2 mg / kg / gūnaşırı
- 2 hafta 1 mg / kg / gūnaşırı tek dozda

-2 hafta 0,5 mg / kg / g naşıırı tek dozda

-2 hafta 0,25 mg / kg / g naşıırı tek dozda

ISKDC relapslarda, remisyona girinceye kadar 60 mg/m² /günlük, daha sonra 4 hafta g naşıırı prednisolon ile tedavi önermektedir. Çocuklarda özellikle enfeksiyonla birlikte relaps görülmektedir. Bu hastalarda düşük doz steroide yanıt alınma oranı fazla ise de uzun sürede tekrarlama riskine bağlı olarak ilaç yan etkileri açısından risk altındadırlar (73, 74).

2.5.2.c. Steroid yan etkileri

Uzamış steroid tedavisinin yan etkileri iyi bilinmektedir ve steroid bağımlı nefrotik sendromda sıklıkla görülmektedir. Büyüme geriliği, osteoporoz, katarakt, hipertansiyon, davranış değişiklikleri, cushingoid görünüm, obezite ve hiperglisemi iyi bilinen yan etkilerdir.

2.5.3. Steroid dirençli nefrotik sendrom tedavisi

Steroid tedavisine rezistans; 1 aylık 60 mg/m²/gün dozunda prednison tedavisine yanıt olmaması olarak tanımlanır (73). Bazı yazarlar 1-2 hafta süreyle pulse metilprednison tedavisini önermektedir (1 gr/1.73m²) (75). Bu rejim ile yan etki günlük prednison dozunu arttırmaktan daha az yan etki görülmektedir. Bu tedavi ile 1 hafta sonra proteinürinin persistansı steroid rezistansı olarak tanımlanmaktadır.

Pulse metilprednisolon tedavisi steroid rezistan NS'lu hastalarda Mendosa ve ark; tarafından önerilmiştir ve birçok merkezde sıklıkla kullanılmaktadır.

Metilprednisolon (30 mg/kg, IV) 2 hafta, g naşıırı,

8 hafta haftada bir,

8 hafta 2 haftada bir,

9 ay aylık

Sonra 6 ay 2 ay arayla oral prednisolon ile birlikte verilir.

Genel olarak steroid rezistan idiopatik nefrotik sendromun prognozu kötüdür, büyük oranda son dönem böbrek yetmezliğine ilerlemektedir.

2.5.4. Alternatif tedaviler

Alternatif tedaviler; steroid rezistan, steroid tedavisinin ciddi yan etkileri olan, toksisite riski olan çocuklar (diabet yada puberte), trombotik komplikasyonlarla birlikte relapslar, ciddi hipovolemi ve kötü kompliansı olan hastalarda endikedir.

Alternatif tedaviler; pulse metil prednisolon, levamisol, siklofosamid ve klorambusil gibi alkilleyici ajanlar, siklosporin A, MMF, azatiopurin gibi immünsupresan ilaçlar ve son yıllarda rituximab, plazmaferez ve immünadsorbsiyon gibi yöntemlerdir.

2.5.5. Siklosporin A

Kalsinörin inhibitörleri hücre içi binding proteinlere bağlanarak kalsiyum bağımlı sinyal yolağını bloke eder ve IL2 gen transkripsiyonunu inhibe eder. IL2 sentezinin inhibisyonu ile T lenfosit proliferasyonu inhibe olur (18). Siklosporin A immünolojik hasarı azaltarak, glomerular bazal membran permeabilitesini azaltarak ve GFR'yi azaltarak antiproteinürik etki yaratabilir (76).

Siklosporin A 1990'lardan beri NS tedavisinde kullanılmakta ve sık relaps ve SBNS'da %85'e varan yanıtlar bildirilmektedir. Steroid dirençli nefrotik sendromda Siklosporin A ile total remisyon oranları %25-87 gibi farklı oranlarda bildirilmiştir. Ancak ilacın kesilmesi ile relaps oranı %90'a ulaşmaktadır ve uzun süreli siklosporin A kullanımının da çeşitli yan etkileri bulunmaktadır. En önemli yan etkisi nefrotoksisitedir (%6-41). Nefrotoksiste interstisyel fibrozis, renal vazokonstrüksiyon ve GFR'da azalma ile oluşur (26,54). Hipertansiyon (%10-36), hirsutizm (%13-70), gingival hiperplazi (%22-32), glukoz intoleransı, tremor, hiperkalemi, hipomagnezemi, enfeksiyon riskinde artış ve malignensi riskinde artış gibi yan etkiler görülmektedir. Tedaviye rezistans %25-50 oranındadır ve tedaviye rağmen son dönem böbrek yetmezliği %20-50 oranında gelişebilir (77). Renal yetmezlik bildirilen hastaların çoğunluğu FSGS histolojisinde olduğu için hastalığın doğal seyrimi yoksa, siklosporine bağlı nefrotoksitenin neden olduğu bir renal yetmezlik mi olduğu tartışmalıdır (25, 78)

Son yıllarda yapılan çalışmalarda genetik mutasyonu olan bazı hastalarda siklosporin A ile kısmi remisyon görülmüş. Bunun nonimmün yolakla direkt podosit üzerine yaptığı etki ile olduğu ileri sürülmüştür. Sinaptopodin kalsinörin ilişkili

defosforilasyonunu bloke ederek podosit aktin hücre iskeletini stabilize ettiği ileri sürülmüştür (79).

2.5.6. Mikofenolat mofetil (MMF)

MMF inositol monofosfat dehidrogenaz enzim inhibisyonu ile de novo guanosin sentezini inhibe eder. T ve B hücreleri proliferasyonu inhibe olur (18). Ayrıca lenfosit ve monosit glikoproteinlerinin glikolizasyonu ile lökositlerin endotele adezyonunu engeller. MMF mikofenolik asitin bir ön ilacıdır. Oral alımından sonra hızla hidrolize olarak mikofenolik aside dönüşür (6). MMF'in aynı zamanda antifibrotik etkileri çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Anjiotensin II ve FGF azalarak vasküler düz kas proliferasyonunu inhibe eder. Hayvan çalışmalarında CsA sonrası MMF kullanımı ile renal fonksiyonlarda düzelme ve fibroziste azalma gösterilmiştir. Kan basıncının kontrolü ve lipid profilinde düzelme sağlamaktadır. TGF 1'i azalttığı CsA nefropatili hastalarda gösterilmiştir (80, 81).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda MMF ile ilgili olumlu sonuçlar bildirilmiştir (6-9, 80-86). Steroid, siklofosfamid ve siklosporine oranla daha az ve hafif yan etkiler bildirilmiş. Bazı çalışmalarda SDNS ve SBNS'lu hastalarda siklosporin A'ya oranla daha iyi sonuçlar bildirilmiştir. Ancak ilacın dozu alınması gereken süre diğer ilaçlarla olan etkileşimi ve bireysel farklılıklar farklı histolojik subtiplerde kullanımına ilişkin yeni randomize kontrolü ve geniş seride çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır (6).

Glomerulonefrit rat modellerinde MMF ile proteinüride azalma, kresent oluşumunda azalma ve glomeruloskleroza azalma gösterilmiştir. Makrofaj ve osteopontin ekspresyonunda inhibisyon gösterilmiştir (17).

2.5.7. Kombinasyon tedavileri

SDNS'da çeşitli immün supresifler kombinasyon tedavileri ve ACE inhibitörleri gibi antiproteinürik ilaçlar kullanılmaktadır ancak henüz etkin bir protokol yoktur. Siklosporin tedavisi uygulanan çocuklarda komplet ve parsiyel remisyon oranı günaşırı uzun dönem steroid + plasebo grupları ile karşılaştırıldığı metaanalizde siklosporin tedavisine iyi yanıt alındığı gösterilmiştir (87).

El-Reshaid ve ark (88); 21 sık relaps ve SDNS'lu hastada yaptıkları çalışmada kalsinörin inhibitörüne cevap vermeyen hastalara MMF ve bu

kombinasyona yanıt alınamayan hastalara siklofosfamid ve izlemde oral ve pulse steroid tedavisi kombine olarak kullanmışlar. Hastaların tümü tam remisyona girmiş ve minimum takip süresi 19 ay olarak bildirilmiştir.

Gellermann ve ark (7); 7 sık relaps nefrotik sendromlu çocukla yaptıkları bir çalışmada CsA tedavisi ile renal fonksiyonlarda azalma renal plazma akımında azalma gösterilmiş ve bu hastalara takipte MMF verilen 7 hastanın 6'sında relaps görülmezken 1 hastada relaps görülmüştür.

Prednizon ve AZA ve prednizon + plasebo ile yapılan karşılaştırmada iki grup arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır (89-91).

Enapril ile yapılan çalışmada enapril kullanılması ile proteinüride azalma ve serum albumin düzeyinde artış raporlanmıştır (25).

Balık yağı ve plasebo kullanılan çalışmalar arasında fark bulunmamıştır (90).

MMF ve CsA ile ilgili yapılan bir çalışmada siklosporin A ya bağlı nefrotoksisitenin azalmasında MMF'in yararlı etkileri gösterilmiştir (84).

Y.E.Baysal (11); ratlara adriamisin uygulaması sonrası nefrotik sendrom oluşturularak siklosporin, MMF, vitamin A, D, E ve NAS tedavide kullanılmış yapılan çalışma sonrasında en belirgin etkin tedavi şekli siklosporin ve vitamin A, D, E kullanılan grupta saptanmış. Ancak en çok yan etki siklosporin tedavisi alan grupta saptanmış. MMF alan grupta ise yan etkiler daha az ancak proteinüriyi azaltmada siklosporin kadar etkin olarak bulunmamıştır.

2.6. Prognoz

Hastaların üçte birinde steroide yanıt veren tek atak görülür. %10-20 hastada tedavi kesiminden sonra 3-4 ay sonra relaps görülür ve standart tedaviye yanıt veren 3-4 epizod görülür. %40-50 hasta steroid azaltılırken veya kesilince sık relaps görülür. Steroid bağımlı hastaların uzun dönem tedaviye ihtiyaçları vardır. Fakat eğer hastalar steroide yanıt verirse kronik böbrek yetmezliğine ilerleme riski minimaldir.

INS'da %10 oranında steroid rezistansı görülür. Başlangıçta remisyona girenlerin %1-3'ü steroid rezistan olabilir. Bunlar geç rezistan olarak tanımlanır. SDNS'luların SDBY'ne ilerleme riski %50'dir ve posttransplant rekürrens riski %20-50'dir. Rekürrens %50-80 greft kaybına neden olur. Mekahli ve ark (92);

steroid rezistan INS'lu hastalarda yaptıkları çok merkezli bir çalışmada 78 hastayı çalışmaya almışlar. İlk biopside MLNS %45, DMP %10 ve FSGS %42 sıklıkta saptanmış bu hastaların bazılarında 2. biopsi yapılmış ve MLNS'lu hastaların 14'ünün 7'sinde FSGS ve 1'inde DMP saptanmış DMP olan 3 hastanın 1'i FSGS olarak değerlendirilmiştir. Renal survival oranı bu çalışmada 5, 10, 15. yıllarda sırasıyla %75, %58, %53 olarak saptanmıştır. Bu çalışmada renal surviyi belirlemede başlangıç yaşının >10 olması dışında prediktör bir faktör tespit edilmemiştir (92).



3. AMAÇ

Adiamisin ile nefrotik sendrom oluşturulan ratlarda;

Siklosporin A tedavisi ile MMF tedavisinin etkinliği ve yan etkilerini karşılaştırmak,

Düşük doz siklosporin A tedavisi ile normal doz siklosporin tedavisinin etkinliği ve yan etkilerini karşılaştırmak,

Kombinasyon (düşük doz CsA ve MMF) tedavisi ile tek ilaç kullanılan tedavilerin etkinliği ve yan etkilerini karşılaştırmak.



4. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Wistar albino cinsi, erkek, erişkin 50 adet rat alındı. Tüm ratlar her grupta 10'ar rat olmak üzere 5 gruba ayrılarak numaralandırıldı.

Çalışma grupları;

Grup A: Adriamisin ile nefrotik sendrom oluşturulup tedavi verilmeyen grup.

Grup B: Adriamisin ile nefrotik sendrom oluşturulduktan sonra 25 mg/kg dozunda siklosporin A ile tedavi uygulanan grup

Grup C: Adriamisin ile nefrotik sendrom oluşturulduktan sonra 20 mg/kg/gün mikofenolat mofetil ile tedavi uygulanan grup

Grup D: Adriamisin ile nefrotik sendrom oluşturulduktan sonra düşük doz siklosporin A tedavisi uygulanan grup (10 mg/kg/g).

Grup E: Adriamisin ile nefrotik sendrom oluşturulduktan sonra düşük doz siklosporin A tedavisine mikofenolat mofetil tedavisi eklenen grup (kombine tedavi grubu).

Ratlar deney süresince normal rat yemi ve çeşme suyu ile beslendi. Diyet ve su kısıtlaması yapılmadı. Tüm ratlar ilk gün tartıldıktan sonra gruplara ayrılarak numaralandırıldı ve ilk gün metabolik kafeslere konularak 24 saatlik idrar örnekleri toplandı. 2. günde tüm ratlardan kan örnekleri alındı ve 2 mg/kg dozunda adriamisin eter anestezisi altında kuyruk veninden enjekte edildi ve 21. gün 2. doz adriamisin enjeksiyonu yapıldı.

Tüm ratlara tedaviler 2. doz adriamisin enjeksiyonu sonrasında 22. gün başladı.

Tüm ratların haftada bir kez ağırlıkları, ayda 1 kez hafif eter anestezisi altında kan basınçları ölçüldü. Tansiyon takipleri non-invazif bir yöntemle (tail-cuff) kuyruk arterlerinden ölçüldü. Kuyruğa takılan halka şeklindeki basınç probuyla alınan sinyaller MP 100A-CE veri toplama sistemi (BIOPAC Systems, CA-USA) ve MAY-BPHR200 ünitesi aracılığıyla bilgisayara aktarıldı ve ölçümler “Acknowledge” paket programıyla çizdirilen basınç traseleri üzerinden yapıldı. Tüm hayvanların deney öncesi bazal değerleri saptandıktan sonra kan basıncı takibine ayda 1 defa yapılan ölçümler ile deney sonuna kadar devam edildi. Her seferinde,

her rat için üç kez başarılı olarak ölçülen kan basıncı değerlerinin ortalamaları alınarak kaydedildi.

Kan ve 24 saatlik idrar örnekleri; adriamisin öncesi 0. hafta ve sonrasında da 4. ve 8. haftalarda alındı. Alınan serum ve idrar örnekleri -70 derecede çalışmanın sonuna kadar saklandı. Kan örneklerinden serum total protein, albumin, kreatinin, total kolesterol, trigliserit, total oksidan seviye (TOS) ve total antioksidan status (TAS) çalışıldı. 24 saatlik idrar örneklerinden ise total protein ve kreatinin çalışıldı. Elde edilen veriler ile kreatinin klirensi, idrar protein/ kreatinin oranı, 24 saatlik idrar proteini ve oksidatif stres indeksi hesaplandı.

Serum ve idrar kreatinin düzeyleri “rate-blanked and compensated” Jaffe yöntemi ile orijinal Roche kitleri kullanılarak, Modular PPP otoanalizöründe (Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim) ölçüldü. Serum total protein ve albumin düzeyleri, spektrofotometrik yöntemle orijinal Roche kitleri kullanılarak, Modular PPP otoanalizöründe (Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim) ölçüldü. Serum total kolesterol ve trigliserid düzeyleri, enzimatik spektrofotometrik yöntemle orijinal Roche kitleri kullanılarak, Modular PPP otoanalizöründe (Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim) ölçüldü. İdrar total protein düzeyleri turbidimetrik yöntemle, orijinal Roche kitleri kullanılarak, Modular PPP otoanalizöründe (Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim) ölçüldü. Serum Total Oksidan Status (TOS) analizi, Erel yöntemiyle, spektrofotometrik olarak yapıldı. Bu yöntemde; serumda mevcut bulunan oksidanlar, ferröz iyon-orto- dianizidin kompleksini ferrik iyonla dönüştürürler (93, 94). Ferrik iyonlar ise, asidik ortamda xylenele orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Oluşan renk yoğunluğu, örnekte mevcut oksidan moleküllerin miktarıyla orantılıdır ve spektrofotometrik olarak ölçülebilir. Bu yöntem, V-Twin otoanalizörüne (Dade Behring, Syva, Marburg, Germany) apliedilerek tüm ölçümler, otomatik olarak yapıldı. Serumda Total Antioksidan Status (TAS) analizi, Erel yöntemiyle, spektrofotometrik olarak yapıldı. Bu analizde, 1. reaktif içinde bulunan ferröz iyon solüsyonu, 2. reaktifte bulunan hidrojen peroksit ile karıştırılarak güçlü radikaller oluşturulur. Serum örneğinin bu radikaller üzerindeki antioksidan etkisi spektrofotometrik olarak ölçülebilir (93, 94). Bu yöntem, V-Twin otoanalizörüne (Dade Behring, Syva, Marburg, Germany) apliedilerek tüm ölçümler, otomatik olarak yapıldı.

Çalışma sonunda tüm ratlar sakrifiye edilerek böbrekleri çıkarıldı ve tartıldı. Daha sonra %6'lık nötral formalin ile fikse edilip, parafin ile kaplandı. Patoloji örnekleri; hematoxilen eozin, masson-trikrom, TGF-Beta, osteopontin boyamaları yapıldıktan sonra; GSİ (glomerulosklerotik indeks), İFS (interstisyel fibrozis skoru) skorları hesaplandı. TGF- β boyanmaları için intestisyum, OPN (osteopontin) boyanması için tubulüsler değerlendirildi. Lezyon glomerülün %25'inden azını kapsıyorsa 1(+), %25-50 2(+), %50-75 3(+), %75-100 4(+) olarak skorlandı. Glomerüler skleroz indeksi her örnek için 20 glomerülün toplam skorunun ortalaması alınarak hesaplandı. Örneğin 12 glomerülde 1(+), 1 glomerülde 2(+), 1 glomerülde 3(+) lezyon varsa ve 6 glomerülde hiç hasar yoksa toplam puan olan 17'nin 20'ye bölünmesiyle elde edilen 0.85, glomerüler skleroz indeksi olarak hesaplandı. Hasarlanma skoru hasar derecesinin [0'dan 4(+)’e] aynı derecede hasarlanmaya sahip glomerül yüzdesiyle çarpılması ile tespit edildi. Her doku örneği için final hasarlanma skoru ise bu skorların toplanması ile elde edildi. Örnekleme gerekirse bir doku örneğinde 20 glomerülün 9’unda 1(+), 1’inde 2(+) lezyon mevcutsa ve 10 glomerülde lezyon yoksa bu örnek için final hasarlanma skoru: $[(1 \times 9/20) + (2 \times 1/20) + (0 \times 10/20)] \times 100 = 55$ ’dir.

İnterstisyel fibrozis derecesi oküler grid kullanılarak standart nokta sayma metodu ile belirlendi. Işık mikroskopunun oküler parçasına 441 nokta içeren 21x21’lik bir oküler grid yerleştirildi, 40’lık büyütme ile Masson’s trichrom, TGF- β ve OPN ile boyalı alan üzerine düşen noktalar sayıldı. Biyopsi örneklerindeki interstisyel alanda kesişmeyen 10 ardı sıra bölgenin sonuçlarının aritmetik ortalaması interstisyel fibrozis skorlaması olarak hesaplandı.

Elde edilen tüm veriler Kruskal-Wallis, Mann-Whitney istatistik yöntemleri ile değerlendirildi. Ortalama, standart sapma değerleri hesaplandı. $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

5. BULGULAR

Çalışma 9 hafta sürdü, çalışma süresince siklosporin A grubundan 5, düşük doz siklosporin A grubundan 2 ve kombine tedavi grubundan 5 rat ex oldu. Çalışma süresi başlangıçta 16 hafta olarak planlanmıştı ancak rat kayıplarının fazla olması nedeni ile 9. haftada sonlandırıldı. Kaybedilen ratlar analizlere dahil edilmedi.

5.1. Ratların Ağırlık Takipleri

Grupların haftalık ağırlık ortalamaları ve $\pm$ SD değerleri (gram; gr) Çizelge 5.1’de verilmiştir. Ayrıca grupların kendi içerisinde ve gruplar arasında, haftalara göre, ağırlıklarının karşılaştırılması sonucundaki p değerleri yine Çizelge 5.1’de verilmiştir. Ratların ağırlık takipleri haftalık olarak yapıldı. 4. haftadan itibaren gruplar arasındaki farklar anlamlı olarak tespit edildi. 4. haftada MMF grubunda diğer gruplara oranla anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,003$, $p=0,012$, $p=0,006$ $p=0,005$). 8. haftada MMF grubunda yine diğer gruplara oranla anlamlı yüksek bulundu (A-B $p= 0,05$, C-D $p= 0,013$, A-C $p= 0,001$, C-E $p= 0,009$, B-C $p= 0,001$ B-D $p= 0,012$). CsA grubunda ise kombine tedavi grubu dışındaki gruplara göre anlamlı düşük bulundu.

5.2. Böbrek Ağırlıkları

Çalışma sonunda kurban edilen ratların böbrek ağırlıkları ortalamaları ve $\pm$ SD değerleri Çizelge 5.2’de verilmiştir ayrıca gruplar arasındaki böbrek ağırlık karşılaştırmaları ve p değerleri yine Çizelge 5.2’de verilmiştir. Ratların böbrek ağırlıkları MMF grubunda sadece CsA grubuna oranla anlamlı yüksek bulundu ($p=0,009$).

Çizelge 5.1. Grupların ağırlık verileri ile grup içi ve gruplar arası, haftalara göre karşılaştırılması (ort. ağırlık $\pm$ SD; gram).

HAFTA	Nefrotik sendrom (Grup A)	CsA (Grup B)	MMF (Grup C)	Düşük doz CsA (Grup D)	Kombine tedavi (Grup E)	p (gruplar arası)
Adriamisin öncesi (0. hafta)	295.2 $\pm$ 34,3	300,0 $\pm$ 42,2	326,5 $\pm$ 25,6	301,8 $\pm$ 37,0	286,6 $\pm$ 63.2	p>0,05
4. Hafta	297,5 $\pm$ 29,6	282,1 $\pm$ 35,7	348,5 $\pm$ 27,6	307 $\pm$ 35,8	291,5 $\pm$ 56,8	A-C= 0,003 B-C= 0,012 C-D= 0,006 C-E=0,005 Diğer; p>0.05
8. Hafta	302,2 $\pm$ 30,1	244,3 $\pm$ 55,7	368,4 $\pm$ 32,7	316 $\pm$ 41,8	269,6 $\pm$ 73,2	A-B= 0,05 C-D= 0,013 A-C= 0,001 C-E= 0,009 B-C= 0,001 B-D= 0,012 Diğer; p>0,05
p (grup içi; haftalar arası)	p>0,05	p>0,05	0-4. hf= 0,008 0-8. hf= 0,005 Diğer; p>0,05	0-4. hf=0,09 Diğer; p>0,05	p> 0,05	

Çizelge 5.2. Grupların böbrek ağırlıkları ve gruplar arası karşılaştırılması (mg)

Grup	Böbrek ağırlıkları		P gruplar arası
	Sağ böbrek	Sol böbrek	
Nefrotik sendrom (Grup A)	1,25±0,26	1,29±0,28	B-C=0,009 Diğer; p>0,05
CsA (Grup B)	1,04±0,13	1,05±0,13	
MMF (Grup C)	1,33±0,23	1,30±0,23	
Düşük doz CsA (Grup D)	1,10±0,22	1,09±0,22	
Kombine tedavi (Grup E)	1,23±0,27	1,20±0,29	

5.3. Sistolik Kan Basıncı Değerleri

Grupların haftalık ortalama sistolik kan basınçları ve $\pm$ SD değerleri (mmHg) Çizelge 5.3’de verilmiştir. Ayrıca grupların kendi içerisinde ve gruplar arasında, haftalara göre, sistolik kan basınçlarının karşılaştırılması sonucundaki p değerleri yine Çizelge 5.3’de verilmiştir. Ratların sistolik kan basınçları MMF tedavi grubu dışındaki tüm gruplarda 4. haftada bazal değerlere göre anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla $p=0,007$, $p=0,008$, $p=0,113$, $p=0,009$, $p=0,012$). Tedavisiz grupta anlamlı artış 8. haftada da devam etti ($p=0,037$). CsA ve MMF grubunda 4. haftadan 8. haftaya anlamlı düşme oldu ancak düşük doz CsA ve kombine tedavi grubunda anlamlı düşme olmadı ($p=0,043$, $p=0,017$, $p=0,123$, $p=0,686$). 8. haftada tüm tedavi gruplarında tedavi verilmeyen gruba oranla anlamlı düşük bulundu.

Çizelge 5.3. Grupların sistolik kan basıncı ölçümleri ile grup içi ve gruplar arası, haftalara göre karşılaştırılması (ort. sistolik TA $\pm$ SD; mmHg)

HAFTA	Nefrotik sendrom (Grup A)	CsA (Grup B)	MMF (Grup C)	Düşük doz CsA (Grup D)	Kombine tedavi (Grup E)	P gruplar arası
Adriamisin öncesi (0. hafta)	154,3 $\pm$ 9,75	155,20 $\pm$ 3,63	153,10 $\pm$ 9,01	148,87 $\pm$ 7,37	151,40 $\pm$ 5,50	p> 0,05
4. Hafta	167,8 $\pm$ 5,97	168,98 $\pm$ 2,20	156,80 $\pm$ 5,41	165,40 $\pm$ 4,86	164,06 $\pm$ 12,01	A-C= 0,001 C-D= 0,005 Diğer p> 0,05
8. Hafta	175,5 $\pm$ 6,79	164,48 $\pm$ 3,54	162,95 $\pm$ 4,97	162,22 $\pm$ 4,63	166,30 $\pm$ 1,62	A-B= 0,012 A-C= 0,001 A-D= 0,002 A-E= 0,02 Diğer p> 0,05
p (grup içi; haftalar arası)	0-4.hf= 0,007 0-8.hf= 0,005 4-8.hf= 0,037	0-4.hf= 0,008 0-8.hf= 0,042 4-8.hf= 0,043	0-4.hf= 0,113 0-8.hf= 0,009 4-8.hf= 0,017	0-4.hf= 0,009 0-8.hf= 0,012 4-8.hf= 0,123	0-4.hf= 0,012 0-8.hf= 0,043 4-8.hf= 0,686	

5.4. Diastolik Kan Basıncı Değerleri

Grupların haftalık ortalama diastolik kan basınçları ve $\pm$ SD değerleri (mmHg) Çizelge 5.4’de verilmiştir. Ayrıca grupların kendi içerisinde ve gruplar arasında, haftalara göre, diastolik kan basınçlarının karşılaştırılması sonucundaki p değerleri yine Çizelge 5.4’de verilmiştir. Tüm gruplarda 4. haftada 0. haftaya göre anlamlı yüksek bulundu ($p=0,007$, $p=0,013$, $p=0,005$, $p=0,017$, $p=0,008$). Tedavi sonrası düşük doz CsA ve kombine tedavi grubu dışındaki gruplarda anlamlı artış devam etti ($p=0,005$, $p=0,043$, $p=0,005$, $p=0,612$, $p=0,089$). 8. haftada tüm tedavi gruplarında tedavisiz gruba göre anlamlı düşük bulundu ($p=0,014$, $p=0,001$, $p=0,001$, $p=0,002$). 8. haftada tedavi grupları arasında en yüksek değer CsA tedavi grubundaydı ve diğer gruplara oranla anlamlı yüksek bulundu ($p=0,002$, $p=0,003$, $p=0,009$).

5.5. 24 Saatlik İdrar Hacimleri

Grupların haftalara göre 24 saatlik ortalama idrar hacimleri ve $\pm$ SD değerleri (mililitre; mL) Çizelge 5.5’de verilmiştir. Ayrıca grupların kendi içerisinde ve gruplar arasında, haftalara göre, ortalama idrar hacimlerinin karşılaştırılması sonucundaki p değerleri yine Çizelge 5.5’de verilmiştir. Ratların bazal idrar volümleri arasında anlamlı farklılıklar bulundu. A grubunda B, D ve E grubuna göre daha yüksek ($p=0,015$, $p=0,007$, $p=0,004$) ve C grubunda B ve E grubuna göre daha yüksek saptandı ($p=0,022$, $p=0,017$). Grup içi değerlendirmede sadece MMF ve düşük doz CsA tedavi grubunda tedavi sonrasında idrar volümünde anlamlı artış bulundu ($p=0,009$, $p=0,012$).

Çizelge 5.4. Grupların diastolik kan basıncı ölçümleri ile grup içi ve gruplar arası, haftalara göre karşılaştırılması (ort. diastolik TA $\pm$ SD; mmHg).

HAFTA	Nefrotik sendrom (Grup A)	CsA (Grup B)	MMF (Grup C)	Düşük doz CsA (Grup D)	Kombine tedavi (Grup E)	p (gruplar arası)
Adriamisin öncesi (0. hafta)	72,20 $\pm$ 10,8	65,30 $\pm$ 5,88	64,20 $\pm$ 6,69	65,62 $\pm$ 7,73	66,20 $\pm$ 4,94	p>0,05
4. Hafta	87,33 $\pm$ 5,79	80,51 $\pm$ 10,60	78,70 $\pm$ 6,84	80,67 $\pm$ 8,93	83,18 $\pm$ 10,39	p>0,05
8. Hafta	109,47 $\pm$ 7,50	98,76 $\pm$ 3,20	88,63 $\pm$ 5,65	82,63 $\pm$ 5,84	84,50 $\pm$ 4,70	A-B=0,014 A-D<0,001 A-C<0,001 A-E=0,002 B-C=0,002 B-D=0,003 B-E=0,009 Diğer p>0,05
p (grup içi; haftalar arası)	0-4.hf=0,007 0-8.hf=0,005 4-8.hf=0,005	0-4.hf=0,013 0-8.hf=0,043 4-8.hf=0,043	0-4.hf=0,005 0-8.hf=0,005 4-8.hf=0,005	0-4.hf=0,017 0-8.hf=0,012 4-8.hf=0,612	0-4.hf=0,008 0-8.hf=0,043 4-8.hf=0,089	

Çizelge 5.5. Grupların 24 saatlik idrar hacimleri ile grup içi ve gruplar arası haftalara göre karşılaştırılması (hacim; ml).

HAFTA	Nefrotik sendrom (Grup A)	CsA (Grup B)	MMF (Grup C)	Düşük doz CsA (Grup D)	Kombine tedavi (Grup E)	p (gruplar arası)
Adriamisin öncesi (0. hafta)	11,00±2,59	4,00±3,30	9,55±2,67	7,50±3,66	3,00±2,00	A-D=0,007 A-E=0,004 B-C=0,022 C-E=0,017 A-B=0,015 Diğer p> 0,05
4. Hafta	8,16±3,51	14,33±17,46	8,10±3,21	6,00±3,20	6,00±4,18	p>0,05
8. Hafta	10,38±4,67	12,83±11,68	13,75±6,77	13,25±13,25	12,80±4,08	p>0,05
p (grup içi; haftalar arası)	p>0,05	p>0,05	4-8.hf= 0,009	4-8.hf= 0,012	p>0,05	

5.6. Serum Albümin Düzeyleri

Grupların haftalara göre ortalama serum albümin düzeyleri (mg/dL) ve $\pm$ SD değerleri Çizelge 5.6'da verilmiştir. Yine grupların kendi içerisinde ve gruplar arasında, haftalara göre ortalama serum albümin düzeylerinin karşılaştırılması sonucundaki p değerleri Çizelge 5.6'da verilmiştir. Adriamisin sonrası serum albumin düzeyleri 0. haftaya göre anlamlı düşük saptandı. Tüm grupların 0., 4., 8., haftalardaki serum albumin değerleri arasında anlamlı fark tespit edilmedi. Grupların kendi içerisindeki değerlendirmede kombine tedavi grubu dışında çalışma sonuna kadar anlamlı düşüş tespit edildi.

5.7. Serum Total Protein Düzeyleri

Grupların haftalara göre ortalama serum total protein düzeyleri $\pm$ SD değerleri ile Çizelge 5.7'de verilmiştir. Ayrıca grupların kendi içerisinde ve gruplar arasında, haftalara göre ortalama serum total protein düzeylerinin karşılaştırılması sonucundaki p değerleri Çizelge 5.7'de verilmiştir. Serum total protein düzeyleri bazal değerleri tedavisiz grupta, CsA, MMF ve düşük doz CsA tedavi grubuna göre yüksek bulundu ($p=0,02$, $p=0,011$, $p=0,032$). 4. haftada CsA grubunda, tedavisiz grup, MMF ve düşük doz CsA tedavi gruplarından daha düşük bulundu ($p=0,048$, $p=0,005$, $p=0,019$). 8. haftada ise kombine tedavi grubunda tek başına MMF ve CsA grubuna göre yüksek bulundu ($p=0,031$, $p=0,044$). Ayrıca düşük doz CsA tedavi grubunda MMF ve CsA grubuna göre yüksek bulundu ($p=0,032$, $p=0,032$). Grupların kendi içerisinde karşılaştırmasında kombine tedavi grubu dışında 4. ve 8. haftalardaki ölçümlerde anlamlı düşme oldu sadece kombine tedavi grubunda tedavi sonrasındaki anlamlı düşme tespit edildi.

Çizelge 5.6. Grupların serum albümin düzeyleri ile grup içi ve gruplar arası haftalara göre karşılaştırılması (mg/dL).

HAFTA	Nefrotik sendrom (Grup A)	CsA (Grup B)	MMF (Grup C)	Düşük doz CsA (Grup D)	Kombine tedavi (Grup E)	p (gruplar arası)
Adriamisin öncesi (0. hafta)	4,23±0,23	4,21±0,19	4,14±0,25	4,19±0,26	4,20±0,20	p>0,05
4. Hafta	3,01±0,57	3,51±0,29	3,55±0,37	3,49±0,39	4,94±0,96	p>0,05
8. Hafta	1,84±0,37	1,81±0,43	2,34±0,52	2,19±0,70	2,20±0,24	p>0,05
p (grup içi; haftalar arası)	0-4.hf=0,005 0-8.hf=0,005 4-8.hf=0,005	0-4.hf=0,005 0-8.hf=0,028 4-8.hf=0,028	0-4.hf=0,012 0-8.hf=0,005 4-8.hf=0,005	0-4.hf=0,005 0-8.hf=0,012 4-8.hf=0,012	0-4.hf=0,74 0-8.hf=0,043 4-8.hf=0,043	

Çizelge 5.7. Grupların serum total protein düzeyleri ile grup içi ve gruplar arası haftalara göre karşılaştırılması (mg/dL).

HAFTA	Nefrotik sendrom (Grup A)	CsA (Grup B)	MMF (Grup C)	Düşük doz CsA (Grup D)	Kombine tedavi (Grup E)	p (gruplar arası)
Adriamisin öncesi (0. hafta)	7,18±0,47	6,96±0,23	6,87±0,23	6,90±0,39	7,02±0,41	A-B=0,02 A-C=0,011 A-D=0,032 Diğer p> 0,05
4. Hafta	6,15±0,38	5,91±0,32	6,29±0,29	6,30±0,39	6,05±0,39	A-B=0,048 B-C=0,005 B-D=0,019 Diğer p> 0,05
8. Hafta	5,60±0,66	5,16±0,55	5,31±0,44	5,72±0,26	5,86±0,28	B-D=0,032 B-E=0,044 C-D=0,032 C-E=0,031 Diğer p> 0,05
p (grup içi; haftalar arası)	0-4.hf=0,009 0-8.hf=0,005 4-8.hf=0,044	0-4.hf=0,005 0-8.hf=0,028 4-8.hf=0,046	0-4.hf=0,008 0-8.hf=0,005 4-8.hf=0,005	0-4.hf=0,008 0-8.hf=0,012 4-8.hf=0,011	0-4.hf=0,008 0-8.hf=0,043 4-8.hf=0,068	

5.8. Serum Kolesterol Düzeyleri

Grupların haftalara göre ortalama serum kolesterol düzeyleri $\pm$ SD değerleri ile Çizelge 5.8’de verilmiştir. Ayrıca grupların kendi içerisinde ve gruplar arasında, haftalara göre ortalama serum kolesterol düzeylerinin karşılaştırılması sonucundaki p değerleri Çizelge 5.8’de verilmiştir. Serum kolesterol değerleri bazal değerleri arasında gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı. 4. haftada tedavisiz grupta CsA ve MMF grubuna göre yüksek bulundu ($p=0,028$, $p=0,034$). Ayrıca CsA grubunda kombine tedavi grubuna göre daha düşük bulundu ($p=0,023$). B grubu (CsA) dışındaki gruplarda 4. haftada total kolesterol artışı anlamlı yüksekti. Ancak tüm gruplarda 8. haftada anlamlı artış devam etti. 8. hafta total kolesterol düzeyleri gruplar arasında fark bulunmadı.

5.9. Serum Triglicerit Düzeyleri

Grupların haftalara göre ortalama serum triglicerit düzeyleri (mg/dl) ile $\pm$ SD değerleri Çizelge 5.9’da verilmiştir. Yine grupların kendi içerisinde ve gruplar arasında, haftalara göre ortalama serum triglicerit düzeylerinin karşılaştırılması sonucundaki p değerleri Çizelge 5.9’da verilmiştir. Tüm gruplarda 0, 4 ve 8. haftalarda anlamlı fark tespit edilmedi. Kombine tedavi grubu dışında tüm gruplarda 4. haftada serum trigliseritinde anlamlı artış olmazken, kombine tedavi grubunda anlamlı artış oldu ($0,047$). 8. haftada ise diğer gruplarda anlamlı artış görülürken kombine grubunda anlamlı artış olmadı ($p=0,013$, $p=0,028$, $p=0,005$, $p=0,012$, $p=0,080$).

Çizelge 5.8. Grupların serum kolesterol düzeyleri ile grup içi ve gruplar arası haftalara göre karşılaştırılması (mg/dL).

HAFTA	Nefrotik sendrom (Grup A)	CsA (Grup B)	MMF (Grup C)	Düşük doz CsA (Grup D)	Kombine tedavi (Grup E)	p (gruplar arası)
Adriamisin öncesi (0. hafta)	81,10±9,50	69,66±6,02	78,80±9,12	76,62±9,12	76,40±7,53	p>0,05
4. Hafta	205,90±142,15	80,00±17,28	108,00±31,12	118,00±31,12	151,60±50,98	A-B=0,028 A-C=0,034 B-E=0,023 Diğer p> 0,05
8. Hafta	376,30±134,46	299,83±188,51	242,30±163,01	275,87±163,01	291,00±67,83	p>0,05
p (grup içi; haftalar arası)	0-4.hf=0,007 0-8.hf=0,005 4-8.hf=0,017	0-4.hf=0,053 0-8.hf=0,046 4-8.hf=0,046	0-4.hf=0,009 0-8.hf=0,007 4-8.hf=0,013	0-4.hf=0,005 0-8.hf=0,012 4-8.hf=0,012	0-4.hf=0,005 0-8.hf=0,043 4-8.hf=0,043	

Çizelge 5.9. Grupların serum trigliserit düzeyleri ile grup içi ve gruplar arası haftalara göre karşılaştırılması (mg/dL).

HAFTA	Nefrotik sendrom (Grup A)	CsA (Grup B)	MMF (Grup C)	Düşük doz CsA (Grup D)	Kombine tedavi (Grup E)	p (gruplar arası)
Adriamisin öncesi (0. hafta)	62,50±19,81	86,83±12,49	78,10±24,58	67,87±26,90	73,00±21,94	p>0,05
4. Hafta	100,70±59,05	80,00±32,69	80,30±25,73	46,12±26,38	127,60±112,33	p>0,05
8. Hafta	357,40±204,35	360,50±175,12	254,00±199,75	247,12±180,23	257,20±38,40	p>0,05
p (grup içi; haftalar arası)	0-4.hf=0,083 0-8.hf=0,007 4-8.hf=0,013	0-4.hf=0,799 0-8.hf=0,028 4-8.hf=0,028	0-4.hf=0,508 0-8.hf=0,017 4-8.hf=0,005	0-4.hf=0,508 0-8.hf=0,017 4-8.hf=0,012	0-4.hf=0,047 0-8.hf=0,043 4-8.hf=0,080	

5.10. Serum Kreatinin Düzeyleri

Grupların haftalara göre ortalama serum kreatinin düzeyleri (mg/dL) ve $\pm$ SD değerleri Çizelge 5.10'da verilmiştir. Ayrıca grupların kendi içerisinde ve gruplar arasında, haftalara göre ortalama serum kreatinin düzeylerinin karşılaştırılması sonucundaki p değerleri Çizelge 5.10'da verilmiştir. Bazal kreatinin değerleri tedavisiz grupta diğer gruplara göre anlamlı yüksek bulundu. 4. haftada ise CsA grubunda diğer gruplara göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p=0,001$, $p<0,001$, $p=0,007$, $p=0,028$). 8. hafta kreatinin değerleri gruplar arasında anlamlı fark görülmedi. Grupların kendi içerisindeki değerlendirmelerinde kombine tedavi grubunda haftalar arasında fark saptanmadı. Tedavisiz grupta 4. haftada anlamlı düşme oldu. CsA tedavi grubunda 4. haftada bazal değere göre anlamlı artış oldu ancak tedavi sonrası düşme anlamlı bulunmadı. MMF grubunda çalışma sonu değeri bazal ve tedavi öncesi değere göre anlamlı düşük bulundu. Düşük doz CsA grubunda tedavi sonrasında anlamlı düşme oldu.

5.11. İdrar Protein Düzeyleri

Grupların haftalara göre 24 saatlik ortalama idrar protein düzeyleri ($\text{mg}/\text{m}^2/\text{gün}$) ve $\pm$ SD değerleri Çizelge 5.11'de verilmiştir. Ayrıca grupların kendi içerisinde ve gruplar arasında, haftalara göre, ortalama idrar protein düzeylerinin karşılaştırılması sonucundaki p değerleri, yine Çizelge 5.11'de verilmiştir. Gruplar arasında 0, 4 ve 8. haftalarda anlamlı fark bulunmadı. Grupların kendi içerisindeki değerlendirmesinde tedavisiz grupta 4. haftada anlamlı düşme saptandı ($p=0,021$). CsA ve kombine tedavi grubunda anlamlı fark saptanmazken MMF ve düşük doz CsA tedavi grubunda tedavi sonrasında bazal değere göre anlamlı düşme saptandı ($p=0,005$, $p=0,025$).

Çizelge 5.10. Grupların serum kreatinin düzeyleri ile grup içi ve gruplar arası haftalara göre karşılaştırılması (mg/dL).

HAFTA	Nefrotik sendrom (Grup A)	CsA (Grup B)	MMF (Grup C)	Düşük doz CsA (Grup D)	Kombine tedavi (Grup E)	p (gruplar arası)
Adriamisin öncesi (0. hafta)	0,50±0,09	0,39±0,04	0,36±0,03	0,35±0,01	0,38±0,02	A-B=0,001 A-E<0,001 A-C<0,001 B-D=0,027 A-D<0,001 Diğer p> 0,05
4. Hafta	0,33±0,07	0,52±0,06	0,36±0,04	0,38±0,08	0,39±0,12	A-B=0,001 B-D=0,007 B-C<0,001 B-E=0,028 Diğer p> 0,05
8. Hafta	0,27±0,16	0,35±0,22	0,30±0,07	0,28±0,09	0,36±0,11	p>0,05
p (grup içi; haftalar arası)	0-4.hf=0,007 0-8.hf=0,011 4-8.hf=0,139	0-4.hf=0,008 0-8.hf=0,462 4-8.hf=0,249	0-4.hf=0,681 0-8.hf=0,013 4-8.hf=0,015	0-4.hf=0,260 0-8.hf=0,159 4-8.hf=0,012	p>0,05	

Çizelge 5.11. Grupların 24 saatlik idrar protein düzeyleri ile grup içi ve gruplar arası haftalara göre karşılaştırılması (mg/m²/gün).

HAFTA	Nefrotik sendrom (Grup A)	CsA (Grup B)	MMF (Grup C)	Düşük doz CsA (Grup D)	Kombine tedavi (Grup E)	p (gruplar arası)
Adriamisin öncesi (0. hafta)	18,04±9,54	6,52±4,90	16,27±5,58	12,39±4,42	4,40±3,41	p>0,05
4. Hafta	5,55±4,00	18,29±25,70	12,10±9,95	10,52±16,21	4,39±2,99	p>0,05
8. Hafta	10,45±10,61	8,79±7,25	8,87±4,35	6,84±2,32	5,78±2,00	p>0,05
p (grup içi; haftalar arası)	0-4.hf=0,021 0-8.hf=0,086 4-8.hf=0,445	p>0,05	0-4.hf=0,203 0-8.hf=0,005 4-8.hf=0,508	0-4.hf=0,878 0-8.hf=0,025 4-8.hf=0,575	p>0,05	

5.12. İdrar Protein/Kreatinin Düzeyleri

Grupların haftalara göre ortalama idrar protein/kreatinin oranları ile $\pm$ SD değerleri Çizelge 5.12’de verilmiştir. Yine grupların kendi içerisinde ve gruplar arasında, haftalara göre ortalama idrar protein/ kreatinin oranları değerlerinin karşılaştırılması sonucundaki p değerleri Çizelge 5.12’de verilmiştir. Bazal değerler arasında gruplar arası anlamlı fark bulunmadı. 4. haftada CsA tedavi grubunda tedavisiz grup ve kombine tedavi grubuna göre anlamlı yüksek bulundu ($p=0,007$, $p=0,002$). 8. hafta değerleri gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı. 4-8. haftalar arası karşılaştırmada tedavisiz grupta artış devam etti ancak anlamlı bulunmadı diğer grupları tümünde 4. haftaya göre düşme saptandı. Anlamlı düşme MMF ve düşük doz CsA grubunda tespit edildi ($p=0,047$, $0,012$). Diğer tedavi gruplarında istatistiksel anlamlı değişiklik saptanmadı.

5.13. Kreatinin Klirensi

Grupların haftalara göre ortalama kreatinin klirensleri (mL/dk/1,73 m^2) ile $\pm$ SD değerleri Çizelge 5.13’de verilmiştir. Yine grupların kendi içerisinde ve gruplar arasında, haftalara göre ortalama kreatinin klirensi değerlerinin karşılaştırılması sonucundaki p değerleri Çizelge 5.13’de verilmiştir. Gruplar arası ve grupların kendi içerisindeki karşılaştırmalarında anlamlı fark bulunmadı.

Çizelge 5.12. Grupların idrar protein/kreatinin oranları ile grup içi ve gruplar arası haftalara göre karşılaştırılması (mg/mg).

HAFTA	Nefrotik sendrom (Grup A)	CsA (Grup B)	MMF (Grup C)	Düşük doz CsA (Grup D)	Kombine tedavi (Grup E)	p (gruplar arası)
Adriamisin öncesi (0. hafta)	2,00±0,46	3,49±3,44	2,24±0,53	2,34±0,68	1,88±1,12	p>0,05
4. Hafta	0,77±0,60	3,17±1,15	1,70±1,47	1,55±2,06	0,73±0,52	A-B=0,007 B-E=0,002
8. Hafta	0,96±0,69	1,91±2,22	0,68±0,58	0,41±0,12	0,36±0,06	p>0,05
p (grup içi; haftalar arası)	0-4.hf=0,011 0-8.hf=0,008 4-8.hf=0,959	p>0,05	0-4.hf=0,333 0-8.hf=0,007 4-8.hf=0,047	0-4.hf=0,878 0-8.hf=0,012 4-8.hf=0,012	0-4.hf=0,007 0-8.hf=0,080 4-8.hf=0,225	

Çizelge 5.13. Grupların kreatinin klirensi değerleri ile grup içi ve gruplar arası haftalara göre karşılaştırılması (mL/dk/1,73m²).

HAFTA	Nefrotik sendrom (Grup A)	CsA (Grup B)	MMF (Grup C)	Düşük doz CsA (Grup D)	Kombine tedavi (Grup E)	p (gruplar arası)
Adriamisin öncesi (0. hafta)	3,59±3,10	4,84±4,50	2,84±2,82	4,32±3,19	4,39±2,13	p>0,05
4. Hafta	3,33±2,89	3,73±2,65	6,03±7,53	3,30±2,91	4,37±2,84	p>0,05
8. Hafta	4,59±3,32	5,90±4,32	8,88±11,13	4,91±2,47	3,03±0,34	p>0,05
p (grup içi; haftalar arası)	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	

5.14. Total Oksidn Status (TOS)

Grupların haftalara göre ortalama serum TOS düzeyleri ($\mu\text{mol/L}$) ve $\pm$ SD değerleri Çizelge 5.14’de verilmiştir. Yine grupların kendi içerisinde ve gruplar arasında, haftalara göre ortalama serum serum TOS düzeylerinin karşılaştırılması sonucundaki p değerleri Çizelge 5.14’de verilmiştir. TOS bazal değerleri tedavisiz grupta diğer gruplara göre anlamlı yüksek bulundu. 4. haftada en düşük değer düşük doz CsA grubunda ve diğer tedavi gruplarına göre anlamlı düşük bulundu. Ayrıca MMF grubunda kombine gruba göre anlamlı düşük bulundu. 8. haftada ise düşük doz CsA grubunda MMF, CsA ve tedavisiz nefrotik sendrom gruplarına göre anlamlı düşük bulundu. Ayrıca kombine grupta MMF grubuna göre anlamlı düşük bulundu. Gruplar kendi içerisinde karşılaştırıldığında 4. haftada 8. hafta ve 0. haftaya göre tüm gruplarda TOS değeri anlamlı düşük bulundu. Tedavi sonrası düşme sadece kombine tedavi grubunda oldu. Tüm gruplarda artma olmuş ancak sadece MMF grubunda anlamlı artış tespit edildi.

5.15. Total Antioksidan Status (TAS)

Grupların haftalara göre ortalama serum TAS düzeyleri ($\mu\text{mol/L}$) ve $\pm$ SD değerleri Çizelge 5.15’de verilmiştir. Yine grupların kendi içerisinde ve gruplar arasında, haftalara göre ortalama serum TAS düzeylerinin karşılaştırılması sonucundaki p değerleri Çizelge 5.15’de verilmiştir. Gruplar arası karşılaştırmada bazal değerlerde tedavisiz grup ve CsA gruplarında diğer gruplara göre anlamlı yüksek bulundu. 4. haftada gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı. Tedavi sonrasında ise düşük doz CsA grubunda MMF ve CsA grubuna göre anlamlı düşük bulundu. Grupları kendi içerisindeki karşılaştırmada tüm gruplarda 4. haftada başlangıca göre anlamlı düşme saptandı.

Çizelge 5.14. Grupların serum total oksidan status (TOS) düzeyleri ile grup içi ve gruplar arası haftalara göre karşılaştırılması (μmol/L).

HAFTA	Nefrotik sendrom (Grup A)	CsA (Grup B)	MMF (Grup C)	Düşük doz CsA (Grup D)	Kombine tedavi (Grup E)	p (gruplar arası)
Adriamisin öncesi (0. hafta)	50,15±23,49	25,67±4,99	26,35±12,29	28,14±9,54	24,24±9,16	A-B= 0,008 A-D=0,016 A-C=0,016 A-E=0,004 Diğer p> 0,05
4. Hafta	5,79±2,45	9,89±9,83	4,84±0,71	3,87±0,82	10,25±13,73	B-D=0,005 C-D=0,013 C-E=0,049 D-E=0,002 A-D=0,041 Diğer p> 0,05
8. Hafta	9,90±6,02	10,69±5,08	10,27±5,84	4,79±2,88	4,63±3,05	A-D=0,041 B-D=0,028 C-D=0,033 C-E=0,037 Diğer p> 0,05
p (grup içi; haftalar arası)	0-4.hf=0,005 0-8.hf=0,005 4-8.hf=0,059	0-4.hf=0,013 0-8.hf=0,028 4-8.hf=0,753	0-4.hf=0,005 0-8.hf=0,005 4-8.hf=0,009	0-4.hf=0,005 0-8.hf=0,012 4-8.hf=0,779	0-4.hf=0,013 0-8.hf=0,043 4-8.hf=0,500	

Çizelge 5.15. Grupların serum total antioksidan status (TAS) düzeyleri ile grup içi ve gruplar arası haftalara göre karşılaştırılması (μmol/L)

HAFTA	Nefrotik sendrom (Grup A)	CsA (Grup B)	MMF (Grup C)	Düşük doz CsA (Grup D)	Kombine tedavi (Grup E)	p (gruplar arası)
Adriamisin öncesi (0. hafta)	2,52±0,72	2,52±0,72	1,81±0,44	1,81±0,26	1,81±0,34	A-C=0,019 A-D=0,049 A-E=0,019 B-C=0,019 B-D=0,049 B-E=0,019 Diğer p> 0,05
4. Hafta	1,43±0,06	1,48±0,19	1,39±0,07	1,39±0,06	1,39±0,07	p> 0,05
8. Hafta	1,51±0,15	1,59±0,12	1,56±0,09	1,56±0,08	1,48±0,13	B-D=0,017 C-D=0,003 Diğer p> 0,05
p (grup içi; haftalar arası)	0-4.hf=0,005 0-8.hf=0,005 4-8.hf=0,074	0-4.hf=0,005 0-8.hf=0,028 4-8.hf=0,173	0-4.hf=0,022 0-8.hf=0,041 4-8.hf=0,013	0-4.hf=0,005 0-8.hf=0,012 4-8.hf=0,735	0-4.hf=0,009 0-8.hf=0,043 4-8.hf=0,225	

5.16. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Grupların haftalara göre ortalama serum OSİ değerleri ve $\pm$ SD değerleri Çizelge 5.16'da verilmiştir. Yine grupların kendi içerisinde ve gruplar arasında, haftalara göre ortalama serum OSİ değerlerinin karşılaştırılması sonucundaki p değerleri çizelge 5.16'da verilmiştir. OSİ değerleri gruplar arası karşılaştırmada bazal değerleri tedavisiz grupta diğer gruplara göre anlamlı yüksek bulundu. 4. haftada düşük doz CsA grubunda diğer tedavi gruplarına göre anlamlı düşük bulundu. 8. haftada gruplar arasında anlamlı fark yoktu. Grupların kendi içerisinde yapılan karşılaştırmada 4. hafta ve 8. hafta değerleri bazale oranla anlamlı düşük bulundu.

5.17. Histolojik Analiz Sonuçları

Çizelge 5.17'de tüm ratların değerleri, Çizelge 5.18'de ise grupların ortalama $\pm$ SD değerleri verilmiştir. Ayrıca grupların histopatolojik incelemelerinin karşılaştırmasına dair p değerleri, Çizelge 5.19'da verilmiştir.

5.17.a. Glomerüler skleroz indeksi (GSİ)

Glomeruloskleroz indeksi, CsA grubunda diğer gruplara göre anlamlı yüksek bulundu.

5.17.b. Total hasarlanma skoru (THS)

Total hasarlanma skoru (THS), CsA grubunda diğer gruplara göre anlamlı yüksek bulundu.

5.17.c. TGF- β ile boyanabilme derecesi

MMF tedavi grubunda, CsA tedavi grubuna göre anlamlı yüksek bulundu.

5.17.d. İnterstisyel fibrozis skoru (İFS)

Kombine tedavi grubunda MMF grubuna göre anlamlı düşük bulundu.

5.17.e. Osteopontin (OPN) ile boyanabilme derecesi

En düşük değer CsA grubunda bulundu ve diğer tedavi gruplarına göre anlamlı düşük saptandı.

Çizelge 5.16. Grupların oksidatif stres indexi (OSİ) grup içi ve gruplar arası haftalara göre karşılaştırılması.

HAFTA	Nefrotik sendrom (Grup A)	CsA (Grup B)	MMF (Grup C)	Düşük doz CsA (Grup D)	Kombine tedavi (Grup E)	p (gruplar arası)
Adriamisin öncesi (0. hafta)	1,90±0,41	1,40±0,17	1,40±0,38	1,47±0,29	1,30±0,28	A-B=0,007 A-C=0,023 A-D=0,019 A-E=0,002 Diğer p> 0,05
4. Hafta	0,39±0,15	0,61±0,49	0,34±0,04	0,29±0,06	0,42±0,10	B-D=0,013 C-D=0,023 D-E=0,003 Diğer p> 0,05
8. Hafta	0,63±0,32	0,67±0,30	0,64±0,33	0,34±0,20	0,36±0,19	p>0,05
p (grup içi; haftalar arası)	0-4.hf=0,005 0-8.hf=0,005 4-8.hf=0,074	0-4.hf=0,009 0-8.hf=0,028 4-8.hf=0,753	0-4.hf=0,005 0-8.hf=0,005 4-8.hf=0,009	0-4.hf=0,005 0-8.hf=0,012 4-8.hf=0,889	0-4.hf=0,005 0-8.hf=0,043 4-8.hf=0,686	

Çizelge 5.17. Ratların glomerüler skleroz indeksi (GSİ), total hasarlanma skoru (THS), interstisyel fibrozis skoru (İFS), TGF- β ve Osteopontin (OPN) ile boyanabilme değerleri.

GRUP	RAT	GSİ	THS	İFS	TGF- β	OPN
Nefrotik sendrom	A1	1,45	145	8,7	8	21,6
	A2	1	100	9,3	8,6	20,2
	A3	2,3	230	7,9	7,70	18,1
	A4	1,5	150	8,70	8,2	21,5
	A5	0,8	80	9,2	8,6	22,2
	A6	1,2	120	9,2		23,5
	A7	1,7	170	10,1	10,3	20,3
	A8	1,65	165	18	14	26,4
	A9	1,75	175	18,4	16,3	24,2
	A10	2	200	20	17,8	25,3
CsA	B4	2,5	250	8,4	8,3	21,3
	B5	1,9	190	9,6	8,7	21,9
	B6	2,1	210	11,4	10,8	21,3
	B8	2,25	225	9,1	8,2	20,6
	B9	1,75	175	9,5	8,2	20,6
	B10	2,3	230	11,1	10,1	21
MMF	C1	1,85	185	9,9	9,3	22,1
	C2	1,95	195	10,3	9,7	22,7
	C3	2	200	12,7	11,8	23,5
	C4	1,95	195	9,1	8,8	22,6
	C5	1,8	180	8,7	9,2	23,2
	C6	1,55	155	11,1	9,9	21,9
	C7	1,6	160	13,8	12,4	25,1
	C8	1,85	185	10,7	10,1	22,1
	C9	1,45	145	11,6	11,3	23,7
	C10	1,8	180	14,1	13,2	23,5
Düşük doz CsA	D1	1,95	195	13,8	12,7	24,3
	D2	1,75	175	9,8	9,4	24,1
	D3	1,55	155	7,8	10,3	22,4
	D5	1,45	145	8,6	8,2	22,6
	D7	1,75	175	9,3	9,1	22,1
	D8	2,3	130	10,8	11,3	22,9
	D9	1,15	115	8,7	8,3	22,4
	D10	1,9	190	9,2	9,3	22,3
Kombine tedavi	E1	1,85	185	8,6	9	22,9
	E2	1,25	125	10,8	10,4	23,4
	E3	1,9	190	7,9	10,7	23,2
	E8	1,55	155	10	10	22,5
	E10	1,7	170	8,3	7,9	23

Çizelge 5.18. Grupların histopatolojik inceleme verileri ve $\pm$ SD değerleri.

Histopatolojik inceleme	Grup	Ortalama	Ortanca	$\pm$ SD
Glomeruloskleroz indeksi	A (Nefrotik sendrom)	1,5350	1,5750	0,45157
	B (CsA)	2,1333	2,1750	0,27508
	C (MMF)	1,7800	1,7861	0,18589
	D (Düşük doz CsA)	1,7250	1,7500	0,34847
	E (Kombine tedavi)	1,6500	1,7000	0,26220
Total hasarlanma skoru	A (Nefrotik sendrom)	153,50	157,50	45,157
	B (CsA)	213,33	217,50	27,508
	C (MMF)	178,00	178,61	18,589
	D (Düşük doz CsA)	172,50	175,00	34,847
	E (Kombine tedavi)	165,00	17000	26,220
İnterstisyel fibrozis skoru	A (Nefrotik sendrom)	11,9500	9,2500	4,78545
	B (CsA)	9,8500	9,5500	1,16748
	C (MMF)	11,2000	10,9000	1,85592
	D (Düşük doz CsA)	9,7500	9,2500	1,86088
	E (Kombine tedavi)	9,1200	8,6000	1,22760
TGF- β ile boyanabilme	A (Nefrotik sendrom)	11,1800	9,4500	3,71836
	B (CsA)	9,0500	8,5000	1,12205
	C (MMF)	10,5700	10,5222	1,50411
	D (Düşük doz CsA)	9,8250	9,3500	1,54064
	E (Kombine tedavi)	9,6000	10,0000	1,14673
OPN ile boyanabilme	A (Nefrotik sendrom)	22,3300	21,9000	2,53949
	B (CsA)	21,1167	21,1500	0,49565
	C (MMF)	23,0400	22,9500	0,97205
	D (Düşük doz CsA)	22,8875	22,5000	0,84420
	E (Kombine tedavi)	23,0000	23,0000	0,33912

Çizelge 5.19. Grupların histopatolojik inceleme verilerinin karşılaştırıldığı p değerleri.

GRUPLAR	GSİ	THS	İFS	TGF-β	OPN
A - B	0,012	0,012	> 0,05	> 0,05	> 0,05
A - C	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
A - D	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
A - E	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
B - C	0,030	0,030	> 0,05	0,044	0,001
B - D	0,051	0,011	> 0,05	> 0,05	0,002
B - E	0,022	0,022	> 0,05	> 0,05	0,006
C - D	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
C - E	> 0,05	> 0,05	0,037	> 0,05	> 0,05
D - E	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

A:Nefrotik sendrom, B:CsA, C:MMF, D:Düşük doz CsA, E:Kombine tedavi

6. TARTIŞMA

Nefrotik sendrom çocuklarda sık görülen ve kronik böbrek yetmezliği nedenleri arasında ilk sıralarda yer alan nefrolojik hastalıklardan birisidir. Steroid dirençli nefrotik sendrom tedavisinde çeşitli tedaviler ve çok sayıda ilaç kullanılmasına rağmen halen etkin ve kesin bir tedavisi bulunmamaktadır. Ayrıca kullanılmakta olan ilaçların ciddi yan etkilerinin olması da yeni tedavi arayışlarına neden olmaktadır.

Siklosporin A nefrotik sendrom tedavisinde kullanılan etkin bir immünsupresif ilaç olmasına rağmen çeşitli yan etkileri ve tedavinin kesiminden sonra sık relaps görülmesi kullanımını kısıtlamaktadır. En önemli yan etkisi nefrotoksisitedir ve kullanımını sınırlayan en önemli faktördür. Mikofenolat mofetil son yıllarda yapılan çalışmalarda proteinüriyi azaltmada kısmen etkili bulunmuş, sınırlı sayıda ve daha az önemli yan etki bildirilmiştir. MMF'in aynı zamanda antifibrotik etkileri çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (80, 81). Anjiotensin 2 ve FGF'yi azaltarak vasküler düz kas proliferasyonunu inhibe eder. Hayvan çalışmalarında CsA sonrası MMF kullanımı ile renal fonksiyonlarda düzelme ve fibroziste azalma gösterilmiştir. MMF tedavisi kan basıncının kontrolü ve lipid profilinde düzelme sağlamaktadır (83, 84).

Shihab ve ark CsA nefropatili hastalara MMF eklenmesi ile fibrozisin önemli sitokinlerinden biri olan TGF 1'in azaldığını göstermişlerdir (95).

Steroid dirençli nefrotik sendromun halen etkin bir tedavisin olmaması yeni tedavi arayışlarına neden olmuş ve kombine tedaviler gündeme gelmiştir. Steroid ile ACE inhibitörleri ve diğer immünsupresiflerin kombinasyonu ile bazı çalışmalarda olumlu sonuçlar raporlanmıştır. Vitamin A, D, E ve NAS ile deneysel çalışmalarda olumlu sonuçlar bildirilmiştir. Ancak rutin kullanıma henüz girmemiştir (7, 11, 12, 84).

El-Reshaid ve ark'nın (88), 21 sık relaps ve SDNS'lu hastalarda yaptıkları bir çalışmada kalsinörin inhibitörüne cevap vermeyen hastalara MMF tedavisi ilave edilmiş. İkinci basamakta kalsinörin inhibitörü ve MMF kombinasyonuna yanıt alınamayan hastalara da siklofosfamid eklenmiş. İzlemde kalsinörin inhibitörü+ MMF+ siklofosfamid kombinasyonuna yanıt alınamayan hastalara oral ve pulse

steroid ekleyerek kullanılmış. Hastaların tümü tam remisyona girmiş ve minimum takip süresi 19 ay olarak bildirilmiştir.

Uliniski ve ark. (81), yaptıkları çalışmada siklosporin A'ya bağlı nefrotoksisite görülen steroid ve siklosporin A bağımlı ve sık relaps hastalarda MMF tedavisi sonrasında kreatinin klirensinde düzelme, ayrıca kozmetik yan etkilerde azalma, steroid dozunda azalma ve kan basıncı kontrolü gibi olumlu sonuçlar belirgin yan etki görülmeden sağlanmıştır.

Bizim çalışmamızda siklosporin A'nın dozunu azaltarak yan etkilerini azaltmak ve MMF ekleyerek etkinliğini arttırmayı amaçladık. Bu amaçla adriamisin ile nefrotik sendrom oluşturulan ratlarda, siklosporin A, MMF, düşük doz siklosporin A ve kombine tedavi gruplarında etkinlik ve yan etkilerini biyokimyasal ve patolojik olarak değerlendirdik.

Deneysel nefrotik sendrom oluşturmak için adriamisin 21 gün arayla 2mg/kg dozunda 2 doz kullandık. Bu doz toksisite görülmeden nefrotik sendrom oluşturulabilen doz olması nedeni ile seçilmiştir. Daha önce yapmış olduğumuz 3 çalışmada da aynı model kullanılmıştır (11, 12,13).

Adriamisin uygulaması sonrası 4. haftada tüm ratlarda nefrotik sendrom laboratuvar bulguları olan hipoproteinemi, hypoalbuminemi, hiperlipidemi gelişimini gösterdik. Ancak proteinüride artış gösterilemedi; ratların başlangıçta alınan idrar örneklerinden yapılan değerlendirmede proteüri değerleri 4. ve 8. haftalardaki değerlerden daha yüksek saptandı. Bunun nedeni ile ilgili olarak yapılan tüm işlemler; örneklerin elde edilmesi, saklanması çalışılması ve verilerin değerlendirilmesi aşamaları başlangıçtan itibaren tekrar gözden geçirildi ancak açıklayabileceğimiz herhangi bir neden bulunamadı. Ratların bu dönemde yaşamsal koşulları, beslenme ve sıvı alımlarında herhangi bir değişiklik yapılmamıştı. Elde edilen serum örnekleri nefrotik sendrom biyokimyasal bulgularını desteklemekteydi bu nedenle adriamisin uygulaması ile ilgili bir sorun düşünülmedi. Tüm nedenler gözden geçirildikten sonra herhangi bir neden bulunamadığı için açıklayamadığımız bir teknik hata olabileceği düşünüldü.

Çalışmada elde edilen önemli sonuçlar; serum proteinini ve kreatinini korumada MMF ve düşük doz CsA benzer başarılı etkiyi göstermesi, düşük doz CsA kullanımı ile oksidatif stres daha düşük tutulması ve kombine tedavi ile hiperlipideminin daha başarılı baskılanmasıdır. Ayrıca CsA, OPN ve TGFβ

salınımını arttırmadan nefrotoksik etki göstermiştir. MMF ile TGF β salınımı azalmamış ve fibroziste azalma gösterilememiştir.

Bu çalışmada MMF ve düşük doz CsA tedavisi alan grupta izlemde kilo artışı anlamlı bulundu ancak CsA ve kombine tedavi olan grupta kilo kaybı saptandı ancak istatistiki olarak anlamlı bulunmadı. Ayrıca bu gruplarda 5'er rat kaybı oldu ve bu ratlarda da belirgin kilo kayıpları gözlemlendi. Benzer şekilde Baysal ve ark.'nın (11) yaptıkları çalışmada da anlamlı kilo alımı gözlenmemiş ve CsA tedavisi alan grupta kilo kaybı bildirilmiştir. MMF grubunda ağırlık tedavi sonrası diğer gruplara göre anlamlı yüksek saptandı. Zoja ve ark. nın (96) ratlarda heyman nefriti oluşturarak yaptığı çalışma ile Erişir ve ark. nın (13) ratlarda adriamisin ile FSGS modelinde NS oluşturarak yaptığı çalışmalarda, haftalara göre ratlarda ağırlık artışı saptanmıştır. Ancak her iki çalışmada da tedavi grupları bizim çalışmamızdan farklıdır. Benzer çalışmada da bahsedildiği gibi bizim çalışmamızda da CsA tedavisi alan grupta belirgin kayıp görüldü ve CsA toksisitesi ile ilişkili olduğu düşünüldü.

Daha önce yapılan benzer iki çalışmada (11,12), tedavi grupları arasında böbrek ağırlıkları farklı bulunmamıştır. Bizim çalışmamızda ise sadece MMF grubunda CsA grubuna oranla anlamlı yüksek bulundu ($p=0,009$).

Okuda ve ark.'nın (10) adriamisin nefropatisi oluşturdukları deneysel çalışmada, rat sistolik kan basınçlarının 8.haftadan sonra yükseldiği ve sonrasında da kontrol grubuna göre yüksek seyrettiği saptanmıştır. Bizim çalışmamızda sistolik ve diastolik tansiyon değerlerinin anlamlı arttığını saptadık. Tedavi sonrası sadece düşük doz CsA ve kombine tedavi grubunda anlamlı artış devam etmezken, diğer gruplarda anlamlı artış devam etti.

Serum albumin değeri tüm gruplarda azaldı, ancak kombine tedavi grubunda 4. haftada anlamlı düşme görülmedi. Tedavi sonrası en iyi değer MMF tedavi grubunda saptandı. Ancak çalışmanın erken bitirilmesi tedavilerin etkinliklerini gözlemlemek için kısa süreli bir izlem olması nedeni ile veriler yeterli olmayabilir. Daha önce yapılan deneysel çalışmalarda tedavi sonrası takipte albuminde yeniden artış daha sonraki haftalarda (12, 16. haftalar) gözlemlenmiştir. Serum total protein değerinde ise tedavi sonrasında sadece kombine tedavi grubunda düşüş devam etmedi ve en iyi değer de bu grupta saptandı. Buradan yola çıkarak kombine tedavi ile serum total protein değerleri daha iyi korunabileceğini düşünebiliriz. Serum total

protein değerleri yüksekten düşüğe doğru sırasıyla; kombine tedavi> düşük doz CsA> tedavisiz kontrol> MMF> CsA olarak sıralanabilir.

Baysal ve ark (11) en düşük serum kreatinini, trigliserit ve kolesterol düzeylerini MMF ile vitamin ADE kombinasyonu alan grupta saptanmıştır. MMF tedavisine vitamin ADE kombinasyonu eklenmesinin böbrek fonksiyonları ve lipit profiline olumlu bir katkı sağladığı gösterilmiştir. Bizim alışmamızda ise serum total kolesterol değerleri en iyi MMF grubunda saptandı, ancak istatistiki olarak anlamlı bulunmadı. Baysal ve ark yaptığı çalışmaya benzer şekilde MMF grubunda daha iyi sonuç alınmıştır. Ayrıca alışma sonunda serum trigliserit değeri en iyi kombine grupta korunmuştur.

Blume ve ark. nın (97), ratlarda pasif heyman nefriti oluşturarak yapmış olduğu deneysel çalışmada, CsA ve MMF verilerek proteinüri ve serum kreatinin düzeyleri karşılaştırıldığında; her iki tedaviyi alan grupta da proteinüri azalmakla birlikte, serum kreatinin düzeylerinin CsA alan ratlarda daha yüksek olduğu grlmştir. Bizim alışmamızda serum kreatinin ve kreatinin klirensi, 4. haftada CsA grubunda diğer tedavi gruplarına göre anlamlı yüksek bulundu. Çalışma sonunda ise gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı. Çalışma sonunda en düşük değer tedavisiz kontrol grubunda idi. Baysal ve ark.'nın (11) yaptığı çalışmada CsA grubunda kreatininde artış olmuş ve nefrotoksisite ile ilişkili olabileceği dşnlmştir.

Takeda ve ark.'nın (17) yapmış olduğu deneysel bir çalışmada, kresentik glomerulonefrit oluşturulan ratlarda MMF verilmesiyle proteinüride belirgin düzelme saptanmıştır. Bu çalışmada ise proteinüri gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı. İdrar protein/ kreatinin oranı 4. haftada CsA grubunda tedavisiz kontrol ve kombine tedavi gruplarına göre anlamlı yüksek saptandı ($p=0,007$, $p=0,002$). Sekizinci haftada; idrar protein/kreatinin oranını, MMF ve düşük doz CsA gruplarında 4.haftaya göre anlamlı olarak azaldığı saptandı ($p=0.047$, $p=0.012$).

TOS tedavi sonunda en düşük değer kombine tedavi grubunda saptanmış olup MMF grubundan anlamlı düşük bulunmuştur ($p=0,037$). Düşük doz CsA alan grupta tedavisiz kontrol, CsA ve MMF grubuna göre anlamlı düşük saptanmıştır (sırasıyla $p=0,041$, $p=0,028$, $p=0,033$). Düşük doz CsA ve kombine tedavi ile TOS diğer tedavi gruplarından daha düşük bulunmuştur. 4. haftada oksidatif stres indeksi, düşük doz CsA grubunda diğer tedavi gruplarına göre anlamlı düşük saptanmıştır

($p= 0,013$, $p= 0,023$, $p=0,003$). Baysal ve ark.'nın (11) yaptıkları çalışmada, en düşük değer MMF grubunda saptanmış ancak bu çalışmada CsA dozu yüksek doz grubumuz ile aynıdır. Düşük doz CsA ve kombine tedavi grupları literatürde ilk kez bizim çalışmamızda oluşturulan gruplardır. Bu nedenle birebir karşılaştırma olanağı yoktur.

Romero ve ark. (98), 5/6 nefrektomize ederek böbrek yetmezliği oluşturdukları ratlarda, MMF'in renal hasarı azaltıcı etkilerini değerlendirmişler ve MMF alan ratlarda histopatolojik olarak renal hasarın belirgin olarak azaldığını göstermişlerdir.

Lim ve ark.'nın (16), CsA tedavisi alan NS'lu çocuklarda yapmış oldukları çalışmada, CsA tedavisi öncesi ve sonrasında OPN düzeyleri ile renal biopsi bulgularının değerlendirilmesi sonucunda; CsA'nın nefrotoksik etkisiyle oluşan renal mikrovasküler hasarla birlikte OPN salınımının arttığı gösterilmiştir. Takeda ve ark. (17), anti-GBM antikolları ile kresentik glomerulonefrit oluşturdukları ratlarda, MMF verilmesiyle glomerüller kresentlerin, glomerülosklerozun ve glomerüller OPN ekspresyonunun belirgin olarak azaldığını göstermişlerdir.

Yang ve ark (84), CsA sonrası interstisyel fibroziste MMF tedavisini kullandıkları ratlarda CsA toksisitesine MMF etkili bulunmamıştır. CsA tedavisi ile 10 hafta sonra kreatinin klirensinde anlamlı azalma saptanmıştır. MMF'in deneysel modellerde, kollajen depolanması ve renal hücrelerde proliferasyonu, TGF $\beta 1$, TNF alfa, interferon gama üretimini inhibe ettiğini gösterilmiştir (80, 81).

GSİ ve THS daha önce yapılmış deneysel çalışmalara benzer şekilde en yüksek normal doz CsA verilen grupta saptanmış olup CsA nefrotoksitesinin bir bulgusudur. İFS, MMF grubunda kombine tedavi grubuna göre anlamlı yüksek bulundu ($p= 0,037$). TGF β , MMF grubunda normal doz CsA grubuna göre anlamlı yüksek saptandı ($p=0,044$). OPN, normal doz CsA grubunda diğer tedavi gruplarından anlamlı düşük saptandı (sırasıyla $p=0,001$, $p=0,002$, $p=0,006$). Tüm bu sonuçlar diğer çalışmalardan farklı bulunmuştur. Ancak diğer gruplarda kaybedilen ratların olması ve bu ratların çalışmaya alınmamış olması kaybedilen ratların İFS, OPN ve TGF β ile boyanabilme sonuçlarının daha yüksek çıkabileceği varsayımına dayanarak belki de bu uyumsuzluğun nedenini açıklamak mümkün olacaktır.

Sonuç olarak bu çalışmada her grupta 10'ar rat olmak üzere 5 grup ile çalışmaya başlandı. Ancak CsA ve kombine tedavi gruplarında 5'er ve düşük doz CsA grubunda 2 rat olmak üzere toplam 12 rat kaybedildi. Rat kayıplarının fazla olması nedeni ile çalışma planlanan süreden daha erken sonlandırıldı. Rat kayıplarının CsA ve kombine tedavi grubunda yüksek olması immüsupresyonun bu gruplarda daha yoğun olması ile açıklanabilir. Sadece MMF kullanılan grupta hiç rat kaybının olmaması kabaca MMF ile belirgin bir toksisite görülmediğini düşündürmektedir. Elde edilen sonuçlarda serum proteinini ve kreatinini korumada MMF ve düşük doz CsA benzer başarılı etkiyi gösterirken, düşük doz CsA kullanımı ile oksidatif stres daha düşük tutulabileceği ve kombine tedavi ile hiperlipidemi daha başarılı baskılanabileceği söylenebilir. Ayrıca bu çalışmada daha önce yapılmış olan çalışmalardan farklı olarak CsA'nın, OPN ve TGF β salınımını arttırmadan glomeruloskleroz ve renal hasar oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir. MMF'in TGF β salınımı ve fibrozisi azalttığı ise gösterilememiştir. Ayrıca sistolik ve diastolik tansiyonu korumada düşük doz CsA ve kombine tedavi daha etkili bulunmuştur. Ancak çalışma süresinin kısa olması ve kaybedilen ratların sayıca fazla olması bu çalışmanın en önemli kısıtlayıcı faktörüdür. Gelecekte yapılacak çalışmalarda siklosporin A ve MMF'in dozlarının daha düşük uygulanarak daha uzun sürede yapılması ile daha sağlıklı sonuçlar alınabileceği düşünülmüştür.

7. SONUÇLAR

Adriamisin ile nefrotik sendrom oluşturulan ratlarda CsA, MMF, düşük doz CsA ve kombine tedavi (düşük doz CsA ve MMF) kullanımının etkinliği ve yan etkileri karşılaştırıldı.

1. Çalışma 16 hafta olarak planlanmıştı ancak rat kayıplarının fazla olması nedeni ile 9. haftada sonlandırıldı. CsA ve kombine tedavi gruplarında 5'er rat ve düşük doz CsA grubunda 2 rat olmak üzere toplam 12 rat ex oldu. Çalışmanın 4. haftasında hipoalbuminemi ve hipoproteinemi ile birlikte hiperlipidemi gösterildi. Ancak 4. haftada proteinüride artış gösterilemedi
2. Sekizinci haftada; idrar protein/kreatinin değerlerinin MMF ve düşük doz CsA gruplarında 4. haftaya göre anlamlı olarak azaldığı saptandı.
3. Serum total protein ve albumin değerleri kombine tedavi grubunda diğer gruplara göre daha iyi korundu. Ayrıca hiperlipidemi kontrolünde de kombine tedavi grubunda daha iyi sonuçlar bulundu.
4. Oksidatif hasar için en iyi sonuçlar, düşük doz CsA ve kombine tedavi gruplarında bulundu.
5. Serum kreatinin klirensleri arasında gruplar arasında anlamlı fark saptandı. Serum kreatini ise 4. haftada CsA grubunda diğer gruplardan yüksek saptandı
6. Histopatolojik değerlendirmede CsA grubunda GSI ve THS diğer tüm gruplara göre anlamlı yüksek saptadı. İFS, MMF grubunda kombine tedavi grubuna göre anlamlı yüksek bulundu. TGF beta, MMF grubunda CsA grubuna göre anlamlı yüksek saptandı. OPN, CsA grubunda diğer tedavi gruplarından anlamlı düşük saptandı.

Sonuç olarak; serum proteinini ve kreatinini korumada MMF ve düşük doz CsA benzer başarılı etkiyi gösterirken, düşük doz CsA kullanımı ile oksidatif stres daha düşük tutulabileceği ve kombine tedavi ile hiperlipideminin daha başarılı baskılabileceği söylenebilir. Ayrıca bu çalışmada daha önce yapılmış olan çalışmalardan farklı olarak CsA'nın, OPN ve TGF β salınımını arttırmadan glomeruloskleroz ve renal hasar oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir. MMF'in TGF β salınımı ve fibrozisi azalttığı ise gösterilememiştir. Ayrıca sistolik ve diastolik tansiyonu korumada düşük doz CsA ve kombine tedavi daha etkili bulunmuştur.

8. ÖZET

Nefrotik sendrom çocuklarda sık görülen ve kronik böbrek yetmezliği nedenleri arasında ilk sıralarda yer alan nefrolojik hastalıklardan birisidir. Steroid dirençli nefrotik sendrom tedavisinde çeşitli tedaviler ve çok sayıda ilaç kullanılmasına rağmen halen etkin ve kesin bir tedavisi bulunmamaktadır. Ayrıca kullanılmakta olan ilaçların ciddi yan etkilerinin olması da yeni tedavi arayışlarına neden olmaktadır.

Siklosporin A nefrotik sendrom tedavisinde kullanılan etkin bir immünsupresif ilaç olmasına rağmen çeşitli yan etkileri ve tedavinin kesiminden sonra sık relaps görülmesi kullanımını kısıtlamaktadır. En önemli yan etkisi nefrotoksisitedir ve kullanımını sınırlayan en önemli faktördür. Mikofenolat mofetil son yıllarda yapılan çalışmalarda proteinüriyi azaltmada kısmen etkili bulunmuş, sınırlı sayıda ve daha az önemli yan etki bildirilmiştir. Steroid dirençli nefrotik sendromun halen etkin bir tedavisinin olmaması yeni tedavi arayışlarına neden olmuş ve kombine tedaviler gündeme gelmiştir.

Bizim çalışmamızda siklosporin A'nın dozunu azaltarak yan etkilerini azaltmak ve MMF ekleyerek etkinliğini arttırmayı amaçladık. Bu amaçla adriamisin ile nefrotik sendrom oluşturulan ratlarda, siklosporin A, MMF, düşük doz siklosporin A ve kombine tedavi (düşük doz CsA ve MMF) gruplarında etkinlik ve yan etkilerini biyokimyasal ve patolojik olarak değerlendirdik.

Çalışmaya Wistar albino cinsi, erkek, erişkin her grupta 10'ar rat olmak üzere 50 adet rat alındı.

Çalışma grupları;

Grup A: Adriamisin ile nefrotik sendrom oluşturulup tedavi verilmeyen grup.

Grup B: Adriamisin ile nefrotik sendrom oluşturulduktan sonra 25mg/kg dozunda siklosporin A ile tedavi uygulanan grup

Grup C: Adriamisin ile nefrotik sendrom oluşturulduktan sonra 20 mg/kg/gün mikofenolat mofetil ile tedavi uygulanan grup

Grup D: Adriamisin ile nefrotik sendrom oluşturulduktan sonra düşük doz siklosporin A tedavisi uygulanan grup (10 mg/kg/g).

Grup E: Adriamisin ile nefrotik sendrom oluşturulduktan sonra düşük doz siklosporin A tedavisine mikofenolat mofetil tedavisi eklenen grup (kombine tedavi grubu).

Tüm ratlara 2. doz adriamisin enjeksiyonu sonrasında ilaç tedavileri 22. gün başlandı.

Tüm ratların haftada bir kez ağırlıkları, ayda 1 kez hafif eter anestezisi altında kan basınçları ölçüldü. Kan ve 24 saatlik idrar örnekleri; adriamisin öncesi 0. hafta ve sonrasında da 4. ve 8. haftalarda alındı. Alınan serum ve idrar örnekleri -70 derecede çalışmanın sonuna kadar saklandı. Kan örneklerinden serum total protein, albumin, kreatinin, total kolesterol, trigliserit, total oksidan seviye (TOS) ve total antioksidan status (TAS) çalışıldı. 24 saatlik idrar örneklerinden ise total protein ve kreatinin çalışıldı. Elde edilen veriler ile kreatinin klirensi, idrar protein/ kreatinin oranı, 24 saatlik idrar proteini ve oksidatif stres indeksi hesaplandı. Çalışma sonunda tüm ratlar kurban edilerek böbrekleri çıkarıldı ve tartıldı. Patoloji örneklerinde hematoxilen eozin, masson-trikrom, TGF-Beta, osteopontin boyamaları yapıldıktan sonra; GSİ (glomerulosklerotik indeks), İFS (interstisyel fibrozis skoru) skorları hesaplandı. TGF- β boyanmaları için interstisyum, OPN (osteopontin) boyanması için tubulüsler değerlendirildi.

Çalışma 16 hafta olarak planlanmıştı ancak rat kayıplarının fazla olması nedeni ile 9. haftada sonlandırıldı. CsA ve kombine tedavi gruplarında 5'er rat ve düşük doz CsA grubunda 2 rat olmak üzere toplam 12 rat ex oldu. Çalışmanın 4. haftasında hipalbuminemi ve hipoproteinemi ile birlikte hiperlipidemi gösterildi. Ancak 4. haftada proteinürde artış gösterilemedi. Sekizinci haftada; idrar protein/ kreatinin değerlerinin MMF ve düşük doz CsA gruplarında 4. haftaya göre anlamlı olarak azaldığı saptandı. Serum total protein ve albumin değerleri kombine tedavi grubunda diğer gruplara göre daha iyi korundu. Ayrıca hiperlipidemi kontrolünde de kombine tedavi grubunda daha iyi sonuçlar bulundu. Oksidatif hasar için en iyi sonuçlar, düşük doz CsA ve kombine tedavi gruplarında bulundu. Serum kreatinin klirensleri arasında gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı. Serum kreatini CsA grubunda diğer gruplardan yüksek saptandı. Histopatolojik değerlendirmede, CsA grubunda GSİ ve THS diğer tüm gruplara göre anlamlı yüksek saptadı. İFS, MMF grubunda kombine tedavi grubuna göre anlamlı yüksek bulundu. TGF beta, MMF

grubunda CsA grubuna göre anlamlı yüksek saptandı. OPN, CsA grubunda diğer tedavi gruplarından anlamlı düşük saptandı.

Sonuç olarak; serum proteinini ve kreatinini korumada MMF ve düşük doz CsA benzer başarılı etkiyi gösterirken, düşük doz CsA kullanımı ile oksidatif stres daha düşük tutulabileceği ve kombine tedavi ile hiperlipideminin daha başarılı baskılanabileceği söylenebilir. Ayrıca bu çalışmada daha önce yapılmış olan çalışmalardan farklı olarak CsA'nın, OPN ve TGF β salınımını arttırmadan glomeruloskleroz ve renal hasar oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca sistolik ve diastolik tansiyonu korumada düşük doz CsA ve kombine tedavi daha etkili bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Nefrotik sendrom, Siklosporin A, Mikofenolat mofetil.

9. ABSTRACT

Adriamycine Induced Nephrotic Syndrome in Rats Cyclosporine a and Mycophenolate Mofetil Combination Therapy

Nephrotic syndrome is one of the commonest nephrologic problems in children, a heading cause of chronic renal failure. Although many therapeutic options have been tried, a net effective treatment for steroid resistant nephrotic syndrome has not been found yet. Besides, serious side effects of available drugs trigger the need for search of new treatment options.

Though cyclosporine a is an effective immunesuppressive drug in the treatment of nephrotic syndrome, various side effects and frequent relaps rate after cessation of the treatment limit its use. Its most serious side effect is nephrotoxicity which is the most important factor limiting its use. Recent studies has pointed to somehow effectiveness in restricting proteinuria, also mycophenolate mofetil (MMF) less side effects. As there is not an enough effective treatment for steroid resistant nephrotic syndrome, new therapeutic options and combined therapies are now being discussed.

In this study, we aimed to decrease side effects of cyclosporine a by decreasing its dosage and increase its effectiveness by adding MMF to the treatment. Rats with nephrotic syndrome caused by adriamycine were divided into groups according to different treatment modalities which were cyclosporin a, MMF, low – dose cyclosporine a and combined therapy (low – dose CsA and MMF). Efficacy and side effects of these treatments were evaluated biochemically and pathologically.

50 Wistar albino type adult male rats, being 10 rats in each group, were included in the study.

Study groups were;

Group A: Rats with nephrotic syndrome caused by adriamycine who were not given any treatment.

Group B: Rats with nephrotic syndrome caused by adriamycine who were given 25 mg / kg cyclosporine a.

Group C: Rats with nephrotic syndrome caused by adriamycine who were given 20 mg / kg / day mycophenolate mofetil.

Group D: Rats with nephrotic syndrome caused by adriamycine who were given low – dose cyclosporine a (10 mg / kg / day).

Group E: Rats with nephrotic syndrome caused by adriamycine who were given low – dose cyclosporine a plus mycophenolate mofetil (combined regimen).

Treatments were initiated on the 22th day after the second injection of adriamycine.

Body weights of rats were measured once a week, blood pressures were measured once a month under minimal dose ether anesthesia. Blood and 24 hour urine samples were collected on 0th week (before injection of adriamycine), 4th and 8th weeks after injection of adriamycine. These samples were preserved at – 70 degree C till the end of the study. Blood samples were analysed for serum total protein, albumin, creatinine, total cholesterol, triglycerides, total oxidant status (TOS) and total anti – oxidant status (TAS). 24 hour urine samples were analysed for total protein and creatinine. Creatinine clearance, urine protein / creatinine ratio, 24 hour urine protein and oxidative stress index were calculated. At the end of the study, all the rats were sacrificed. Their kidneys were removed out and weighed. Pathology samples were examined after treating with hematoxylin eosin, masson – trichrome, TGF – Beta, osteopontine dyes, then GSI (glomerulosclerotic index), IFS (interstitial fibrosis score), total injury score (TIS) were calculated. Interstitium for TGF – Beta and tubules for OPN (osteopontine) were examined.

This study were designed to last for 16 weeks; however it was cessated on the 9th week due to some rat waste. A total of 12 rats (5 from both cyclosporine a and combined regimen groups, 2 from low – dose cyclosporine a group) died. On the 4th week, hypoalbuminemia and hypoproteinemia together with hyperlipidemia were detected. However, there was not an increase in proteinuria on the 4th week. On the 8th week, urine protein / creatinine ratio was found to be significantly lower in MMF and low – dose cyclosporine groups when compared to 4th week. Serum total protein and albumin levels were preserved better in combined regimen group compared to other groups. Control of hyperlipidemia was also easier in combined regimen group. Best results came from low – dose cyclosporine a and combined

regimen groups in means of oxidative injury. There was not a statistically significant difference between serum creatinine clearances of all groups. Serum creatinine level was higher in cyclosporine a group compared to the other groups. In histopathologic evaluation, GSI and TIS were found to be significantly higher in cyclosporine a group compared to the other groups. IFS was significantly higher in MMF group compared to combined regimen group. TGF – Beta was significantly higher in MMF group compared to cyclosporine a group. OPN was significantly lower in cyclosporine a group compared to the other groups.

In conclusion, MMF yields a similar effectivity with low – dose cyclosporine a in preserving serum protein and creatinine while low – dose cyclosporine a is limiting oxidative stress and combined therapy is controlling hyperlipidemia. This study has shown that cyclosporine a can cause glomerulosclerosis and renal injury without increasing the release of OPN and TGF – Beta which is opposite to literature. Also, low – dose cyclosporine a and combined therapy were found to be more effective in controlling both systolic and diastolic blood pressures.

Key Words: Nephrotic syndrome, Cyclosporine A, Mycophenolate mofetil.

10. KAYNAKLAR

1. Agrahar Kar M, Laura M. Nephrotic syndrome. Emedicine Topic 2007;1612-14.
2. Çocuk Nefroloji Derneği: Çocuklarda Nefrotik Sendrom. Çocuk hekimleri ve çocuk nefrologları için kılavuz kitapçık. 2006.
3. Consensus statement: management of idiopathic nephrotic syndrome in childhood. Cochrane Database.
4. Danovitch GM. Immunosuppressive medications and protocols for kidney transplantation. In: Danovitch GM (eds). Handbook of Kidney Transplantation, 3th ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2001: 62-110.
5. Hagar HH, El Etter E, Arafa M. Taurine attenuates hypertension and renal dysfunction induced by cyclosporine a in rats. Clin Exp Pharmacol Physiol 2006; 33: 189-96.
6. Moudgil A, Bagga A, Jordan SC. Mycophenolate mofetil therapy in frequently relapsing steroid-dependent and steroid-resistant nephrotic syndrome of childhood: current status and future directions. Pediatr Nephrol 2005; 20: 1376-81.
7. Gellermann J, Querfeld U. Frequently relapsing nephrotic syndrome: treatment with mycophenolate mofetil. Pediatr Nephrol 2004; 19: 101-4.
8. Sarneer O Huraib, Junaid I. Qureshi. Mycophenolat Mofetil (MMF) efficacy in glomerulonephritis a retrospective analysis. Saudi J Kidney Dis Transplant 2005; 16(1): 23-8.
9. Mendizabal S. Mycophenolat mofetil in steroid/cyclosporine-dependent/resistant nephrotic syndrome. Pediatr Nephrol 2005; 20 (16): 914-9.
10. 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: 502-10.
11. Yunus Emre Baysal, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik Nefroloji Yan Dal Uzmanlık Tezi, Antalya 2008.
12. Akman S, Kalay S, Akkaya B, Koyun M, Akbaş H, Baysal YE, Guven AG. Beneficial effect of triple treatment plus immunoglobulin in experimental nephrotic syndrome. Pediatr Nephrol 2009; 24(6): 1173-80.
13. Erisir S, Akbas H, Koyun M, Akman S. The efficiency of intraperitoneal high-dose immunoglobulin in experimental nephrotic syndrome. Pediatr Nephrol 2006; 21: 39-45.
14. Border WA, Noble NA. Cytokines in kidney disease; the role of transforming growth factor-b. Am J Kidney Dis 1993; 22: 105-13.

15. Xie Y, Sakatsume M, Nishi S, Narita I, Arakawa M, Gejyo F. Expression, roles, receptors, and regulation of osteopontin in the kidney. *Kidney Int* 2001; 60: 1645-57.
16. Lim BJ, Kim PK, Hong SW, Jeong HJ. Osteopontin expression and microvascular injury in cyclosporine nephrotoxicity. *Pediatr Nephrol* 2004; 19: 288-94.
17. Takeda S, Takahashi M, Sado Y, Takeuchi K, Hakamata Y, Shimizu H, et al. Prevention of glomerular crescent formation in glomerulonephritis by mycophenolate mofetil in rats. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 2228-36.
18. Bagga A, Mantan M. Nephrotic syndrome in children. *Indian J Med* 2005; 122: 13-28.
19. Şirin A. Nefrotik sendrom. *Temel Pediatri*, Hasanoğlu E, Düşünsel R, Bideci A (editörler). 1. baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri 2010: 898-901.
20. Eddy AA, Symons JM. Nephrotic syndrome in childhood. *Lancet* 2003; 362: 629-39.
21. Gordillo R, Spitzer A. The nephrotic syndrome. *Pediatrics in Review* 2009; 30: 94-105.
22. Van Den Berg JG, Weening JJ. Role of the immune system in the pathogenesis of idiopathic nephrotic syndrome. *Clinical Science* 2004; 107: 125-36.
23. Kalman S. Çocukluk çağında steroid dirençli nefrotik sendromda önemli bir neden olan fokal segmental glomerulosklerozda tedavi yaklaşımları. *Gülhane Tıp Dergisi* 2004; 46 (2): 183-8.
24. Vats Abhay N. Genetics of idiopathic nephrotic syndrome *The indian J of Pediatr* 2005; 72: 777-83.
25. Niaudet P, Boyer O. Idiopathic Nephrotic Syndrome in Children: Clinical Aspects. In: Avner ED, Harmon EW, Niaudet P, (eds): *Pediatric Nephrology*, 6th ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2009: 667-702.
26. Shalhoub RJ. Pathogenesis of lipoid nephrosis: a disorder of T-cell function. *Lancet* 1974; 2(7880): 556-60.
27. Garin EH. Circulating mediators of proteinuria in idiopathic minimal lesion nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2000; 14 (8-9): 872-8.
28. Ritz E. Pathogenesis of “idiopathic” nephrotic syndrome. *N Engl J Med* 1994; 330(1): 61-2.
29. Savin VJ, Sharma R, Sharma M, McCarthy ET, Swan SK, Ellis E, et al. Circulating factor associated with increased glomerular permeability to albumin in recurrent focal segmental glomerulosclerosis. *N Engl J Med* 1996; 334(14): 878-83.
30. Hoyer JR, Vernier RL, Najarian JS, Raij L, Simmons RL, Michael AF. Recurrence of idiopathic nephrotic syndrome after renal transplantation. *Lancet* 1972; 2(7773): 343-8.

31. Ali AA, Wilson E, Moorhead JF, Amlot P, Abdulla A, Fernando ON, et al. Minimal change glomerular nephritis. Normal kidneys in an abnormal environment? *Transplantation* 1994; 58(7): 849–52.
32. Lagrue G, Niaudet P, Guillot F, Lang P. Pregnancy and glomerulonephritis. *Lancet* 1989; 2(8670): 1037.
33. Zimmerman SW. Increased urinary protein excretion in the rat produced by serum from a patient with recurrent focal glomerular sclerosis after renal transplantation. *Clin Nephrol* 1984; 22(1): 32–8.
34. Sharma R, Sharma M, McCarthy ET, Ge XL, Savin VJ. Components of normal serum block the focal segmental glomerulosclerosis factor activity in vitro. *Kidney Int* 2000; 58(5): 1973–9.
35. Carraro M, Zennaro C, Candiano G, Musante L, Bruschi M, Ghiggeri GM, et al. Nephrotic urine prevents increased rat glomerular albumin permeability induced by serum from the same patient with idiopathic nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18(4): 689–93.
36. Heslan JM, Branellec AI, Pilatte Y, Lang P, Lagrue G. Differentiation between vascular permeability factor and IL-2 in lymphocyte supernatants from patients with minimal-change nephrotic syndrome. *Clin Exp Immunol* 1991; 86(1): 157–62.
37. Yap HK, Cheung W, Murugasu B, Sim SK, Seah CC, Jordan SC. Th1 and Th2 cytokine mRNA profiles in childhood nephrotic syndrome: evidence for increased IL-13 mRNA expression in relapse. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10(3): 529–37.
38. Wei CL, Cheung W, Heng CK, Arty N, Chong SS, Lee BW, et al. Interleukin-13 genetic polymorphisms in Singapore Chinese children correlate with long-term outcome of minimal-change disease. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20(4): 728–34.
39. Grimbert P, Audard V, Remy P, Lang P, Sahali D. Recent approaches to the pathogenesis of minimal-change nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18(2): 245–8.
40. Lorenzen J, Shah R, Biser A, Staicu SA, Niranjana T, Garcia AM, Gruenwald A, Thomas DB, Shatat IF, Supe K, Woroniecki RP, Susztak K. The role of osteopontin in the development of albuminuria. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19: 884–890.
41. Bakr A, Hassan SA, Shoker M, Zaki M, Hassan R. Oxidant stress in primary nephrotic syndrome: does it modulate the response to corticosteroids? *Pediatr Nephrol* 2009; 24: 2375–80.
42. Meadow SR, Sarsfield JK, Scott DG, Rajah SM. Steroid-responsive nephrotic syndrome and allergy: immunological studies. *Arch Dis Child* 1981; 56(7): 517–24.
43. Salsano ME, Graziano L, Luongo I, Pilla P, Giordano M, Lama G. Atopy in childhood idiopathic nephrotic syndrome. *Acta Paediatr* 2007; 96(4): 561–6.

44. Thomson PD, Barratt TM, Stokes CR, Soothill JF, Turner MW. HLA typing and atopic features in steroid sensitive nephrotic syndrome of childhood. *Monogr Allergy* 1977; 11: 60.
45. Laurent J, Rostoker G, Robeva R, Bruneau C, Lagrue G. Is adult idiopathic nephrotic syndrome food allergy? Value of oligoantigenic diets. *Nephron* 1987; 47(1): 7–11.
46. Audard V, Larousserie F, Grimbert P, Abtahi M, Sotto JJ, Delmer A, et al. Minimal change nephrotic syndrome and classical Hodgkin's lymphoma: report of 21 cases and review of the literature. *Kidney Int* 2006; 69(12): 2251–60.
47. Eagen JW. Glomerulopathies of neoplasia. *Kidney Int* 1977; 11 (5): 297– 303.
48. Lee JC, Yamauchi H, Hopper J, Jr. The association of cancer and thenephrotic syndrome. *Ann Intern Med* 1966; 64(1): 41–51.
49. Dede F, Ayli D, Atılgan KG, Yüksel C, Duranay M, Şener D, et al. Focal segmental glomerulosclerosis associating Kimura disease. *Ren Fail* 2005; 27(3): 353–5.
50. Nakahara C, Wada T, Kusakari J, Kanemoto K, Kinugasa H, Sibasaki M, et al. Steroid-sensitive nephrotic syndrome associated with Kimura disease. *Pediatr Nephrol* 2000; 14(6): 482–5.
51. Rajpoot DK, Pahl M, Clark J. Nephrotic syndrome associated with Kimura disease. *Pediatr Nephrol* 2000; 14(6): 486–8.
52. Cheung W, Ren EC, Chan SH, Gong WK, Yap HK. Increased HLA-A 11 in Chinese children with steroid-responsive nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2002; 17: 212- 216.53- Al-Eisa AA, Haider MZ, Srivasta BS. HLA-DRB1 alleles in Kuwaiti children with idiopathic nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2000; 15: 79-81.
54. Vande Walle JG, Donckerwolcke RA. Pathogenesis of edema formation in the nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2001; 16: 283-93.
55. Doucet A, Favre G, Deschenes G. Molecular mechanism of edema formation in nephrotic syndrome: therapeutic implications. *Pediatr Nephrol* 2007; 22(12): 1983–90
56. Wheeler DC, Varghese Z, Moarhead JF. Hyperlipidemia in nephrotic syndrome. *Am J Nephrol* 1989; 9(1); 78-84.
57. Cavagnaro F, Lagomarsino E. Peritonitis as a risk factor of acute renal failure in nephrotic children. *Pediatr Nephrol* 2000; 15 (3–4): 248–51.
58. VandeWalle J, Mauel R, Raes A, Vandekerckhove K, Donckerwolcke R. ARF in children with minimal change nephrotic syndrome may be related to functional changes of the glomerular basal membrane. *Am J Kidney Dis* 2004; 43(3): 399–404.
59. Ingulli E, Tejani A. Racial differences in the incidence and renal outcome of idiopathic focal segmental glomerulosclerosis in children. *Pediatr Nephrol* 1991; 5(4): 393–7.

60. Feinstein EI, Kaptein EM, Nicoloff JT, Massry SG. Thyroid function in patients with nephrotic syndrome and normal renal function. *Am J Nephrol* 1982; 2(2): 70–6.
61. Andrew M, Brooker LA. Hemostatic complications in renal disorders of the young. *Pediatr Nephrol* 1996; 10(1): 88–99.
62. Lilova MI, Velkovski IG, Topalov IB. Thromboembolic complications in children with nephrotic syndrome in Bulgaria (1974–1996). *Pediatr Nephrol* 2000; 15(1–2): 74–8.
63. Gulati S, Godbole M, Singh U, Gulati K, Srivastava A. Are children with idiopathic nephrotic syndrome at risk for metabolic bone disease? *Am J Kidney Dis* 2003; 41: 1163–9.
64. Alpay H, Yildiz N, Onar A, Temizer H, Ozcay S. Varicella vaccination in children with steroid-sensitive nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2002; 17(3):181–3.
65. Furth SL, Arbus GS, Hogg R, Tarver J, Chan C, Fivush BA. Varicella vaccination in children with nephrotic syndrome: a report of the Southwest Pediatric Nephrology Study Group. *J Pediatr* 2003; 142 (2): 145–8.
66. Donker AJ, Brentjens JR, van der Hem GK, Arisz L. Treatment of the nephrotic syndrome with indomethacin. *Nephron* 1978; 22(4–6): 374–81.
67. Velosa JA, Torres VE. Benefits and risks of nonsteroidal antiinflammatory drugs in steroid-resistant nephrotic syndrome. *Am J Kidney Dis* 1986; 8(5): 345–50.
68. Bak M, Serdaroglu E, Guclu R. Prophylactic calcium and vitamin D treatments in steroid-treated children with nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2006; 21(3): 350–4.
69. Tune BM, Mendoza SA. Treatment of the idiopathic nephrotic syndrome: regimens and outcomes in children and adults. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8(5): 824–32.
70. Nephrotic syndrome in children: prediction of histopathology from clinical and laboratory characteristics at time of diagnosis. A report of the International Study of Kidney Disease in Children. *Kidney Int* 1978; 13(2): 159–65.
71. Schlesinger ER, Sultz HA, Mosher WE, Feldman JG. The nephrotic syndrome. Its incidence and implications for the community. *Am J Dis Child* 1968; 116(6): 623–32.
72. Murnaghan K, Vasmant D, Bensman A. Pulse methylprednisolone therapy in severe idiopathic childhood nephrotic syndrome. *Acta Paediatr Scand* 1984; 73(6): 733–9.
73. The primary nephrotic syndrome in children. Identification of patients with minimal change nephrotic syndrome from initial response to prednisone. A report of the International Study of Kidney Disease in Children. *J Pediatr* 1981; 98(4): 561–4.
74. Brodehl J. Conventional therapy for idiopathic nephrotic syndrome in children. *Clin Nephrol* 1991; 35 (1): 8–15.

75. Niaudet P. Treatment of childhood steroid-resistant idiopathic nephrosis with a combination of cyclosporine and prednisone. French Society of Pediatric Nephrology. *J Pediatr* 1994; 125 (6 Pt 1): 981–6.
76. Desassis JF, Raats CJI, Bakker MAH, Born J, Berden JHM. Antiproteinuric effect of ciclosporin A in adriamycin nephropathy in rats. *Nephron* 1997; 75: 336–41.
77. Peña A, Bravo J, Melgosa M, Fernandez C, Meseguer C, Espinosa L, Alonso A, Picazo ML, Navarro M. Steroid-resistant nephrotic syndrome: long-term evolution after sequential therapy. *Pediatr Nephrol* 2007; 22: 1875–80.
78. El-Husseini A, El-Basuony F, Mahmoud I, Sheashaa H, Sabry A, Hassan R, Taha N, Hassan N, Sayed-Ahmad N, Sobh M. Long term effects of cyclosporine in children with idiopathic nephrotic syndrome: a single-centre experience. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 2433–8.
79. Malina M, Cinek O, Janda J, Seeman T. Partial remission with cyclosporine A in a patient with nephrotic syndrome due to NPHS2 mutation *Pediatr Nephrol* 2009; 24: 2051–3.
80. Morath C, Schwenger V, Beimler J, Mehrabi A, Schmidt J, Zeier M, Muranyi W. Antifibrotic actions of mycophenolic acid *Clin Transplant* 2006; 20(17): 25–9.
81. Ulinski T, Dubourg L, Saïd MH, Parchoux B, Ranchin B, Cochat P. Switch from cyclosporine A to mycophenolate mofetil in nephrotic children. *Pediatr Nephrol* 2005; 20: 482–5.
82. Day CJ, Cockwell P, Lipkin GW, Savage CO, Howie AJ, Adu D. Mycophenolate mofetil in the treatment of resistant idiopathic nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 2011–3.
83. Hogg RJ, Fitzgibbons L, Bruick J, Bunke M, Ault B, Baqi N, Trachtman H, Swinford R. Mycophenolate mofetil in children with frequently relapsing nephrotic syndrome: a report from the Southwest Pediatric Nephrology Study Group. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006; 1: 1173–8.
84. Yang CW, Ahn HJ, Kim WY, Li C, Kim HW, Choi BS, Cha JH, Kim YS, Kim J, Bang BK Cyclosporine withdrawal and mycophenolate mofetil treatment effects on progression of chronic cyclosporine nephrotoxicity. *Kidney International* 2002; 62: 20–30.
85. Montane B, Abitbol C, Chandar J, Strauss J, Zilleruelo G. Novel therapy of focal glomerulosclerosis with mycophenolate and angiotensin blockade. *Pediatr Nephrol* 2003; 18(8): 772–7.
86. Cattran DC, Wang MM, Appel G, Matalon A, Briggs W. Mycophenolate mofetil in the treatment of focal segmental glomerulosclerosis. *Clin Nephrol* 2004; 62(6): 405–11.
87. Habashy D, Hodson EM, Craig JC. Interventions for steroid-resistant nephrotic syndrome: a systematic review *Pediatr Nephrol* 2003; 18: 906–12.
88. El-Reshaïd K, El-Reshaïd W, Madda J. Combination of Immunosuppressive Agents in Treatment of Steroid-Resistant Minimal Change Disease and

- Primary Focal Segmental Glomerulosclerosis. *Renal Failure* 2005; 27: 523–30.
89. Abramowicz M, Barnett HL, Edelmann CM, Jr., Greifer I, Kobayashi O, Arneil GC, et al. Controlled trial of azathioprine in children with nephrotic syndrome. A report for the international study of kidney disease in children. *Lancet* 1970; 1(7654): 959–61.
 90. Barratt TM, Cameron JS, Chantler C, Counahan R, Ogg CS, Soothill JF. Controlled trial of azathioprine in treatment of steroid-responsive nephrotic syndrome of childhood. *Arch Dis Child* 1977; 52(6): 462–3.
 91. Durkan AM, Hodson EM, Willis NS, Craig JC. Immunosuppressive agents in childhood nephrotic syndrome: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Kidney Int* 2001; 59(5): 1919–27.
 92. Mekahli D, Liutkus A, Ranchin B, Yu A, Bessenay L, Girardin E, Van Damme-Lombaerts R, Palcoux JB, Cachat F, Lavocat MP, Bourdat-Michel G, Nobili F, Cochat P. Long-term outcome of idiopathic steroid-resistant nephrotic syndrome: a multicenter study. *Pediatr Nephrol* 2009; 24: 1525–32.
 93. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005; 38: 1103–11.
 94. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem* 2004; 37: 277–85.
 95. Shihab FS, Bennett WM, Yi H, Choi SO, Andoh TF. Mycophenolate mofetil ameliorates arteriolopathy and decreases transforming growth factor-beta1 in chronic cyclosporine nephrotoxicity. *Am J Transplant* 2003; 3(12): 1550–9.
 96. Zoja C, Corna D, Camozzi D, Cattaneo D, Rotalli D, Batani C, et al. How To Fully Protect the Kidney in a Severe Model of Progressive Nephropathy: A Multidrug Approach. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 2898–908.
 97. Blume C, Heise G, Hess A. Different effect of Cyclosporin A and mycophenolate mofetil on passive Heymann nephritis in the rat. *Nephron Exp Nephrol* 2005; 100: 104–12.
 98. Romero F, Rodriguez-Iturbe B, Parra GV. Mycophenolate mofetil prevents the progressive renal failure induced by 5/6 renal ablation in rats. *Kidney Int* 1999; 55: 945–55.