

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

**NEFROTİK SENDROMLU ÇOCUKLARDA STEROİDE
CEVABIN BELİRLENMESİNDE MDR-1, CYP3A5 VE CYP3A4
GEN POLİMORFİZMLERİNİN ETKİSİ**

**YAN DAL UZMANLIK TEZİ
Uzm. Dr. Aslıhan KARA**

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

**ELAZIĞ
2013**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan Orhan

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Erdal YILMAZ

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

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

Prof. Dr. Metin Kaya GÜRGÖZE

Danışman (Çocuk Nefroloji Bilim Dalı Başkanı)

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

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

TEŞEKKÜR

Yan dal uzmanlık eğitimim boyunca ilminden faydalandığım, insani ve ahlaki değerleri ile de örnek edindiğim, yanında çalışmaktan onur duyduğum ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı ve eğitimim süresince her konudaki desteğinden dolayı değerli hocam, sayın Prof. Dr. Metin Kaya Gürgöze' ye sonsuz teşekkür ederim. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'ndaki tüm hocalarıma, tezimin genetiğinin çalışılmasındaki katkılarından dolayı sayın Dr. Murat Kara'ya ve eğitimim sırasında gösterdikleri samimiyet ve yardımlarından dolayı asistan arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım. Beni her konuda destekleyen sevgili eşime ve beni yetiştiren çok değerli aileme sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET

Nefrotik sendrom, glomerüler kapiller duvarda yarı geçirgenliğin bozulması sonucu idrarla protein kaybı ile karakterize; yoğun proteinüri, hipoalbuminemi, hiperlipidemi ve ödemin görüldüğü çocukluk çağıının kronik bir hastalığıdır. Nefrotik sendrom klinik olarak genellikle tedavisinde kullanılan steroid cevabına göre sınıflandırılmaktadır. Steroid direnci gelişmesinde daha çok glomerüler kapiller duvar proteinlerinin gen mutasyonları suçlanmakta ise de, mutasyon taşıyan hastaların bir kısmı steroid tedavisine iyi yanıt verebilmektedir. Bu nedenle steroid direncinde diğer faktörlerin etkilerini araştırmak gerekmektedir. Bu çalışma nefrotik sendromlu çocuklarda steroide yanıtını değerlendirmede ilaç eliminasyonundan sorumlu MDR 1, CYP3A5 ve CYP3A4 gen polimorfizmlerinin etkili bir faktör olup olmadığını belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Çalışmaya Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Pediatrik Nefroloji polikliniği tarafından nefrotik sendrom tanısı ile izlenen 53 hasta ve kontrol grubu olarak 22 sağlam çocuk dahil edildi. Hastaların demografik verileri, klinik durumları, laboratuvar değerleri ve kullanılmış olan tedavi rejimlerine ait bilgiler kaydedildi. Tüm hastaların podosin ve nefrin mutasyonları, MDR-1, CYP3A4 ve CYP3A5 polimorfizmleri, almış olduğu tedaviler ve bu tedavilere yanıtları, relaps sayısı, böbrek yetmezliği varlığı ve biyopsi sonuçları değerlendirildi.

Nefrotik sendrom olguları ve kontrol grubu hastalarının yaş ve cinsiyet açısından aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0,05$). Cinsiyet dağılımına bakıldığında steroide dirençli grupta kızların daha fazla olduğu saptandı ($p<0,05$). Steroide dirençli grupta serum üre ve kreatin değerleri duyarlı gruba göre anlamlı olarak daha yüksekti. Steroide dirençli hastaların tümünde podosin mutasyonu saptanırken, steroide yanıtı hastaların 40'ında (%88,9) mutasyon saptandı. Benzer şekilde nefrin mutasyonu da steroide dirençli hastaların tümünde saptanırken, steroide yanıtı hastaların 38'inde (%84,4) saptandı ($p>0,05$). Ancak steroid direncinde podosin ve nefrin mutasyonların istatistiksel olarak anlamlı bir etki yapmadığı görüldü ($p>0,05$). Ayrıca, steroide cevabın belirlenmesinde MDR-1, CYP3A5 ve CYP3A4 gen polimorfizmlerinin etkisi değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı.

Sonuç olarak, nefrotik sendrom tedavisinde steroid direncinin gelişmesinde glomerüler kapiller duvar proteinlerin gen mutasyonları ile birlikte ilaç eliminasyonundan sorumlu genlerin de etkili olmadığı belirlendi. Nefrotik sendromda tedavi cevapsızlığının çok faktörlü olduğu ve uygun tedavi modelinin geliştirilebilmesi için hastalık patogenezi açıklayacak araştırmalara ihtiyaç olduğu görüldü.

Anahtar Kelimeler: Nefrotik sendrom, steroid, MDR-1, CYP3A4, CYP3A5

ABSTRACT

THE EFFECT OF MDR-1, CYP3A5 AND CYP3A4 GENE POLYMORPHISMS IN DETERMINING STEROID RESPONSE IN CHILDREN WITH NEPHROTIC SYNDROME

Nephrotic syndrome, is a chronic disease of childhood which is characterized by a protein loss with the urine and hypoalbuminemia, hyperlipidemia and edema that can be seen as a result of impairment of the glomerular capillary wall semi permeability. Nephrotic syndrome is clinically classified according to the responsiveness to oral steroid treatment, which is the first line therapy of the disease. Although genetic mutations of glomerular capillary wall proteins are blamed in the development of steroid resistance, some patients who carry these mutations can respond well to steroid treatment. Therefore, effects of other factors should be also investigated in the case of steroid resistance. In this study, we aimed to determine MDR 1, CYP3A5 and CYP3A4 gene polymorphisms which are responsible for drug elimination, whether or not the effect factor of steroid response in children with nephrotic syndrome.

A total of 53 children diagnosed with nephrotic syndrome by the Pediatric nephrology department of Firat University Medical Faculty and 22 healthy children who have neither chronic nor renal disease were enrolled in this study. Demographic characteristics, clinical states, laboratory values and information about treatment regimens of the patients were recorded. Podocin and nephrin mutations, MDR-1, CYP3A4 and CYP3A5 polymorphisms, treatment regimens and response to these regimes, number of relapses, presence of renal failure, and biopsy results were evaluated in all patients.

There wasn't as statistically significant difference between the patients with nephrotic syndrome and control group in terms of age and gender ($p>0,05$). Considering the distribution of gender, female gender was more frequent in the steroid-resistant group ($p <0.05$). Serum urea and creatinine values were significantly higher in steroid-resistant group than steroid-responsive group. While podocin mutation was detected in all patients with steroid-resistant group, 40 patients had mutations in the steroid-responsive group (88,9%). Similarly, nephrin mutations were detected in all patients in the steroid-resistant group, and 38 patients had

mutations in the steroid-responsive group (84,4%) ($p > 0.05$). However, we found that podocin and nephrin mutations have not a statistically significant effect in the steroid resistance ($p > 0.05$). In addition, there wasn't as statistically significant relationship between MDR-1, CYP3A5 and CYP3A4 gene polymorphisms and steroid responsiveness.

As a result, both gene of glomerular capillary wall proteins and genes which are responsible for drug elimination was determined to be ineffective in the development of resistance to steroids in nephrotic syndrome treatment. We thought that resistance to treatments in nephrotic syndrome was multifactorial and it will be required more studies which are elucidated pathogenesis of the disease for a constitution of convenient treatment models.

Key Words: Nephrotic syndrome, steroid, MDR-1, CYP3A4, CYP3A5

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
TABLO LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
KISALTMALAR LİSTESİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Nefrotik Sendrom Tanımı ve Nedenleri	1
1.2. Epidemiyolojisi	5
1.3. Klinik ve Laboratuvar Bulguları	5
1.4. Patogenez	7
1.5. Komplikasyonlar	13
1.6. Tedavi	14
1.6.1. Semptomatik Tedavi	14
1.6.2. Spesifik Tedavi	16
1.6.3. Relaps Tedavisi	17
1.6.4. Alternatif Tedaviler	17
1.6.5. Steroide rezistan INS tedavisi	17
1.7. Steroid	22
1.8. Genetik Polimorfizm	24
1.9. Çoklu ilaç direnç-1 (MDR-1) geni = ABCB geni	25
1.10. Sitokrom p450 (CYP) enzimleri	27
1.10.1. CYP3A enzimleri	28
1.10.1.1. CYP3A4	29
1.10.1.2. CYP3A5	30
1.11. Amaç	30
2. GEREÇ VE YÖNTEM	32

2.1. İstatistiksel analizler	41
3. BULGULAR	42
4. TARTIŞMA	55
5. KAYNAKLAR	62
6. ÖZGEÇMİŞ	74

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Nefrotik sendromun histopatolojik sınıflaması	3
Tablo 2.	Nefrotik sendroma neden olan genetik bozukluklar	12
Tablo 3.	Olguların Demografik Özellikleri	42
Tablo 4.	Olguların başvuru bulguları	43
Tablo 5.	Steroid tedavisine yanıtına göre olguların demografik verileri	44
Tablo 6.	Nefrotik Sendrom hastalarının laboratuvar bulguları	45
Tablo 7.	Nefrotik Sendrom olgularının böbrek biyopsi sonuçları	46
Tablo 8.	Olguların nefrin ve podosin sonuçları	46
Tablo 9.	Olguların nefrin ve podosin sonuçları ile biyopsi sonuçlarının karşılaştırılması	47
Tablo 10.	Polimorfizmlerin gruplar arasında karşılaştırmalı sonuçları	48
Tablo 11.	MDR-1, CYP3A5 polimorfizmlerinin gruplar arasında karşılaştırmalı sonuçları	49
Tablo 12.	Nefrotik sendrom ve kontrol grubu hastalarında MDR-1 gen polimorfizminin ve allel frekansının karşılaştırılması	51
Tablo 13.	Nefrotik sendrom ve kontrol grubu hastalarında CYP3A5 gen polimorfizminin ve allel frekansının karşılaştırılması	52
Tablo 14.	Steroide duyarlı ve dirençli hastalarda MDR-1 gen polimorfizminin ve allel frekansının karşılaştırılması	53
Tablo 15.	Steroide duyarlı ve dirençli hastalarda CYP3A5 gen polimorfizminin ve allel frekansının karşılaştırılması	54

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Podositlerin elektron mikroskopik görünümü	9
Şekil 2.	Kortikosteroidlerin hücresel moleküler etki mekanizması	22
Şekil 3.	MDR1 geninin lokalizasyonu	26
Şekil 4.	Enzimlerin isimlendirilmesi	27
Şekil 5.	CYP enzimlerinin ilaç metabolizmasına katkıları	28
Şekil 6.	CYP3A4 geninin lokalizasyonu	30
Şekil 7.	CYP3A5 geninin lokalizasyonu	30
Şekil 8.	36 numaralı nefrotik sendromlu hastanın rs1045642 SNP'ye ait dağılım grafiği	37
Şekil 9.	36 numaralı NS hastasının rs41303343 SNP'ye ait dağılım grafiği	39
Şekil 10.	36 numaralı NS hastasının rs12721629 SNP'ye ait dağılım grafiği	40

KISALTMALAR LİSTESİ

ABCB1	Adenosine triphosphate-binding cassette B1
ABY	Akut böbrek yetmezliği
ACEİ	Anjiotensin konverting enzim inhibitörleri
ANA	Antinükleer antikor
ARB	Anjiotensin reseptör blokerleri
ASH	Antijen Sunan Hücreler
ATIII	Antitrombin III
BUN	Kan üre azotu
CsA	Siklosporin A
CYP	Sitokrom p450
DMS	Diffüz mezengiyal skleroz
FSGS	Fokal segmental glomerüloskleroz
GBM	Glomerül bazal membran
GFR	Glomerül filtrasyon hızı
GK	Glukokortikoid
GR	Glukokortikoid reseptörü
HDL	Yüksek dansiteli lipoprotein
HT	Hipertansiyon
IMPDH	inosin monofosfat dehidrogenaz
IL	İnterlökin
INF-γ	İnterferon- γ
ISKDC	International Study of Kidney Disease in Children
İNS	İdiopatik nefrotik sendrom
İTP	İdiyopatik trombositopenik purpura
KBY	Kronik böbrek yetmezliği
KDa	kilo-dalton
KDIGO	Kidney Disease Improving Global Outcomes
LDL	Düşük dansiteli lipoprotein
LPL	Lipoprotein lipaz
MDR-1	Çoklu ilaç direnç-1

MLNS	Minimal lezyonlu nefrotik sendrom
MMF	Mycophenolate mofetil
MP	Metil prednizolon
MPA	Mycophenolic asid
NK-kb	Nuklear Faktör kapa-beta
NS	Nefrotik sendrom
OD	Otozomal dominant
OR	Otozomal resesif
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
p-gp	p-glikoprotein
PLCε1	Fosfolipaz C epsilon 1
RTX	Rituksimab
SAP	Shrimp alkaline phosphatase
SD	Slit diyafram
SDBY	Son dönem böbrek yetmezliği
SNPs	Single nucleotide polymorphisms
SRNS	Steroid dirençli nefrotik sendrom
SSNS	Steroid duyarlı nefrotik sendrom

1. GİRİŞ

Nefrotik sendrom glomerül kapiller duvarının seçici geçirgen özelliğindeki değişiklikler sonucu oluşan; ağır proteinüri, hipoalbuminemi, ödem ve hiperlipidemi ile karakterize çocukluk çağıının en sık görülen kronik böbrek hastalıklarından biridir (1, 2).

Steroid yanıtı hastalığın prognozunu belirlemede en önemli göstergelerden birisidir. Steroide dirençli hastalarda sıklıkla diğer immünsüpresiflere de yanıt alınamamakta ve kronik böbrek yetmezliği gelişme riski artmaktadır (3). Steroid direnci son yıllarda genellikle podosit proteinlerindeki mutasyonların glomerüler bazal membranda yapısal değişikliklere neden olması ile açıklanmaya çalışılmaktadır (4). Ancak aynı podosit mutasyonu taşıyan farklı bireylerde steroid cevabın farklı olduğu görülmektedir. Podosit mutasyonu taşıyan bir NS olgusu steroida yanıt verirken aynı mutasyonu taşıyan diğer kişiler steroid dirençli olabilmektedir. Bu nedenle steroid direncinde, ilaçların bireyler arasındaki farklı yanıtlarının da etkili olabileceği düşünülmektedir. Özellikle ilaç taşıyıcı enzimler ve ilacın eliminasyonu ile ilgili farklılıklarda, genetik polimorfizmlerin etkili olduğu bildirilmektedir. Taşıyıcı enzimlerden P-glikoprotein ve steroid metabolizmasından sorumlu en önemli enzimlerden olan Sitokrom P450 (CYP3A) ilaç duyarlılığında göz önünde bulundurulması gereken faktörlerdir. Bu enzimleri kodlayan MDR-1, CYP3A4 ve CYP3A5 gen polimorfizmleri ilaç yanıtının değişmesine neden olurlar (5, 6).

1.1. Nefrotik Sendrom Tanımı ve Nedenleri:

Nefrotik sendrom (NS), yoğun proteinüri, hipoalbuminemi, hiperlipidemi ve ödemin görüldüğü çocukluk çağıının kronik hastalığıdır (7, 8).

Nefrotik düzeyde proteinüri hastalığın belirleyici özelliği olup hastalığın tanımlanmasında önemlidir. Günlük protein atılımının $40 \text{ mg/m}^2/\text{saat}$ ya da 50 mg/kg 'ın ya da spot idrar proteinin idrar kreatinine oranının 2 mg/mg üzerinde olması nefrotik proteinüri olarak tanımlanmıştır (1, 9).

Etiyolojisi belli olmayan ve/veya sistemik hastalıklarla birlikte olmayan NS, primer NS olarak tanımlanmaktadır. Etiyolojisi ve patogenezi bilinmeyen, değişik böbrek histolojisi gösteren NS tablosuna da idiopatik NS denilmekte olup, çocukluk yaş grubu nefrotik sendromlarının %85'ini idiopatik nefrotik sendrom (İNS)

oluşturmaktadır (7, 10).

İdiyopatik nefrotik sendromun sınıflamasında steroid tedavisine verdiği yanıtı göre klinik olarak ve biyopsi yapılan olgularda ise histopatolojik olarak iki farklı sınıflama yapmak mümkündür.

İdiyopatik nefrotik sendromun klinik sınıflaması steroide duyarlı ve steroide dirençli olarak steroid tedavisine verdiği yanıtı göre iki ana grupta değerlendirilir (7, 11). Çocukluk çağı NS'lerinin büyük çoğunluğu başlangıçta uygulanan dört-sekiz haftalık steroid tedavisine yanıt verir. Başlangıç steroid tedavisi ile remisyona giren İNS'ye çocukluk yaş grubunda en sık neden olan minimal lezyonlu nefrotik sendrom (MLNS) olup, diğerleri ise sırası ile fokal segmental glomerüloskleroz (FSGS) ve diffüz mesangial proliferasyondur (7, 12). İNS'li hastaların yaklaşık %20'si klinik olarak steroide dirençlidir, bunların da %20-60'ının biyopsisinde FSGS bulunmaktadır (11, 12). Sekonder NS ise NS'ye yol açan sistemik bir hastalık varlığında söz konusudur. İdiyopatik NS'li olgularda yapılan böbrek biyopsilerinde en sık görülen histoloji minimal lezyon hastalığıdır (7). Steroid yanıtı hastalığın prognozunu belirlemede önemli göstergelerden birisidir. Steroide dirençli hastalarda sıklıkla diğer immünsüpresiflere de yanıt alınamamakta ve kronik böbrek yetmezliği gelişme riski artmaktadır.

Tablo 1. Nefrotik sendromun histopatolojik sınıflaması (1, 2, 9)

1- Primer Nefrotik Sendrom:

Minimal değişiklik nefrotik sendrom

Fokal segmental glomerüloskleroz

Diffüz mezangiyoproliferatif glomerulonefrit

Membranoproliferatif glomerulonefrit

- TipI MPGN: subendotelyal depolanma
- TipII MPGN: intramembranoz yoğun depolanma
- TipIII MPGN: transmembranoz depolanma

Membranöz nefropati

2- Sekonder Nefrotik Sendrom:

Böbrek hastalıkları

- Hemolitik üremik sendrom, antiglomerüler bazal membran hastalığı, hızlı ilerleyen GN, diffüz mezangial skleroz

Enfeksiyon hastalıkları

- Bakteriyel (poststreptokoksik, enfektif endokardit, lepra, sifiliz)
- Viral (Hepatit B, C, CMV, EBV, HIV)
- Protozoal (toksoplazmozis, şistozomiyazis, filariyazis)

Neoplastik hastalıklar

- Lenfoma, lösemi, Wilms tümörü

İlaçlar

- Civa ve altın bileşikleri, penisilamin, interferon, steroid dışı antienflamatuar ilaçlar, lityum, kaptopril

Sistemik hastalıklar

- SLE, HSP, PAN, diabetes mellitus, amiloidoz, takayasu sendromu, sarkoidoz

Kalıtsal hastalıklar

- Alport sendromu, Fabry hastalığı, orak hücreli anemi

Allerjik reaksiyonlar

- Arı sokması, serum hastalığı, besin alerjileri

Hastaların steroid tedavisine verdikleri yanıtı göre, klinik durumlarını değerlendirmede bazı tanımlamalar yapılmıştır (1, 7).

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

Relaps: Daha önce remisyonunda olan hastanın idrarında üç gün arka arkaya $>3+$ protein çıkması veya idrar proteinin $>40 \text{ mg/m}^2/\text{saat}$ veya $>50 \text{ mg/kg/gün}$ veya $1 \text{ gr/m}^2/\text{gün}$ veya idrarda protein/kreatinin oranının >2 olmasıdır.

Steroid dirençli nefrotik sendrom: ISKDC'ye (*International Study of Kidney Disease in Children*) göre (13): Dört hafta boyunca $60 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$ (2 mg/kg/gün) prednizolon tedavisine rağmen remisyon olmaması ;

Society of French Speaking Pediatric Nephrologists'e göre (14): Dört haftalık $60 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$ (2 mg/kg/gün) prednizolon tedavisi ve ardından üç kez intravenöz pulse metilprednisolon tedavisine rağmen remisyon olmaması durumudur.

KDIGO'ya (*Kidney Disease Improving Global Outcomes'a*) göre (12): Kortikosteroidlerle minimum sekiz hafta tedaviye rağmen remisyon olmaması durumudur.

Steroid yanıtı nefrotik sendrom: $60 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$ prednisolon tedavisinin dört hafta kullanılması ile idrar proteininin ardışık üç gün ya da bir hafta içinde bakılan üç ayrı idrar tetkikinde $\leq 4 \text{ mg/m}^2/\text{saat}$ olması veya dipstik ile 0 veya eser olmasıdır.

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

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

Erken yanıtızsızlık: İlk epizot sırasında steroid direnci olması.

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

Geç cevap verme: Hastanın steroid dışında başka bir ilaç kullanmaksızın dört haftalık $60 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$ prednizolon tedavisinden sonra remisyonla girmesidir.

1.2. Epidemiyolojisi:

İdiyopatik NS insidansı coğrafi bölge, ırk ve yaşa göre farklılık göstermektedir (7). Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupada NS insidansı 16 yaş altında, her 100.000 çocukta 1-3, prevalansı 100.000 çocukta 16 olarak bildirilmektedir (7, 11, 12). Coğrafi ve/veya etnik farklılıklar bilinmektedir. Örneğin, NS insidansı İngiltere’de yaşayan Asya kökenlilerde, Avrupa kökenlilere göre altı kat daha fazladır (7). Afrika’da ise hastalık daha nadir olarak görülmektedir (7). Etnik köken, histolojik tipi ve immünsüpresif yanıtı etkilemektedir. Siyah ırkta beyazlara göre steroide dirençli NS daha fazla görülmektedir (7). Erkek çocuklarda kızlara göre iki kat fazla olup, adolesan dönemde ise benzer oranda görülmektedir (7, 9). Hastalığa en sık iki yaşında rastlanılırken, olguların %70-80’i altı yaşından önce başvurmaktadır (1).

İdiyopatik NS’nin ailesel oluşumu da iyi bilinen bir durum olup, eş yumurta ikizlerinde de bildirilmiştir. Benzer şekilde hastalık kardeşlerde aynı yaşlarda, benzer biyopsi bulguları ile ve benzer klinik gidişle kendini gösterme eğilimindedir (9).

Hastalığın insidansında son 30 yıl içinde değişiklik olmaz iken histopatolojik bulgular değişim göstermektedir ve son yıllarda steroide dirençli nefrotik sendromlu (SRNS) hastalara yapılan böbrek biyopsi oranının da artması ile FSGS olguları artmaktadır (1).

1.3. Klinik ve Laboratuvar Bulguları:

Hastalık yaşamın ilk yılında ortaya çıkabileceği gibi, genellikle 2-7 yaşlar arasında başlamaktadır. Erkeklerde kızlara oranla iki kat daha sık görülür. Sıklıkla bir üst solunum yolu enfeksiyonu sonrası başlar (7). Ani başlangıçlı bir hastalık olup, ödem en sık görülen başlangıç başvuru semptomudur (7). Sıvı tutulumu vücut ağırlığının %3-5’ine ulaştığında ödem klinik olarak saptanabilir hale gelir. Genellikle başlangıçta sadece periorbital görülen ve alerji sanılarak atlanan ödem giderek artarak tüm vücuda yayılır ve anazarka ödem olarak isimlendirilen ve tüm vücut yanı sıra seröz boşluklarda da sıvı tutulumu ile karakterize NS’ye özgü ödem gelişir. Periorbital ödem gözün açılmasını sınırlayabilir. Ödem yer çekimine bağlı olarak dik pozisyonda alt ekstremitelerde, istirahat pozisyonunda ise vücudun sırt tarafında lokalize olmaktadır. Skrotumda, peniste, labialarda da ödem görülebilir. Nefrotik sendromda görülen ödem yumuşak kıvamda ve gode bırakan şekildedir. Kan basıncı

genel olarak normaldir, fakat bazen yükselebilir. Abdominal distansiyon olabilir ancak dispne nadirdir. Asitin hızlı oluşumuna bağlı karın ağrısı ve halsizlik görülebilir. Hastalarda ciddi hipovolemi, peritonit, pankreatit, tromboz ve ilaçların neden olduğu karın ağrısı da olabilir. Hızlı albümin düşüşü karın ağrısı ve dolaşım yetmezliği ile beraber şok tablosuna neden olabilir. Nefrotik sendrom nadiren rutin idrar incelemesi sırasında saptanabileceği gibi, bazen komplikasyonlarla da ortaya çıkabilir. Peritonit tablosu ile başlayabileceği gibi ilk veya tekrarlayan ataklarda derin ven trombozu, arteriyel trombozlar veya pulmoner emboli görülebilir (7).

Nefrotik Sendrom rutin idrar analizi ile de saptanmaktadır. Makroskopik hematüri çok az vakada gözlenmektedir. Hastalık komplikasyonu ile de karşımıza çıkabilir. *Streptococcus pneumonia*'ya bağlı peritonit klasik başlangıç şekli olabilir. İlk atak veya relaps sırasında derin ven veya arteriyel trombozlar görülebilir (7, 15). İdrar analizinde dipstik testle +3, +4 proteinüri saptanır. Sayısal değerlendirmede proteinüri 1gr/gün altında olabileceği gibi 10 gr/gün üzerinde de olabilir. Nefrotik düzeyde proteinüri >50 mg/kg/gün veya 40 mg/m²/saat'dir. Küçük çocuklarda 24 saatlik idrar toplamak zor olabilir, bu durumda idrar protein/kreatin oranı veya idrar albümin/kreatin oranı faydalı olur. Nefrotik denge 200-400 mg/mmol'dür (ya da > 2 mg/mg). Çoğu vakada proteinüri yüksek selektiflidir, bu albumin ve düşük molekül ağırlıklı proteinleri içerir. Şiddetli SRNS'li olan ve tübülointerstisyel lezyonu olan bazı çocukların $\beta 2$ mikroglobülin, retinol bağlayıcı protein ve lizozomu içeren artmış atılımı ve tübüler proteinürisi proksimal tübüldeki protein reabsorbsiyon bozukluğuna bağlıdır (7).

İdiyopatik nefrotik sendromlu hastalardaki idrar sedimenti sıklıkla yağ cisimciklerini içermektedir. Masif proteinürlü hastalarda hyalin silendirler sıklıkla bulunmakta, fakat granüler silendirler ise akut renal yetmezlik ve akut tübüler nekroz olmadıkça bulunmamaktadır (7).

Makroskopik hematüri hastaların %3'ünde görülüp, nadirdir. Mikroskopik hematüri hastaların %20'sinde görülür ve steroid tedavisine yanıtta etkisi yoktur. İdrar sodyum atılımı düşüktür (5mmol/24saat) ve sodyum retansiyonu ve ödemele ilişkilidir. Kaliürezis sıklıkla natriürezisten daha fazladır, fakat bu oligürik hastalarda düşük olabilir (7).

Kan biyokimyasında ise serum proteinleri belirgin azalır ve serum lipidleri ise

genellikle artar. %80 hastada proteinemi 50 g/L'nin, %40 hastada ise 40 g/L'nin altındadır. Albümin konsantrasyonu genellikle 20 g/L'nin bazen de 10 g/L'nin altına düşer. Elektroforez sadece albümindeki düşüşü değil aynı zamanda artmış α_2 globülinleri, β globülinleri, azalmış γ globülinleri gösterir. IgG belirgin azalır, IgA düşer, IgM artar, IgE ise normal veya artmıştır. Fibrinojen ve β -lipoproteinler artarken, antitrombin III (ATIII) azalır (7).

Hiperlipidemi (I) kolesterolün, trigliseritlerin ve lipoproteinlerin artmış hepatik sentezine, (II) azalmış lipoprotein lipaz (LPL) aktivitesine bağlı lipoproteinlerin katabolizmasının azalmasına, (III) azalmış LPL reseptör aktivitesine ve yüksek dansiteli lipoprotein (HDL)'lerin idrarla artmış kaybına bağlı görülen bir sonuçtur. Total kolesterol ve düşük dansiteli lipoprotein (LDL) kolesterol artarken HDL kolesterol değişmez veya düşer. Şiddetli hipoalbuminemi olan hastalarda trigliseritler ve çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL), apoproteinler (apo B, apo CII, apoCIII) artar. Nefrotik hastalarda artmış kardiyovasküler ve trombotik komplikasyonlara neden olan LPL(a) düzeyleri artar (7).

Serum elektrolitleri genellikle normal aralıktadır. Düşük sodyum düzeyi, hipovolemi ve uygunsuz antidiüretik hormon sekresyonuna bağlı suyun renal retansiyonuna bağlıdır. Plazma sodyum konsantrasyonundaki hafif düşüş, sıklıkla hiperlipidemiye bağlıdır. Serum potasyum, oligürük hastalarda yüksek olabilir. Serum kalsiyumu hipoproteineminin sonucu olarak düşüktür. İyonize kalsiyum ise genellikle normaldir, fakat idrarla 25 OH D₃ kaybına bağlı düşük olabilir. Kan üre azotu (BUN) ve kreatin konsantrasyonları genellikle normal aralıktadır veya GFR'deki ılımlı düşüşe bağlı hafif olarak artmış olabilir (7).

Hematolojik olarak hemoglobin ve hematokrit seviyesi artmıştır. İdrarla siderofilin kaybına bağlı olarak mikrositik anemi gözlenebilir. Eritropoietinin idrarla kaybı da anemiye neden olabilir. Trombositoz ise sıktır ve 5.10^8 veya $10^9/l$ 'ye ulaşabilir (7).

1.4. Patogenez:

Patogenezde rol oynayan etkenleri dört ana grupta ele almak mümkündür:

1. İmmün etkenler
2. Hemodinamik etkenler
3. Podosit zedelenmesi

4. Genetik predispozisyon

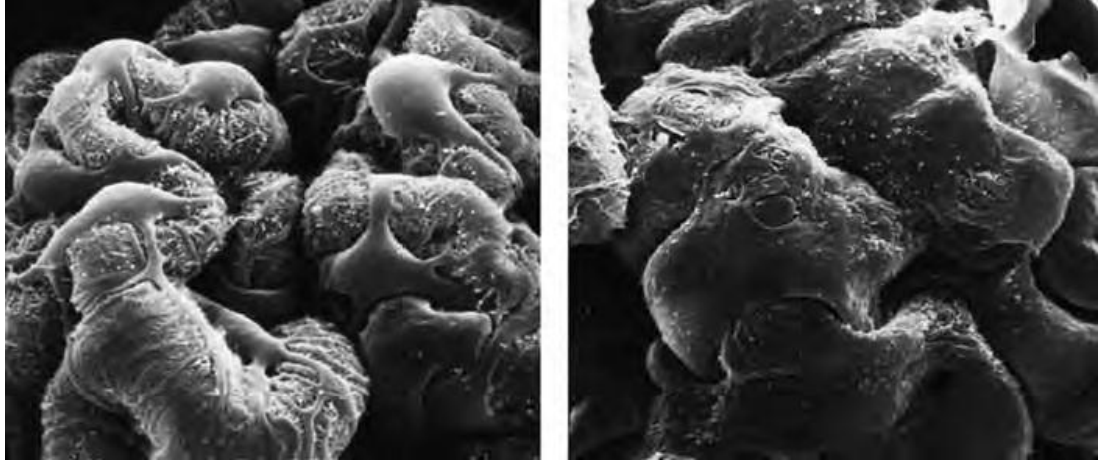
Tüm hastalardaki temel anormallik masif proteinürinin ortaya çıkmasıdır.

Nefrotik sendrom patogeneğinde bağışıklık sisteminin kontrolünün bozulmasının (özellikle hücrel immünite) rolü olduğu düşünülmektedir. Nefrotik sendromun viral enfeksiyonlar ve atopi atakları ile ortaya çıkması ya da tekrarlaması, HLA antijenleri ve immünolojik hastalıklarla ilişkisi (lenfoma, timoma), steroid ve siklosporin A tedavisi ile düzelmesi bu verileri desteklemektedir. Kızamık sonrası uzun süreli remisyonların görülmesi bu hipotezi desteklemektedir (2, 16). Minimal değişilik NS'li hastaların bazılarında T hücre alt gruplarında ve/veya T hücre işlevlerinde bozukluklar tanımlanmıştır (16, 17). Humoral mekanizmayı destekleyen bulgular IgM ve C3 içeren depozitlerin renal biyopsi örneklerinde saptanması ve immünsüpresifler ve plazmaferez gibi tedavi yaklaşımları ile proteinürinin azalmasıdır. Ayrıca bazı hastaların serumlarından "FSGS Faktör" izole edilmiş ve bu ratlara enjekte edildiğinde proteinüriye yol açtığı gözlenmiştir (18). Primer immün mekanizmada hangi sitokinlerin ve lenfokinlerin etkili olduğu relaps ve remisyonadaki rolleri konusunda pek çok çalışma olsa da esas ilişki aydınlatılamamıştır.

Hemodinamik faktörlerin glomeruler hipertansiyon ve artmış transmural basınç gradiyenti ile FSGS gelişimine katkıda bulundukları düşünülmektedir (18). Ayrıca, apolipoprotein bileşenlerinden olan glomerüler permeabilite inhibitörleri de FSGS'li hasta çocuk serumlarında gösterilmiş ve esas nedenin permeabilite faktörleri ile permeabilite inhibitörleri arasındaki dengenin bozulması olduğu vurgulanmıştır (19). Geçirgenliği etkileyen bu faktör ya da faktörlerin yapıları halen bilinmemektedir. Bazı çalışmalarda vasküler endotelial büyüme faktörü, heparanaz ve hemopeksin gibi çeşitli faktörlerin geçirgenliği arttırabileceği belirtilmiştir (16).

Böbreğin en önemli işlevlerinden birisi kanı glomerüllerden filtre ederek sıvı ve artık ürünlerin atılımını sağlarken kan proteinlerinin büyük bir bölümünü ve kan hücrelerini dolaşıma geri vermektir. Bu filtrasyon işlemi özelleşmiş fenestre endotel hücreleri, glomerül bazal membran (GBM) ve distal ayaksı çıkıntıları GBM'ye yapışık glomerüler epitelyum hücrelerinden (podositlerden) oluşan glomerüler filtrasyon bariyeri ile gerçekleştirilir. Bu bariyerden 42 Å⁰ çapından ya da 200 kDa'dan küçük olan moleküller geçebilirler (1). Slit diyafram (SD) glomerül

filtrasyon bariyerinin biyolojik olarak aktif bir komponentidir. SD; böbrekteki en önemli seçici filtrasyon bariyeri olarak kabul edilmektedir. Podosit ve SD yapısında bulunan proteinlerde fonksiyon kaybı sonucu ortaya çıkan podosit ayaksa çıkıntılarında birleşme veya silinme esas bozukluktur (1).



Şekil 1. Podositlerin elektron mikroskopik görünümü (soldaki şekilde normal bir podositin görünümü, sağdaki şekilde minimal değişiklik hastalığında podositlerdeki silinmeler görülmektedir)

Familiyal NS'li hastaların genetik incelemelerinden yola çıkılarak günümüzde yirmiden fazla gen ve pek çok lokus tanımlanmıştır. Slit diyafram ve podosit iskeleti (NPHS1, NPHS2, PLCE1, CD2AP, TRPC6 ve ACTN4) glomerüler bazal membran (LAMB2) ve mitokondrilerde (COQ2) ekprese olan genler ve podosit fonksiyon ve gelişiminde etkili olan transkripsiyonel faktörler (WT1 ve LMX1B) İNS'nin patogenezinde ve klinik seyrine etkisinde araştırılmakta ve genotip-fenotip ilişkileri değerlendirilmektedir (7).

Hereditör SRNS'de ilk tanımlanan gen nefrini kodlayan NPHS1 olup 1998 yılında bulunmuştur. Bu gendeki mutasyonlar erken ve ciddi klinikle bulgu verirler (11). Bu gen 185 kDa ağırlığında, hücre adezyon moleküllerinin immünglobulin ailesine ait olan bir transmembran protein olan nefrini kodlar. NPHS1 geni 19q13.1. kromozomda yer alır. Nefrin, podositlerdeki SD üzerinde yerleşik önemli bir sinyal proteindir. NPHS1 genindeki mutasyonlar defektif nefrin molekülüne neden olur ve bu da glomerüler filtrasyon bariyerinin yapısını ve fonksiyonunu bozar. Nefrin yokluğu plazma proteinlerinin idrara çıkmasına neden olur. İnsidansı 8200 canlı doğumda 1'dir. En yüksek insidans 1/500 ile Pensilvanya'nın Lancaster şehrinden bildirilmiştir. Otozomal resesif (OR) kalıtılmaktadır. Renal histopatolojisinde değişik

derecelerde glomerüler ve tübüler etkilenmeler görülebilir. Glomerüler lezyonlar mezengiyal hipersellüariteden diffüz mezengiyal skleroz (DMS)'a kadar değişiklik gösterebilir (1, 7, 11).

Podosit proteini podosini kodlayan NPHS2 genindeki mutasyonlar ilk kez 2000 yılında tanımlanmış olup, SRNS'li çocuklarda yaygın bir nedendir. Sporadik vakaların %28'inde, familial vakaların %40'ından fazlasında görülmektedir (7, 11). NPHS2 geni, sekiz ekzonlu olup hem matür hem de fetal böbrekte eksprese olan 42 kD büyüklüğündeki integral membran proteini podosini kodlar. Podosin, büyüklük ve elektriksel yüke selektif filtrasyonun gerçekleştiği SD içindeki podositlerin ayakası çıkıntılarına lokalizedir (20, 21). Podosin bir adaptör protein olup, nefrinin SD ile uygun şekilde eşleşmesi için gerekmektedir (7, 11). Günümüzde, tüm sekiz ekzonun ve intronların dahil edildiği genetik çalışmalarda 80'e yakın mutasyon bildirilmiştir. Podosin geninde tanımlanmış olan mutasyonlar etnik kökene göre farklı fenotiplere neden olabilse de proteinüri ortalama 14 yaşından önce gözlenir. Histopatolojik görünüm; ağırlıklı olarak FSGS olsa da, IgM nefropatisi, MLH ve DMS gösterebilir. Son dönem böbrek yetmezliğine ilerleme ya da tedavi yanıtı mutasyon tipleriyle değişkenlik gösterebilir (22).

Wilms tümör süpressör gen (WT1), 11p13'de lokalizedir ve nüklear WT1 proteinini kodlar. WT1 böbreklerin ve genitalyanın embriyonik gelişiminde kritik rol oynar. Matür böbrekte, WT1 podositlerdeki nükleusta eksprese olur ve SD proteinleri ve nefrinin ekspresyonunu kontrol eder (7, 11). Willms tümöründen sonra WT-1 gen mutasyonları, Denys-Drash sendromu, Frasier sendromu ve izole NS ile beraber DMS'li olgularda da gösterilmiştir. Denys-Drash sendromu erken başlangıçlı NS, erkek psödohermafroditizmi, gonadal disgenezi ve Wilms tümör gelişimi ile karakterize olup SRNS hayatın ilk aylarında başlar ve hızla son dönem böbrek yetmezliği (SDBY)'ne ilerler. Frasier sendromu, progresif glomerülopati ve erkek psödohermafroditizmi ile karakterize bir sendromdur. Ancak, geç çocukluk döneminde proteinüri görülür ve yavaş gidişli olup SRNS tipik olarak FSGS görünümündedir (1).

Laminin $\beta 2$ gen mutasyonları'na 3p21'de yerleşmiş LAMB2 genindeki resesif mutasyonlar neden olur. Bu gen laminin $\beta 2$ zincirini kodlar, bu da özellikle GBM'da, oküler yapılarda ve nöromusküler sinapslarda eksprese edilir. Laminin

ekstra sellüler matrix proteini olup, hücre adezyonunda, diferansiasyon ve proliferasyonunda önemli rol oynar. Laminin $\beta 2$ proteini, podositin bazolateral membranını GBM'na bağlayan proteindir. Laminin $\beta 2$ zincirindeki hasar, glomerüler filtrasyon bariyerinin fonksiyonunu bozar ve GBM'dan protein kaçağına neden olur. Pierson sendromu, konjenital NS kliniğinde ve DMS histolojisinde SRNS ile tipik mikrokori ve eşlik eden diğer lens ve kornea anomalileri ile karakterize bir sendromdur (1, 7).

Fosfolipaz C epsilon 1 (PLC $\epsilon 1$) veya NPHS3 gen mutasyonları son zamanlarda bildirilmiş, erken başlangıçlı NS'nin OR bir nedenidir. PLC $\epsilon 1$, anjiotensin-2 dahil bir çok G protein reseptörünün sinyalizasyonundan sorumlu bir fosfolipaz enzimdir. PLC $\epsilon 1$, böbrek glomerülünde bulunup, podosit sitoplazmasında lokalizedir (7). Hastalığın otozomal dominant ve ressesif formları daha önce bildirilmiştir (23).

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

Geç başlangıçlı NS ile birlikte olan bozukluklar, erişkin dönemde bulgu veren bozukluklardır. Kalıtsal, geç başlangıçlı FSGS genellikle otozomal dominant (OD) geçiş gösteren heterojen bir gruptur. Etkilenen aile bireylerinde üç tane hastalık yapıcı lokus tanımlanmıştır: bunlar sırasıyla ACTN4, TRPC6 ve CD2AP olup; sırasıyla FSGS1, FSGS2 ve FSGS3'e neden olurlar (1).

Tablo 2'de ailesel nefrotik sendromla ilişkili genler ve kodladıkları proteinler görülmektedir (11).

Tablo 2. Nefrotik sendroma neden olan genetik bozukluklar

Protein	Gen	Sendrom	Kalıtım	Histoloji
Nefrin	<i>NPHS1</i>	Konjenital NS, SRNS	OR OR	Tübüllerde mikrokistik dilatasyon ve progresif mezengiyal skleroz, MPGN,MCD,FSGS
Podosin	<i>NPHS2</i>	Konjenital NS, SRNS	OR	FSGS
PLCe1	<i>NPHS3</i>	SRNS	OR	FSGS
CD2AP	<i>CD2AP</i>	SRNS	OD/OR	FSGS
TRPC6	<i>TRPC6</i>	SRNS	OD	FSGS
WT1	<i>WT1</i>	Denys-Drash Frasier İzole SRNS	OD OD OR	DMS FSGS DMS,FSGS
LIM homeobox transkripsiyon faktör 1β	<i>LMX1B</i>	Nail-Patella sendromu	OD	FSGS
SMARCA benzeri protein	<i>SMARCA1</i>	Schimmke immünooosöz displazi	OR	FSGS
α-actinin-4	<i>ACTN4</i>	Erişkin başlangıçlı SRNS	OD	FSGS
NMMHC-A	<i>MYH9</i>	FSGS	-	FSGS
Arhgap24	<i>ARHGAP24</i>	SRNS	OD	FSGS
Non-muscle clas1 myozin1e	<i>Myo1e</i>	SRNS	OR	FSGS
Inverted formin 2	<i>INF2</i>	SRNS	OD	FSGS
Laminin β2	<i>LAMB2</i>	Pierson sendromu	OR	DMS,FSGS
tRNA-LEU	<i>MTTL1</i>	MELAS	?	FSGS
COQ6	<i>COQ6</i>	SRNS ve SNIK	OR	FSGS
β1,4 Mannosil-transferaz	<i>ALG1</i>	Glikozilasyon konjenital defekti	OR	FSGS
GLEPP1	<i>PTPRO</i>	SRNS	OR	FSGS
Glypican-5	<i>GPC5</i>	SRNS	OR	FSGS

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

1.5. Komplikasyonlar:

Hipovolemi: Relaps sırasında görülebilir. Sepsis, diyare veya diüretikler hipovolemiyi arttırabilir. Bu durumda çocuklar sıklıkla abdominal ağrı, düşük kan basıncı ve soğuk ekstremitelerden yakınır. Hipovolemiye hemokonsantrasyon sıklıkla eşlik eder.

Akut Böbrek Yetmezliği: Böbrek fonksiyonları başlangıçta genellikle normaldir. Hipovolemi, enfeksiyon veya tromboza sekonder GFR (Glomerül filtrasyon hızı) azalması sıktır. Bu azalma geçicidir ve remisyondan sonra hızla normale döner (7). Vande Walle ve ark. (24) glomerüler geçirgenlikteki değişikliklerin akut böbrek yetmezliğinde (ABY) temel rol oynadığını bildirmişlerdir. Belirgin oligüri çocuklarda görülebilir. Oligürik böbrek yetmezliği başvuru semptomu olabilir. ABY sıklıkla yüksek doz furosemidin diürezi tetiklemesi ve IV albümin infüzyonu ile geri dönüşümlüdür. Ancak bazı vakalarda, glomerüler yapı başlangıçta normal olmasına rağmen böbrek yetmezliği yıllarca uzun sürebilir ve bazen geri dönüşümsüzdür (7).

Kronik Böbrek Yetmezliği: Yanıtlılar ve yanıtsızlar arasındaki temel fark ileride SDBY'ne ilerleyebilmesidir. Bu komplikasyon steroide dirençli hastaların %50 veya daha fazlasında 10 yıldan uzun süreli takiplerde görülmüştür. GFR'deki azalmanın tek avantajı, proteinürinin azalmasına bağlı nefrotik sendromun iyileşmesidir. Kronik böbrek yetmezliği (KBY)'nin zayıf prognostik faktörleri ise başvuru sırasında asemptomatik proteinüri, başlangıçta böbrek yetmezliği olması ve yüksek oranda glomerüler segmental skleroz olmasıdır.

Büyüme: Persistan NS'li çocuklarda büyüme etkilenebilir. Buna neden hormonların idrarla kayba bağlı azalmasıdır.

Enfeksiyonlar: Bakteriyel enfeksiyonlar NS'de sıktır. Sepsis hastalığının başlangıcında görülebilir. En sık komplikasyon *Streptococcus pnueumonia*'ya bağlı peritonit oluşumudur. Diğer organizmalar ise, *Echerichia coli*, *B grubu streptokok*, *Hemofilus influenza* ve diğer gram negatif organizmalardır. Peritonitten ayrı olarak, menenjit, pnömoni, sellülit gelişebilir. NS'li çocuklarda bakteriyel enfeksiyon gelişiminde, IgG'lerin düşük düzeyi ile T ve B lenfositlerin idrarla kaybı gibi çeşitli faktörler öne sürülmüştür. Viral enfeksiyonlar ise kortikosteroid veya immünsüpresif

alan hastalarda görülebilir.

Tromboz: Nefrotik hastalar tromboembolik komplikasyon gelişimi açısından risk altındadırlar. Arteriyel tromboz %19-27 oranında olup, venöz tromboza göre (%73-81) daha az sıklıktadır. Hiperkoagülabilité durumu, hipovolemi, immobilizasyon ve enfeksiyon gibi çeşitli faktörler tromboz riskini arttırmaktadır. Hemostatik anormallikler nefrotik hastalarda daha önce tanımlanmıştır. Bunlar trombosit agregasyonunda artış, fibrinojende artış, faktör V, VII, VIII, X, XIII'de artış; ATIII, heparin kofaktör, protein C, protein S, faktör XI ve XII azalma, tPA ve PAI-1 gibi fibrinolitik sistem komponentlerinde artış olmasıdır. Nefrotik çocuklarda tromboembolik komplikasyonların insidansı %3 civarındadır. Ani makroskopik hematüri veya ABY durumunda renal ven trombozundan şüphelenilmelidir. Doppler USG, böbrek boyutunda artışı ve renal vende kan akımının olmamasını gösterir (7).

Böbrek Biyopsisi:

Genellikle kortikosteroid tedaviye başlanıldığında endike değildir.

Endikasyonları:

- 1 yaş altı çocuklar
- Makroskopik hematüri
- Hipertansiyon
- C3 düşüklüğü
- Persistan böbrek yetmezliği
- Kortikosteroid tedaviye yanıtızsızlık (7).

1.6. Tedavi :

1.6.1. Semptomatik Tedavi:

- 1- Diyet:** Günlük protein alımı, yaşa göre alınması gereken protein miktarının %130-140'ı arasında olmalıdır. Tuz kısıtlaması ödemin önlenmesi için önerilmektedir. Sıvı kısıtlaması şiddetli hiponatremide (Na:125mEq/l altında) önerilmektedir. Doymuş yağ asidi miktarı azaltılmalıdır. Karbonhidrat alımında nişasta veya dekstrin-maltoz tercih edilmeli; sukrozdan ise lipidleri arttırdığından kaçınılmalıdır.
- 2- Hipovolemi:** Protein kaybına bağlı meydana gelir ve bazen de diüretik kullanımıyla ağırlaşabilmektedir. Bu durumda plazma (20ml/kg) veya %20 albümin (1gr/kg), kalp hızı, solunum sayısı ve kan basıncı kontrol edilerek verilmelidir.

- 3- **Diüretikler:** Şiddetli ödemde kullanılmalıdır. Furosemid 1-2 mg/kg'dan kullanılır. Etkili değilse spironolakton (5-10 mg/kg) veya amilorid (0.2-0.5 mg/kg'dan) kullanılabilir.
- 4- **Tromboemboli:** Şiddetli hipoalbuminemisi olan nefrotik hastalar tromboembolik komplikasyonlar açısından risk altındadırlar. Bu komplikasyonların önleminde mobilizasyon, hipovolemiye bağlı hemokonsantrasyondan kaçınma önemlidir. Proflaktik warfarin tedavisi plazma albümin konsantrasyonu 20 g/dl altında, fibrinojen düzeyi 6 gr/l üzerinde veya ATIII düzeyi normalin %70 altında olduğu durumlarda verilebilir. Risk altındaki hastalar düşük doz aspirin ve dipiridamol ile tedavi edilebilirler. Trombüs oluştuğunda heparin başlangıçta verilebilir. Azalmış ATIII düzeyi nedeniyle terapötik etki için gerekli heparin dozu normalden daha fazladır.
- 5- **Antihipertansif ilaçlar:** Antihipertansif tedavide amaç tansiyonu <90th persentil altında tutabilmektir. Arteriyel hipertansiyon (HT) dikkatli bir şekilde akut atak sırasında β -bloker veya kalsiyum kanal blokerleri tercih edilerek kontrol altına alınmalıdır. Kalıcı hipertansiyonda ise anjiotensin konverting enzim inhibitör (ACEİ)'leri tercih edilmelidir. Anjiotensin konverting enzim inhibitörleri FSGS'ye sekonder renovasküler HT'ye bağlı proteinüriyi dramatik olarak düşürmektedir. Böbreğin korunması üzerine uzun dönem etkileri, kan basıncını düşürmeye dayalıdır (25). Anti-proteinürik olup SRNS'de 0.95 g/gün olacak şekilde proteinüriyi azaltır. ACEİ'lerinin anjiotensin reseptör blokerleri (ARB) ile kombinasyonu, klinik yan etkilerini arttırmadan, antiproteinürik etkileri arttırmaktadır (26).
- 6- **Enfeksiyonlar ve İmmünizasyon:** Başlangıç kortikosteroid tedavisi sırasında *Streptococcus pneumonia* proflaksisi için oral penisilin tedavisi sıklıkla tercih edilmektedir. Peritonit durumunda, peritoneal sıvı incelenmesi sonrası *S.pneumonia* ve gram (-) mikroorganizmalara yönelik antibiyotik başlanmalıdır. Varisella, kortikosteroid tedavisi veya immünsüpresif tedavi alan hastalarda ciddi bir hastalıktır. Maruziyet durumunda erken önlem tedavisi olarak asiklovir verilmelidir. Varisella aşılması hasta remisyonunda iken yapılmalıdır.

7- Hiperlipidemi: Hiperlipidemisinin glomerüler skleroza ilerlemeyi arttırdığı deneysel hayvan modellerinde gösterilmiştir (7). Oluşan hiperlipidemi sekonderdir. Bu nedenle nefrotik sendromun tedavisi ile hiperlipidemi düzelir. Total kolesterol > 200 mg/dl, LDL kolesterol > 130 mg/dl ise diyet tedavisi başlanır. Steroide dirençli NS olgularında ancak LDL kolesterol > 160 mg/dl sebat ederse farmakolojik tedavi başlanır. Persistan hiperlipidemi ateroskleroz için bir risk faktörüdür ve KBY gelişiminde rol oynamaktadır. Hiperlipidemik ilaçlardan ise statinler etkili olarak görülmektedir. Statinler, SRNS’de total kolesterolü %45 azaltır ayrıca tübüler protein reabsorbsiyonunu azaltır ve ek renal hasarı önler (27).

1.6.2. Spesifik Tedavi: Steroid tedavisi tüm İNS’li hastalara histopatolojisi ne olursa olsun verilmektedir. Hastaların çoğu steroid yanıtlıdır.

Başlangıç Tedavisi: NS tanısı konulur konulmaz steroidler hemen başlanmaktadır. Ancak %5 vaka bir-iki hafta içinde spontan remisyona girmektedir. Bu nedenle steroid tedavisi birkaç gün geciktirilerek başlanabilir. Enfeksiyon steroid tedavisine başlanmadan önce tedavi edilmeli, bu sadece tedavi sırasında sepsis riskini önlemek için değil aynı zamanda steroid rezistansına neden olabilecek gizli enfeksiyonların önüne geçmek için de gereklidir. İdiopatik nefrotik sendromlu çocuklarda steroid tedavisi bir yaş üzerinde ve 11 yaş altında ise, hipertansiyonu olmayan, makroskobik hematürisi veya ekstrarenal semptomları olmayan ve normal kompleman düzeyleri olan hastalara başlanmalıdır. ISKDC’ye göre tedavi rejimi: 60 mg/m²/gün prednizolon, maksimum 80 mg/gün, bölünmüş dozlar şeklinde dört hafta; takiben 40 mg/m²/gün, maksimum 60 mg/gün bölünmüş dozlar şeklinde haftada üç gün ardışık dozlar halinde dört haftadır. *The Arbeits gemeinschaft für Pediatriche Nephrologie* ise daha az relaps için tek doz 40 mg/m²/günaşırı dört hafta önermektedir. Çoğu vakalarda yanıt 10-15 gün içerisinde (ortalama 11 gün) alınmaktadır (7). ISKDC’ye göre yanıt alınan hastaların yaklaşık %90’ı ilk dört hafta içinde, %10’u ise altı-sekiz hafta içerisinde remisyona girmektedir (7, 28). İlk dört haftada remisyona girmeyen hastalara (1gr/1.73m² veya 30 mg/kg) pulse metilprednizolon verilmektedir. Başlangıç steroid tedavisinin süresi relaps riskini etkilemektedir (7).

İLK ATAK (BAŞLANGIÇ) TEDAVİSİ (7, 29)

I. ŞEMA

- 4 hafta 2 mg/kg/gün prednisolon (1 veya 2 dozda) ($60 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$) (Maksimum 60 mg/g)
- 4 hafta 2 mg/kg/gün aşırı prednisolon tek dozda (Maksimum 60 mg)($60 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$)
- 2 hafta 1,5 mg/kg/gün aşırı tek dozda ($40 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$)
- 2 hafta 1.0 mg/kg/gün aşırı /tek dozda
- 2 hafta 0.5 mg/kg gün aşırı /tek dozda
- 2 hafta 0.25 mg/kg/ gün aşırı /tek dozda

II-ŞEMA

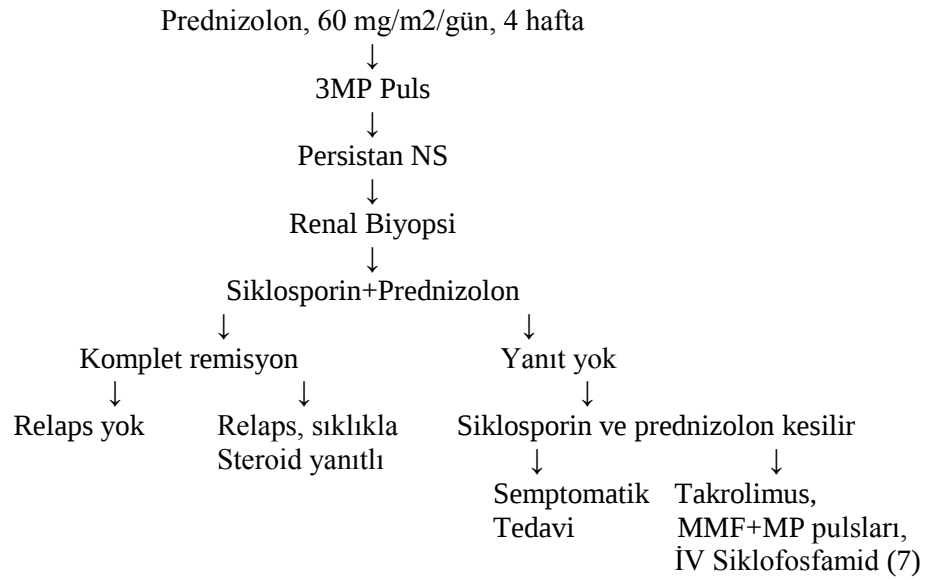
- 4 hafta 2 mg/kg/gün prednisolon (2 veya 3 dozda) (Maksimum 60 mg) ($60 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$)
- 4 hafta 1,5 mg/kg/gün aşırı tek dozda ($40 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$)
- 4 hafta 1 mg/kg/gün aşırı tek dozda
- 4 hafta 0,5 mg/kg/gün aşırı tek dozda
- 8 hafta 0,25 mg/kg/gün aşırı tek dozda

1.6.3. Relaps Tedavisi: Yaklaşık %30 çocuk tek atak geçirir ve tek kür steroidden sonra tamamen iyileşmektedir. Persistan remisyon için ise tedavi bitiminden sonra 18-24 ay boyunca relaps olmaması kabul edilmektedir ve geç relaps riski düşüktür. %10-20 hasta tedavi bitiminden birkaç ay sonra relaps olur ve üç-dört kez tekrarlar. Kalan %50-60 hasta ise steroid tedavisi bitiminden hemen sonra veya doz azaltılırken relaps gösterir. Bazı vakalar ise geçici proteinüri ve spontan remisyon atakları gösterebilirler. Beş yaş altı başlangıçlı çocuklarda ve erkeklerde relaps riski yüksektir (7). NS ataklarında üst solunum yolu enfeksiyonunun (ÜSYE) rolü olduğu bilinmektedir. Relapsların %71'inde bir ÜSYE olduğu bildirilmiştir (30).

1.6.4. Alternatif Tedaviler: Şiddetli steroid yan etkileri gelişen çocuklarda endikedir. Örneğin, diyabetes mellitus, trombotik komplikasyonların eşlik ettiği sık relapslar gibi durumlar. Alternatif tedavi levamizol, siklofosfamid, klorambusil, siklosporin, takrolimus, azotiopürin, MMF ve rituksimabı içerir.

1.6.5. Steroide rezistan INS tedavisi: Bir aylık $60 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$ 'lük steroid tedavisine yanıt vermeyen hastalarda steroid rezistansı tanımlanır. Bazı yazarlar tedaviye bir veya iki hafta daha devam ederken, bazıları üç metilprednizolon pulse'ı

vermektedirler (1000 mg/1.73m²). Bu tedaviden bir hafta sonra proteinürinin devamı steroid direnci olarak tanımlanmaktadır. SRNS'in prognozu kötüdür ve yüksek oranda SDBY'ye ilerler. Genetik form NS'li çocuklar immünsüpresif tedavilere rağmen sıklıkla tedaviye yanıt vermemektedir (7). NS'de proteinüriden esas sorumlu olan podositlerdir. Embriyonik gelişim sırasında GBM'nin dış kısmı podositlerden oluşur. Podositlerin major fonksiyonu glomerüler kapiller basınca karşı bariyer oluşturmaktır. Herhangi bir stres ve fonksiyonel bozukluk podosit kaybına neden olarak filtrasyon bariyerini bozup, proteinüriye neden olabilir. Podositlerin %20 veya daha fazla kaybı kritiktir. Tübülointerstisyel skarlanmaya neden olan inflamatuvar değişiklikler SDBY'ye gidişte önemli rol tutmaktadır (8).



Glukokortikoidler:

1990 ve 1992 yıllarında, Mendoza ve ark. (31-33) FSGS'ye bağlı SRNS'li hastaları yüksek doz metil prednizolon (MP) ve oral alkilleyici ajanlarla tedavi etmişlerdir. 46 ± 5 ay boyunca takibe alınan 23 çocuğun 12'si komplet remisyona girmiş, altısı hafif-orta proteinürik ve dördü nefrotik düzeyde kalmıştır. Her birinin GFR'si normal imiş ancak bir çocuk KBY'ye girmiştir. Birçok merkez bunu kriter alıp, *Mendoza protokolü* olarak kullanmıştır. Ancak prospektif randomize kontrollü çalışma bildirilmemiştir.

Mendoza protokolü: MP 30 mg/kg İV gün aşırı 2 hafta

MP 30 mg/kg İV haftada bir 8 hafta,

MP 30 mg/kg İV gün aşırı hafta, 8 hafta

MP 30 mg/kg İV ayda bir 9 ay

MP 30 mg/kg İV gün aşırı ay, 6 ay boyunca oral steroidle

birlikte verilir.

Fujii ve ark. (34) defektif nefrin transportunu belirlemişler. Podositlerde endoplazmik retikulum hasarı, nefrinin N-glukozilasyonuna, bu da NS'de proteinüriye neden olduğu ve deksametazonun mitokondrial genleri uyararak, ATP'yi azaltarak bunu tamir edebileceği öne sürülmüş (7, 34).

Siklosporin:

Siklosporin bir kalsinörin inhibitörü olup çeşitli sitokin genlerini down regülasyona uğratarak immün yanıtı süprese etmektedir. En belirgin sitokin İnterlökin-2 (İL-2) olup, T hücre aktivatörüdür. Siklosporinin antiproteinürik olduğu da bildirilmiştir (35, 36).

Siklosporin dozu 4-20 mg/kg/gün'dür. Renal podositlerdeki aktin iskeletini stabilize ederek anti-proteinürik etki sağlar (37). Siklosporin A (CsA), steroid rezistan FSGS'lerin %20'sinde tam remisyon sağlar. Tek başına etkili fakat düşük doz prednizon ile (10-15 mg/gün) birlikte kullanımı daha etkilidir. Başlangıç dozu: 5 mg/kg/gün (iki doz halinde 12 saat ara ile)'dür. CsA düzeyi izlenmeli ve dozdan 12 saat sonraki seviye (poliklonal antikor ile) 500 ng/ml'yi geçmemelidir (200 ng/ml-spesifik monoklonal antikor ile). Bu izlem haftalık olarak yapılmalıdır. Serum kreatin haftalık ölçülmeli, iki ölçümde bazal değer üzerine çıkarsa doz %25 azaltılmalıdır. İki defa doz azaltıldıktan sonra kreatinde düşme gözlenmezse protokol bırakılmalıdır (3).

Siklosporin dozu ne zaman ve nasıl azaltılmalı:

- Serum kreatininin bazal değerinin %25'inden fazla yükseklik göstermesi
- Serum K düzeyinin 6 mEq/L'nin üzerine çıkması
- Siklosporin düzeyi 200 ng/ml üzerinde ise doz %20 oranında azaltılmalıdır

Siklosporin Tedavisinin Sonlandırılması:

- 6 aylık renal biyopsilerde siklosporin toksisitesine ait bulgu olması
- Böbrek fonksiyonlarında hızlı bozulma
- 4 ay süresince verilen siklosporine yanıtızsızlık (3)

Fokal Segmental glomerülosklerozlu, genetik testleri yapılmamış SRNS'si olan çocuklarda randomize kontrollü prospektif çalışmalar, çocukların yaklaşık 1/3'ünde siklosporinin komplet remisyona sağladığını göstermektedir. Bunun tersine ne oral ne de İV siklofosfamidin remisyona üzerine etkisi gösterilememiştir. Ancak çoğu çalışma non-randomize, retrospektif ve az sayıda hasta ile yapılmıştır. Çalışmaların yaklaşık 2/3'ünde hasta sayısı 10'un altındadır. Diğer çalışmalar MLNS ve mezengiyal proliferasyonu olan çocuk ve erişkinleri dahil etmişler ancak farklı yaş grupları farklı hastalıkları zeminde taşıyabilir. Çoğu çalışma kısa dönemli olup uzun dönemli çalışmalara ihtiyaç vardır.

Steroide dirençli nefrotik sendromda siklosporinin etkinliği ile ilgili ilk kontrollü çalışma *Lieberman ve Tejani'den* gelmiştir. Randomize çift kör plasebo kontrollü çalışma steroide dirençli idiopatik FSGS'li 25 çocuk üzerinde yapılmıştır. Siklosporin proteinüriyi belirgin düşürürken albümin seviyelerini ise arttırmıştır. İlginç olarak, hiperkolesteroleminin siklosporinin etkilerini antagonize ettiği görülmüş ve ilaç dozu kolesterol düzeyine göre artırılmıştır (38).

The French Society of Pediatric Nephrology ise SRNS'li 65 çocuk vakasını yayınlamıştır. Hastalar 150-200 mg/m² siklosporin ve 30 mg/m²/gün prednison ile bir ay boyunca ve değişen günlerde beş ay boyunca tedavi edilmiştir. Renal biopside 45 çocukta MLNS, 20 çocukta FSGS saptanmış ve 27 hasta komplet remisyona girmiştir (39).

Antiproliferatif Ajanlar:

Azotiopürin ve vincristin kullanılmış, fakat olumlu sonuçlar yetersiz bulunmuş. Azotiopürin steroid rezistansı olan hastalarda inefektif olduğu bildirilmiştir (7).

Siklofosfamid

Oral veya İV kullanılabilir (2-3 mg/kg/gün, oral veya 500-750 mg/m²/ay, iv). Yapılan çalışmalarda başlangıç tedavide siklosporinin, siklofosfamide göre daha etkin olduğu bildirilmiştir (40).

Mikofenolat mofetil (MMF)

Mikofenolik asit (MPA), guanozin nükleotidlerinin biyosentez enzimi olan inosin monofosfat dehidrogenaz (IMPDH)'ı inhibe eder. MMF, T ve B-lenfosit proliferasyonunu inhibe eder. Düz kas hücreleri, renal tübüler hücreler, mezengiyal hücreler, ve fibroblastlar gibi non-immün hücrelerin proliferasyonunu inhibe eder, anti fibrotik fonksiyonları, kalsinörin inhibitör toksisitesini önleyebilir veya düzeltir (41). İki yaş altı 24 SRNS'li çocuğa MMF tedavisinin verildiği bir çalışmada 15 hastada komplet remisyon, 6 hastada parsiyel remisyon sağlandığı bildirilerek iki yaş altındaki SRNS'li çocuklarda MMF'nin proteinüriyi azalttığı gösterilmişti (42).

Takrolimus / FK506

Takrolimus kalsinörin inhibitörüdür, IL-2 ve İnterferon- γ (IFN- γ) gamma transkripsiyonunu baskılar. Yan etkileri nefrotoksisite, tremor, baş ağrısı, trombotik mikroanjyopati, hepatotoksisite, hiperlipidemi, hipomagnesemi ve hiperkalemi, saç dökülmesi sayılabilir. 2004 yılında Kanada'dan yapılan retrospektif bir çalışmada SRNS'li hastalarda takrolimus tedavisini değerlendirmişler. Diğer tedavilere dirençli 15 ve ciddi yan etkileri olan bir hasta olmak üzere toplam 16 hastaya takrolimus tedavisi 0,1 mg/kg/gün dozundan başlanılmıştır. 6,5 aylık takip sonunda 13 hasta (%81) ortalama iki ay içinde tam remisyona girmiştir (0,5-5,5 ay), üç hasta ise yanıt vermemiştir (43). Başka bir çalışmada ise immünsüpresif tedaviye dirençli veya relaps gösteren 15 hastaya takrolimus (0.05 mg/kg/g) düşük doz steroid ile birlikte verilmiş. 27-43 aylık izlem sonunda %60 tam, %40 kısmi remisyon gözlenmiştir (44). Roberti ve ark. (45) ise SRNS'li 19 çocuğa takrolimus vererek değerlendirdikleri çalışmada 55 aylık takip süresi sonunda komplet remisyonun %58, parsiyel remisyonun %32 olduğunu bildirmişlerdir.

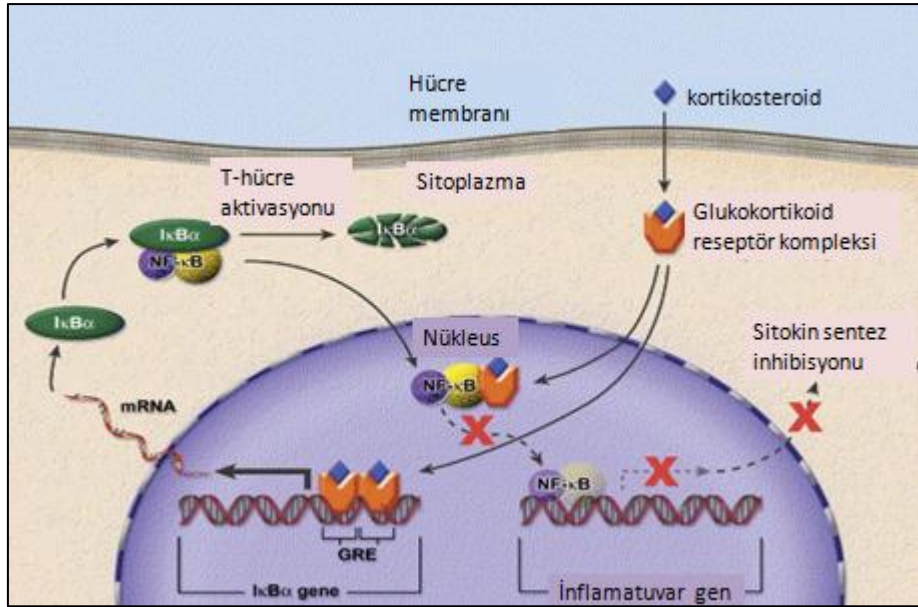
Rituksimab

Rituksimab (RTX), CD20 aracılı B hücre proliferasyon ve diferansiasyonunu inhibe eden monoklonal antikordur. Periferik B hücrelerini tamamen baskılaması ortalama altı aydır. Akut reaksiyonlar, anafilaksi, hipogammaglobinemi, infeksiyon, virüslerin reaktivasyonu, progresif multifokal lökoensefalopati gibi yan etkiler görülebilir. Dozu, 375 mg/m²/haftadır. Yapılan çalışmalarda hem SRNS'li, hem de steroid bağımlı NS'li hastalarda etkin ve güvenilir bir biçimde uzun süreli remisyona yol açtığı gösterilmiştir (46). Ancak rituksimabın çok da etkin olmadığı ve ileri

çalışmalara ihtiyaç olduğunu bildiren çalışmalar da mevcuttur (47).

1.7. Steroid

Glukokortikoid (GK) hormon veya ilaçların, sitoplazmadaki reseptörlerini aktive ettikten sonra nükleusa geçip gen transkripsiyonunun modülasyonuna bağlı olarak geliştirdikleri etkiler genomik etkilerdir. Bu etkiler, çekirdekte ilgili genin mRNA transkripsiyonu aşamasında (transkripsiyonel) ve transkripsiyon sonrası mRNA'nın ribozomda çevirisinin yapılacağı aşamaya kadar olan süreçte (postranskripsiyonel) gerçekleşir. GK'ler hedef hücrelerdeki bu etkilerini, hücre membranını geçtikten sonra, bağlandıkları GK'lere spesifik intrastoplazmik glukokortikoid reseptörleri (GR) aracılığı ile gerçekleştirirler (48-50).



şekil 2. Kortikosteroidlerin hücresel moleküler etki mekanizması

Glukokortikoid reseptörü, 1985'te klonlanmıştır ve 777 aminoasitli bir sitoplazmik proteindir. Vücutta ekirdekli hücrelerin hepsinde bulunur. Bütün hücre içi reseptörlerde olduğu gibi glukokortikoid reseptörlerinde de amino terminalinde değişken transaktivasyon bölgesi, iki adet "zinc finger" taşıyan DNA'ya bağlanma bölgesi ve karboksi terminalinde ligand bağlayan bölge olmak üzere üç fonksiyonel kısım bulunur. Transaktivasyon bölgesi reseptör cinsine göre değişir ve görevi tam olarak bilinmemekle birlikte transkripsiyon regülasyonunda rol aldığı düşünülmektedir (51). Kortikosteroidlerin en önemli immünsüpresif etkileri antijen sunan hücreler (ASH) ve T hücreleri üzerinedir. Kortikosteroidler, ASH'dan salınan sitokinlerin (IL-1, IL-6) hücre yüzeyinde eksprese olmasını engeller. Ayrıca immün

reaksiyonlarda önemli rol oynayan IL-2'nin üretimini baskılayarak, T hücre proliferasyonuna da engel olur. Sitoplazmaya geçtikten sonra, 90 kilo-dalton (kDa) ağırlığındaki ısı-şok proteini ile birlikte bulunan sitoplazmik reseptörüne bağlanır. Bu bağlanma ile ısı-şok proteini kompleksten ayrılır ve reseptör steroid ikilisi hücre çekirdeğine geçerek glukokortikoid yanıt elamanları olarak adlandırılan DNA dizisine bağlanır. Bu bağlanma ile sitokin gen kopyalanmasının inhibe edildiği düşünülmektedir (52, 53). Steroid hormon reseptörünün DNA bağlayan kısmında iki *zinc finger* vardır. Hormon reseptör kompleksinin DNA'nın hormona yanıtli elemanına (HRE-hormone responsive element) bağlanabilmesi için dimer oluşturması gerekir. İlk *zinc finger* hedef gen spesifikliğini sağlarken ikincisi dimerizasyonda önemlidir. Reseptör-hormon dimerinin DNA'ya bağlanması genin transaktivasyonu için yeterli olmamakla birlikte ön koşuldur. Bu bağlanmadan sonra transkripsiyon kompleksi oluşur ve hedef genin mRNA sentezi başlar. Kortikosteroidler hedef hücrelerindeki bu özgül reseptörler yoluyla fonksiyonel önemi olan enzimleri ve diğer proteinleri kodlayan genlerin transkripsiyonunu artırarak etki ederler. Kortikosteroidin, reseptörlerini aktive etmesinden sonra gen transkripsiyonunun modülasyonuna bağlı olarak hücre düzeyinde gelişen etkilerine *genomik etkiler* adı verilir. Bu tür etkiler, transkripsiyonla mRNA yapılması ve bunun ribozomlarda çevirisi gibi basamaklardan geçmeyi gerektirdiğinden genellikle en az birkaç saatlik, bazen de en az 15-30 dakikalık gecikmeden sonra başlar. Bu etki mekanizması ile kortikosteroidler, birçok sitokinin sentezinde rol oynayan Nuklear Faktör kapa-beta (NK-kb)'nın çekirdeğe geçip DNA'ya bağlanmasını önlemektedir. Anti enflamatuar etkileri ise muhtemelen monositlerin inflamasyon alanına göçünü engellemek suretiyle gerçekleşmektedir (52).

Kortikosteroidlerin 1990'lı yıllara kadar sadece genomik yolla etki ettikleri kabul edilirken, çalışmalarda genomik etkiyle açıklanamayan bulguların gözlenmesi etki mekanizmalarının yeniden incelenmesine neden olmuştur. Genomdan bağımsız, hücresel mekanizmalar tarafından düzenlenen hızlı etki '*non-genomik etki*' olarak tanımlanır (48, 54-56). Kortikosteroidlerin saniyeler ve dakikalar içinde oluşan etkileri non-genomik etki mekanizmalarını düşündürmüştür (57, 58). Kortikosteroidlerin non-genomik etkilerinin oluşumunda membran reseptörleri oldukça önemli role sahiptirler (59). Spesifik ve nonspesifik olmak üzere 2 çeşit

nongenomik etki tanımlanmıştır. Spesifik etkiler ya klasik intrasellüler GR aracılığıyla ya da klasik olmayan membran reseptörleri aracılığıyla dakikalar içinde gerçekleşir. Nonspesifik non-genomik GK etkileri ise saniyeler içerisinde ve biyolojik membranlar ile etkileşim sonucunda görülür. Non-genomik etki yüksek doz GK tedavisinde daha fazla klinik öneme sahiptir (48, 54-56).

Spesifik nongenomik etkiler:

- a) Klasik olmayan reseptörlerin aracı olduğu nongenomik etkiler: Membran reseptör aktivitesinin hücresel süreçleri değiştirmek için çeşitli ikinci mesajcı sistemler üzerine (Ca^{+2} , adenosin 3',5' monofosfat, inositol trifosfat, protein kinazın) hızlı etkileri uyardığı gösterilmiştir (48, 55).
- b) Klasik intrasellüler reseptörlerin aracı olduğu nongenomik etkiler: Sitoplazmik GR'lerin aktivasyonunun da hızlı nongenomik etkileri başlattığı gösterilmiştir. Ligand bağlanmasını takiben, GR-şaperon protein kompleksinden serbestleştirilen ısı şok proteinlerinin ve mitojen ile aktive edilmiş protein kinaz sisteminin kinazlarının hızlı hücresel yanıtları uyardığı düşünülmektedir (48, 55, 56).

Nonspesifik nongenomik etkiler: (aracı bir reseptörün olmadığı nongenomik etkiler): GK'ler hücre membranının fizikokimyasal özelliklerini değiştirerek hızlı etkilere neden olabilmektedirler. Lipofilik GK molekülleri, hücre membranının çift fosfolipid tabakaları içerisine yerleşir. Yüksek konsantrasyonlarda membranlar içerisinde birikme, membran akışkanlığını değiştirme ve böylece hücresel fonksiyonlarda hızlı değişiklikleri uyarma eğilimine girerler (55). Saniyeler içinde oluşan bu etki, yüksek doz GK kullanımıyla mümkündür. Yüksek dozlarda, klasik genomik yolda kullanılan tüm reseptörlerin bağlandığı ve nongenomik yolun devreye girdiği varsayılır (54). Reseptör kullanımı olmaksızın gerçekleşen nongenomik etkiye bir örnek; deksametazonla insan primer bronşiyal epitelyum hücrelerinde hızlı bir şekilde elde edilen salgılanmayı önleyici etkidir (55, 56).

1.8. Genetik Polimorfizm

Toplumda % 1'den daha sık gözlenen DNA varyasyonlarına polimorfizm adı verilebilir. İlaçlara yanıtta, çoğunlukla birden fazla protein ve onları kodlayan gen rol

oyunar. Moleküler biyolojide 1980'lerde yaşanan hızlı gelişmeler, genetik özellikler ile genlerdeki değişimlerin (yani mutasyonların) ilişkilendirilebilmesini sağlamıştır. Normal popülasyonda mutant ya da varyant genlerin %1 veya daha fazla sıklıkta var olmasına polimorfizm denir (60).

Genetik polimorfizm, bir popülasyonda, genetik olarak belirlenmiş farklı allellere bağlı olarak iki veya daha çok alternatif fenotipin görülmesidir. Eğer bir lokustaki allel frekansı en az 0.01 ise ve bu alleli taşıyan heterozigotların frekansı %2'den büyükse bu gen lokusuna polimorfik denebilir. Proteinleri kodlayan gen lokuslarının en az 1/3'ünün polimorfik olduğu saptanmıştır (61). Farklı bir tanımla, toplumlarda normal kişilerde genomik DNA'nın tek baz çiftlik pozisyonunda farklı sekans alternatiflerinin (allel) bulunmasıdır. Genetik değişikliklerden tek nokta mutasyonu (SNP: single nucleotide polymorphism) en sık gözlenen şeklidir. İnsan genomunda yaklaşık 30.000 farklı gen mevcuttur. Toplam 3,12 milyon nükleotid olduğu ve SNP oluşma frekansının iki birey arası 1/1250 baz çifti olduğu hesaba katılırsa iki birey arasındaki SNP sayısının 2,5 milyon olduğu sonucuna ulaşılır. İnsan genomunda yaklaşık 15 milyon SNP bulunduğu tahmin edilmektedir. SNP, DNA sekansındaki bir baz çiftindeki değişikliktir. Oluşturduğu proteinde fonksiyonel veya miktar bazında değişikliğe yol açabilir ya da açmayabilir (62).

Hastanın moleküler profilinin, yani insanda genetik polimorfizm gösteren enzimler ve reseptörlerin tedavi sürecinde bilinmesi; ilaç seçiminde, yan etkilerin belirlenmesinde ve tedavinin uygunluğunun sağlanmasında, terapötik yanıtın öngörülmesine veya tedavinin bireyselleştirilmesine olanak sağlayabilir. DNA polimorfizmleri; mutasyon sonucu ortaya çıkarlar ve Mendel kurallarına göre aktarılırlar. Genlerin protein kodlayan ve kodlamayan bölgelerinde meydana gelebilir (62).

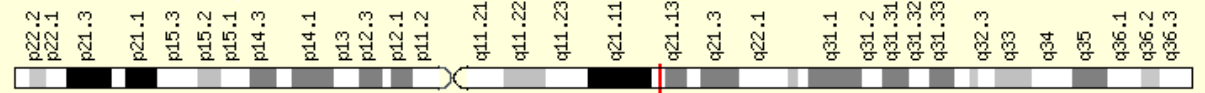
1.9. Çoklu ilaç direnç-1 (MDR-1) geni = ABCB geni

İlaçların hücreye girişi ve hücreden çıkışı genellikle aktif bir olaydır ve özel ilaç taşıyıcı molekülleri eşlik eder.

Çoklu ilaç direnç-1 (MDR1) P glikoprotein, ATP bağımlı taşıyıcılar (ABC) ailesinden olup, çok çeşitli substratların biyolojik membranlardan taşınmasını sağlayan transmembranik bir proteindir. ABC taşıyıcı ailesi ABCA'dan başlayıp ABCG'ye kadar uzanan yedi alt gruba ayrılmıştır. MDR1 P-gp, ABCB1 alt grubunda

yer almaktadır. Bu yedi alt grup içerisinde ise bugüne kadar 48 ABC taşıyıcısı insan vücudunda tanımlanmıştır. *Adenosine triphosphate-binding cassette B1* (ABCB1) geni 7q21 kromozomda yer alır ve 28 ekzondan oluşur. Bu gen bir transmembran efflüks pompası olarak görev yapan ve bunun ötesinde ilaçların emilimi, doku hedeflenmesi ve eliminasyonunda önemli olan multidrug transporter Pglicoproteini kodlar. Günümüzde ABCB1 geninde 50’den fazla *single nucleotide polymorphisms* (SNPs) tanımlanmıştır. Bunlardan ekson 21 (G2677T) ve ekson 26 (C3435T)’da olanlar ilgi çekmişlerdir çünkü bunların ABCB1’in fonksiyonu ve ekspresyonu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ek olarak, ekson 12’deki C1236T polimorfizmin çeşitli toplumlar arasında farklı olduğu bildirilmiştir (63, 64).

7. Kromozom 7q21.1



Şekil 3. MDR1 geninin lokalizasyonu

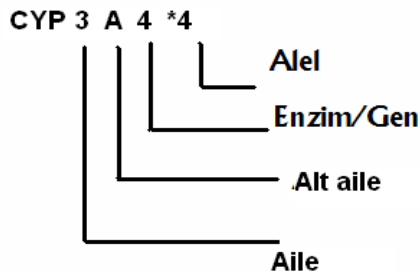
Çoklu ilaç direnç-1 ürünü olan p-glikoprotein (p-gp) 170 kDa ağırlığında, ATP bağımlı bir membran taşıyıcı protein ailesinin bir ürünüdür. Kırktan fazla taşıyıcı geni sınıflandırılmıştır. P-gp, hücre membranında yerleşmiş olan ve birçok ilaç ile etkileşime giren, ATP bağımlı bir fosfo-glikoproteindir. İlaçların taşınmasından ve ilacın hücreden atılımından sorumludur. İlacın hücre içine alınmasını engelleyerek, tedaviye direnç geliştirilmesine neden olur. Sağlıklı bireylerde P-gp, ince barsak, karaciğer, böbrek ve kan-beyin bariyerinde eksprese olmaktadır. Barsaklarda, böbrekte, hepatik epitel hücre membranlarında yer alması nedeniyle ilaçların emilimi, biyoyararlanımı ve atılımında önemlidir. Taşıyıcıları kodlayan genlerdeki mutasyonlar ilaç yanıtında farklılığa yol açmaktadır. Farklı dokuların plazma zarında yer alan taşıyıcı proteinlerin, ilaçların farmako-kinetiğinde rol oynadığı bilinmektedir (65). P-gp, çeşitli ilaçların atılmasında pompa görevi yapmaktadır ve ayrıca ilaç etkisini sağlayan hücrelerdeki ilaç birikimini engeller. P-gp yedinci kromozom üzerinde (7q21.1) bulunan ve 28 ekzondan oluşan 1280 amino asitli fosforile ve glikozile bir proteindir. Altı hidrofobik transmembran segmenti ve bir intrasellüler ATP bağlanma alanı içeren iki homolog yarıdan oluşmaktadır. Bu proteinler ATP bağlar ve çeşitli molekülleri hücre dışına atmak için enerji kullanırlar. Proteinler nukleotid bağlama bölgesi olarak da bilinen, ATP bağladıkları domaine göre sınıflandırılırlar (66, 67). Günümüzde genetik polimorfizmin farmakokinetik

üzerine etkisini ve ilaç direncini en iyi yansıtan taşıyıcı MDR-1'dir. MDR-1'deki polimorfizmler ilaç yanıtını büyük ölçüde etkiler. MDR-1 geni oldukça polimorfiktir ve bu genetik çeşitlilik çoğu ilacın bireyler arası farmakokinetik ve farmakodinamiğinde farklılığa yol açmaktadır. Günümüzde MDR-1 geninde 20'den fazla tek nükeotid polimorfizmler tanımlanmıştır. Ekzon 26 ve ekzon 21'deki SNP'lerin değişken protein ekspresyonu ile ilişkili olabileceği vurgulanmıştır.

En sık görülen sessiz mutasyon MDR-1 C3435T ve MDR-1 G2677T (Ala893Ser) gen polimorfizmlerinin immünsüpresif ilaçların farmakokinetiğini etkileyebileceği vurgulanmıştır. Özellikle ekzon 26 (C3435T) ve ekzon 21 (G2677T)'deki polimorfizmlerin takrolimusun farmakokinetiği ve fonksiyonu ile ilgili olduğu bildirilmiştir (66, 67).

1.10. Sitokrom p450 (CYP) enzimleri

Sitokrom süper gen ailesi, yapısı ve fonksiyonuyla çok geniş bir enzim ailesini oluşturmaktadır. CYP enzimlerinin, aminoasit dizi benzerliklerine göre sınıflandırmasında, yapısal ve fonksiyonel olarak birbirlerine yakın olan CYP enzimleri bir araya gelmektedir. CYP enzimleri ilk olarak aile ve alt aile olarak ayrılmaktadır. Buna göre aminoasit dizilimi yönünden en az %40 benzerlik gösteren enzimler aynı aile içinde yer almaktadır (68). Aynı alt aile grubunda ise aminoasit dizilim benzerliği en az %55 oranında olmaktadır. Bu özelliklere göre yapılan sınıflandırma sonucunda; 17 aile ve çok miktarda alt aile ortaya çıkmıştır. Bu 17 ailenin dokuz tanesinin kolesterol ve steroid hormon sentezi ile ilgili olduğu, dört tanesinin mitokondride bulunduğu ve elektron taşıma zinciri ile ilgili olduğu vurgulanmaktadır (68, 69). Bu enzimlerin isimlendirmesinde; CYP sitokrom p450'yi ifade eder, P harfi proteini; 450 sayısı proteinin absorbans değerini; sonra gelen rakam aile numarasını, aileden sonra gelen harf alt aileyi ve en son kullanılan sayı ise bu alt aile içindeki enzimi simgelemektedir (CYP3A4 gibi) (69, 70).

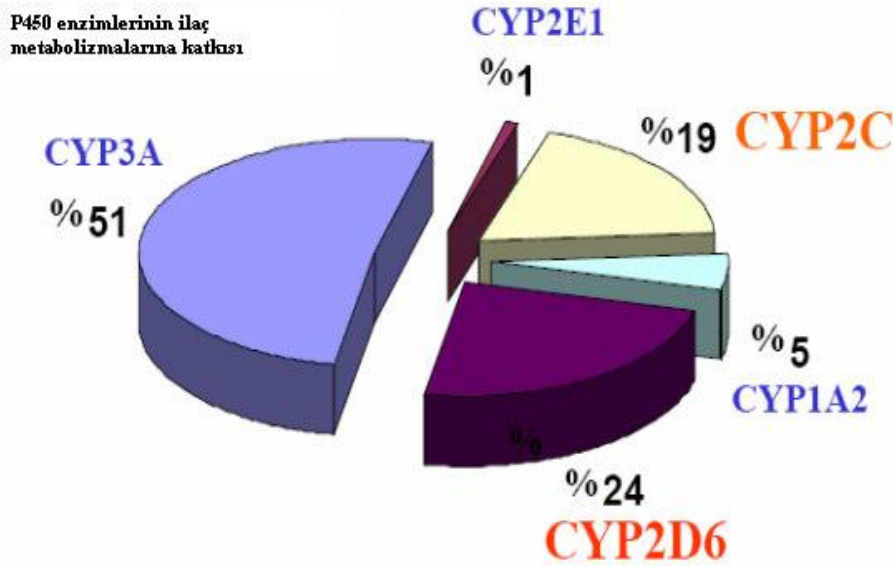


Şekil 4. Enzimlerin isimlendirilmesi

Her bir enzim için en yaygın ya da “vahşi tip” allel, “*1” olarak isimlendirilir ve mutant alleler ise *2, *3, *4 şeklinde isimlendirilir. Vahşi tip allel genellikle normal enzim aktivitesini gösterir ama her zaman her olguda böyle olmayabilir. Günümüzde, CYP enzimlerinin 57 aktif 58 yalancı genlerinin olduğu ve 434’den fazla alleli kodladığı bilinmektedir. En büyük enzim ailelerinin ise CYP1, CYP2 ve CYP3 olduğu bilinmektedir (70, 71).

İlaçlar ve ksenobiyotiklerin çok büyük bir bölümünün metabolizmasında en önemli görevi bu enzim ailesi üstlenmektedir. Bu enzim ailesi p450 bağımlı mono oksijenazlar veya karışık oksidazlar olarak adlandırılmaktadır. CYP enzimleri mikrozomal hemoproteinlerden oluşan bir hem protein ailesidir (70).

Günümüzde bilinen 70 kadar p450 ailesinden 17 tanesi insanlarda bulunmaktadır. Bu kadar geniş aileye rağmen, ilaçların büyük çoğunluğu çok küçük bir enzim grubu tarafından metabolize edilirler. CYP1, CYP2 ve CYP3 aileleri daha çok ilaçların ve diğer ksenobiyotiklerin metabolizmasını gerçekleştirmektedir. İlaç metabolizmasına katkıları Şekil 4’de görülmektedir (70, 72).



Şekil 5. CYP enzimlerinin ilaç metabolizmasına katkıları

1.10.1. CYP3A enzimleri

İnsan sitokrom P450 (CYP) sistemi bir takım CYP izoformlarından oluşmaktadır ve bunların çeşitli endojen ve ekzojen bileşiklerin oksidatif ve redüktif metabolizmasında önemli fonksiyonları vardır. CYP1, CYP2, CYP3, CYP4, CYP5, CYP7, CYP8, CYP11 ve CYP17 gibi çoğu CYP ailesi insanlarda bulunmaktadır.

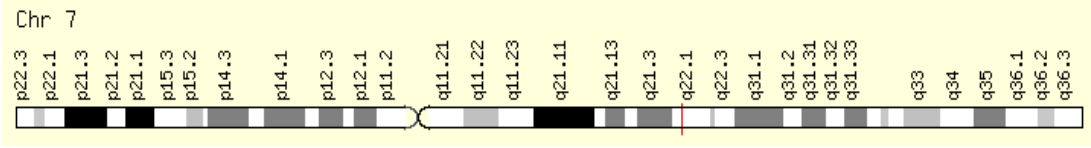
İnsan sitokrom P450 3A (CYP3A) alt ailesi ilaç metabolizmasında önemli bir role sahiptir. Önemli dört CYP3A geni vardır. Bunlar CYP3A5, CYP3A7, CYP3A4 ve CYP3A43'dür. CYP3A enzimleri, özellikle de CYP3A4 ve CYP3A5, çoğu eksojen ve endojen bileşiklerin metabolizmasını katalizler.

Sitokrom 3A alt ailesi, protein seviyeleri bireyden bireye farklılık gösterir. Ancak buna rağmen insan karaciğerindeki toplam p450 içeriğinin yaklaşık %40'ını oluşturmaktadır. Günümüzde kullanılan ilaçların %50'sinden fazlasının metabolizmasında rol alan önemli enzim grubudur. CYP3A5 enziminin önemli substratları arasında immünsüpresif ilaçlar (steroidler, CsA, takrolimus, sirolimus) bulunmaktadır (70, 73-75). CYP3A enziminin ekspresyonu çoğunlukla karaciğer ve ince barsakta olmaktadır (64, 70, 73). Yedinci kromozomun uzun kolu üzerinde (7q22) olup 231 kilo baz (kb) büyüklüğündedir. CYP3A alt ailesi temelde CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7 ve CYP3A43'den oluşan dört aktif gen ve CYP3A5P1, CYP3A5P2 olarak isimlendirilen iki tane yalancı gen bölgesi içermektedir. CYP3A7 geninin ekspresyonu doğumdan sonra azalmaktadır (70, 73).

1.10.1.1. CYP3A4

Sitokrom 3A4 geni, yedinci kromozomun uzun kolu üzerinde yer almaktadır (7q21.3-q22.1). On üç ekzona sahip ve 27.592 baz çiftinden oluşmaktadır. Endoplazmik retikulum membranına bağlı olarak bulunur. CYP3A4 toplam CYP içeriğinin %30-40'ını oluşturmaktadır. İlaçların yaklaşık yarısı bu enzim tarafından metabolize edilmektedir. CYP3A4 enziminin ekspresyonu en fazla karaciğerde olmak üzere, ince ve kalın barsakta, prostatta, memede olmaktadır (76, 77). İnsan karaciğerinde ve ince barsakta en çok bulunan CYP enzimidir. İnsan karaciğer mikrozomlarında gerçekleşen terapötik ilaçların, yağ asitleri, steroidlerin, ksenobiyotiklerin metabolizmasında önemli bir role sahiptir. Karaciğerde ve diğer dokulardaki CYP3A4 seviyeleri çeşitli mutasyonlar ile azalabilmektedir. CYP3A4 için 16 çeşit allel saptanmıştır. Çeşitliliklerin çoğu polimorfizm olarak karakterize edilmiştir (76). Özellikle CYP3A4*4, *5, *6, *18, *1B allellerinin ilaç metabolizmasında bireylerde P450'nin aktivitesini azalttığı ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır (78, 79). Son yıllarda özellikle ince barsakta CYP3A4 ile birlikte çalışan ve membranlar arası bir dışa atılım pompası olan p-gp önem kazanmıştır. Birçok ilacın ilk geçiş metabolizmasına uğramasına ve atılımına sebep olmaktadır.

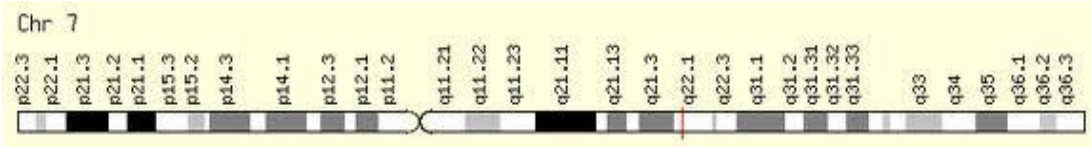
CYP3A ve p-gp'nin inhibisyonu veya indüksiyonu bunların substratı olan ilaçların doğrudan olarak ilk geçiş metabolizmasını ve biyoyararlanımını etkilemektedir (80).



Şekil 6. CYP3A4 geninin lokalizasyonu

1.10.1.2. CYP3A5

Sitokrom 3A5, yedinci kromozomun uzun kolu üzerinde yer almaktadır (7q21.1) ve 31.809 baz çiftinden oluşmaktadır. CYP3A5 enzimi 57.109 kDa büyüklüğündedir. CYP3A5 enzimi çok polimorfiktir. Etnik gruplar arası çeşitlilik göstermektedir. CYP3A5 enzimi, kolonda, böbreklerde, akciğerde, özağusta, hipofiz bezinde ve yaklaşık olarak %20 kadar karaciğerde bulunur ve endoplazmik retikulum membranı, mikrozom membranında yer almaktadır. Terapötik ilaçların, steroidlerin, ksenobiyotiklerin metabolizmasında önemli bir role sahiptir. Polimorfik özellik gösteren bir enzimdir (73). Klinik önemi ortaya konmuş beş farklı allel saptanmıştır. CYP3A5*1 alleli vahşi tip olarak adlandırılır. Homozigot vahşi tip bireyler normal bir metabolizmaya sahiptirler. CYP3A5 için iki mutant allel saptanmıştır. Bu mutant alleller; CYP3A5*3 ve CYP3A5*6 olarak isimlendirilir. Bu alleller enzim aktivitesinin kaybolmasına neden olmaktadır. CYP3A5*6 alleli toplumlarda az görülen bir mutant alleldir. CYP3A5*3 ve CYP3A5*6 alleleline sahip bireylerin ilaç toksisitesi açısından riskli olabileceği vurgulanmaktadır. CYP3A5 polimorfimleri CYP3A4 polimorfizmlerinden daha büyük öneme sahiptir. CYP3A5 enziminin aktivitesi ve ekspresyonundaki çeşitlilik CYP3A aracılı metabolizmada bireyler arası çeşitliliğe neden olduğu bildirilmektedir (71).



Şekil 7. CYP3A5 geninin lokalizasyonu

1.11. Amaç

Nefrotik sendrom glomerül kapiller duvarının seçici geçirgen özelliğindeki değişiklikler sonucu oluşan; ağır proteinüri, hipoalbuminemi, ödem ve hiperlipidemi ile karakterize çocukluk çağıının en sık görülen kronik böbrek hastalıklarından biridir (1, 2).

Steroid yanıtı hastalığın prognozunu belirlemede en önemli göstergelerden birisidir. Steroide dirençli hastalarda sıklıkla diğer immünsüpresiflere de yanıt alınamamakta ve kronik böbrek yetmezliği gelişme riski artmaktadır (3). Steroid direnci son yıllarda genellikle podosit proteinlerindeki mutasyonların glomerüler bazal membranda yapısal değişikliklere neden olması ile açıklanmaya çalışılmaktadır (4). Ancak aynı podosit mutasyonu taşıyan farklı bireylerde steroid cevabın farklı olduğu görülmektedir. Podosit mutasyonu taşıyan bir NS olgusu steroidde yanıt verirken aynı mutasyonu taşıyan diğer kişiler steroid dirençli olabilmektedir. Bu nedenle steroid direncinde, ilaçların bireyler arasındaki farklı yanıtlarının da etkili olabileceği düşünülmektedir. Özellikle ilaç taşıyıcı enzimler ve ilacın eliminasyonu ile ilgili farklılıklarda, genetik polimorfizmlerin etkili olduğu bildirilmektedir. Taşıyıcı enzimlerden P-glikoprotein ve steroid metabolizmasından sorumlu en önemli enzimlerden olan Sitokrom P450 (CYP3A) ilaç duyarlılığında göz önünde bulundurulması gereken faktörlerdir. Bu enzimleri kodlayan MDR-1, CYP3A4 ve CYP3A5 gen polimorfizmleri ilaç yanıtının değişmesine neden olurlar (5, 6).

Sitokrom 3A4, Sitokrom 3A5 ve Çoklu ilaç direnç-1 genlerindeki polimorfizm ve bu genlerin yönlendirdiği proteinlerin biyoaktiviteleri steroid farmakokinetiğindeki bireysel farklılığı ve dolayısıyla steroid direncini açıklayabilir. Bu çalışmada nefrotik sendromlu çocuklarda steroidde yanıtını değerlendirmede MDR 1, CYP3A5 ve CYP3A4 gen polimorfizmlerinin etkili bir faktör olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Pediatrik Nefroloji polikliniği tarafından nefrotik sendrom tanısı ile izlenen 53 hasta ve kontrol grubu olarak herhangi bir kronik hastalığı olmayan 22 sağlam çocuk dahil edildi. Çalışma öncesi fakülte etik kurulundan 20.01.2012 tarih ve 2011-2012 / 261 sayılı kurul kararı alındıktan sonra çalışmaya katılan tüm ailelerden aydınlatılmış onam belgesi alındı (Ek.1).

Çalışmaya NS tanısı ile Çocuk Nefroloji polikliniği tarafından izlenen ve yaşları 1 ile 18 arasında değişen 53 çocuk alındı. Hastaların demografik verileri, klinik durumları, laboratuvar değerleri ve kullanılmış olan tedavi rejimlerine ait bilgiler kaydedildi. Her hasta için hasta değerlendirme formu (Ek.2) hazırlandı. Bu formda hastaların ad-soyad, yaş, cinsiyet, hastalık başlama yaşı, boy, kilo, kan basıncı, ailede benzer hastalık öyküsü, anne-baba arasında akrabalık gibi demografik verileri kaydedildi. Çalışmaya alınan tüm hastalar aynı hekim (çocuk nefroloji yan dal araştırma görevlisi) tarafından değerlendirildi. Ayrıntılı öyküsü alınan hastaların fizik muayenesi yapılarak patolojik bulgular kaydedildi. Hastalığına özgü tanı ve izlem için laboratuvar tetkikleri planlandı. Proteinüri ve hematüri varlığı idrarda tetkik edildikten sonra 24 saatlik idrar toplandı. Alınan kan örneklerinden beyaz küre sayısı, hemoglobin, trombosit sayımı, üre, kreatin, total protein, albümin, kolesterol ve lipid değerleri çalışıldı. Ayırıcı tanı açısından antinükleer antikor (ANA), antiglomerüler bazal membran antikoru, C3, C4 değerlerine bakıldı. Tüm hastaların ultrasonografi ile böbrekleri değerlendirildi. Nefrotik sendrom tanısı konulduktan sonra steroid tedavisi başlandı. Tüm hastaların podosin ve nefrin mutasyonları, MDR-1, CYP3A4 ve CYP3A5 polimorfizmleri, almış olduğu tedaviler ve bu tedavilere yanıtları, relaps sayısı, böbrek yetmezliği varlığı ve biyopsi sonuçları kaydedildi.

Nefrotik sendrom ve steroide dirençli NS tanımlamaları *International Study of Kidney Disease in Children*'a (13) göre yapılmıştır. Nefrotik sendrom, ağır proteinüri (>50 mg/kg/gün veya >40 mg/m²/saat), hipoalbuminemi (<2.5 gr/dl) ve ödem ile karakterize klinik tablo olarak tanımlanmıştır. Steroid duyarlı NS ise 4 haftalık 60 mg/m²/gün steroid tedavisine yanıt olması olarak kabul edildi. Steroid direnci ise dört hafta süre ile verilen 60 mg/m²/gün (maksimum 60 mg) steroid

tedavisine yanıt alınamama, steroid bağımlı nefrotik sendrom ise steroide önceden yanıt alınan ve proteinürisi kaybolan bir hastada, steroid dozu azaltılırken proteinürinin yeniden çıkması veya remisyona girdikten sonra steroid kesilmesini takip eden 14 gün içinde relaps gözlenmesi ve bu durumun iki kez tekrarlaması durumu olarak tanımlanmıştır (7, 13). Böbrek biyopsisi NS tanısı alan bir yaş altı çocuklara, makroskobik hematurisi olan hastalara, hipertansiyonu devam eden hastalara, C3 düşüklüğü olan hastalara, persistan böbrek yetmezliği olan hastalar ile kortikosteroid tedaviye yanıtızsız veya steroid tedavisine bağımlı olan hastalara yapıldı (7).

Yirmi dört saatlik idrar sabah ilk idrar atıldıktan sonra gün boyunca toplandı ve ertesi gün sabah ilk idrar da kaba eklendi. 24 saatlik idrar volümü ile oranlanarak günlük proteinüri $\text{mg/m}^2/\text{saat}$ olarak belirlendi.

Glomerüler filtrasyon hızı (GFR) ölçümü; Schwartz yöntemi kullanılarak aşağıdaki formüle göre hesaplandı (81).

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

Hastalar üç gruba ayrıldı.

Grup I: Steroid tedavisine duyarlı NS hastaları (45 hasta)

Grup II: Steroid tedavisine dirençli NS hastaları (8 hasta)

Grup III: Kontrol grubu (22 sağlam çocuk)

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

Nefrin için 3 polimorfizm bakıldı: NEFRIN A1105G, NEFRIN T763C, NEFRIN T741C. Podosin için 2 polimorfizm bakıldı: PODOSIN G346A ve PODOSIN T318C. Nefrin ve podosin için Roche marka *MagNA Pure Compact* otomatik izolasyon cihazında DNA izolasyonu yapıldı.

1.Nefrin ve Podosin için ayrı bir karışım hazırlandı: 10.4 μl H_2O , 1.0 μl reagent karışımı, 2.0 μl fast stort DNA master, 1.6 μl MgCl_2 ve 5 μl DNA eklenerek Roche marka *Light Cyclor 2.0* cihazına yüklendi.

2. Standart thermocycler’da PCR reaksiyonu aşağıdaki şekilde yapıldı.

95° C’de 10 dakika

95° C’de 10 saniye

60° C’de 10 saniye

72° C’de 15 saniye

45 döngü

95° C’de 20 saniye

40° C’de 20 saniye

70° C’de 5 saniye

40° C’de 30 saniye

3. Cihazın sonunda yapılan işlemler sonucu *melting curves* yöntemi ile floresans sayesinde okuma yapıldı ve sonuçlar değerlendirildi.

Hastalarımızdan rutin tetkikleri sırasında EDTA’lı tüpe 2cc kan alındı ve kan örnekleri tetkik anına kadar –20°C’de saklandı. MDR-1, CYP3A4 ve CYP3A5 polimorfizmleri için hastalarımızın kan örneklerinden DNA izolasyonu yapıldıktan sonra *SNP Genotyping Using the Sequenom MassARRAY iPLEX Platform* yöntemi ile (82) İnvitrogen marka Applied Biosystems Step One Plus cihazında çalışıldı.

Periferik kandan DNA izolasyon protokolü aşağıdaki basamaklardan oluşmaktadır:

1. EDTA’lı tüplere alınan periferik kandan 200 l alınıp 2ml kapasiteli eppendorf tüpüne aktarıldıktan sonra bunun üzerine 20 l Proteinaz K ve 20l RNAaz A ilave edildi.
2. Karışım 10-15 saniye karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra üzerine 200 l *Pure Link Genomic Lysis Buffer* eklendi ve yine 10-15 saniye karıştırıcıda karıştırıldı.
3. Karışım, nceden 55 °C’ye ayarlanan su banyosuna 10 dakika için inkübasyona bırakıldı.
4. İnkübasyon sonunda, karışımın üzerine 200 l Etanol eklendi ve 5 saniye karıştırıldı.
5. Eppendorf tüpün içinde bulunan örneğin tamamı toplama tüpü içine yerleştirilmiş filtreli tüpün (DNA’yı bağlamaya yarar) içine pipet ile aktarıldı.
6. 10000 devir/dakika’da 1 dakika santrifüj edildi.
7. Santrifüj sonrasında filtreli tüp yeni bir toplama tüpüne aktarıldı.

8. Filtreli tüpün üzerine 500 µl inhibitör uzaklaştırıcı çözeltisi (*Wash Buffer-1*) eklendi.
9. 10000 devir/dakika'da 1 dakika santrifüj edildi.
10. Santrifüj sonrasında filtreli tüp yeni bir toplama tüpüne (*pure link collection tube*) aktarıldı.
11. Tüpün üzerine 500 µl yıkama çözeltisi (*Wash Buffer-2*) eklendi ve 15000 devir/dakika'da 3 dakika santrifüj edildi.
12. Toplama tüpleri atılarak yerine 1,5 µl'lik mikro santrifüj tüpü eklendi ve 55°C'ye ayarlanmış su banyosunda ısıtılmış olan çözündürme çözeltisinden (*Elution Buffer*) 100 µl ilave edilerek oda ısısında 1 dakika bekletildi.
13. 15000 devir/dakika'da bir dakika santrifüj edildi.
14. Santrifüj sonrasında filtreli tüp atıldı. Eppendorf tüpünde geri kalan çözelti saflaştırılmış genomik DNA olarak elde edilmiş oldu.

SNP Genotyping Using the Sequenom MassARRAY iPLEX Platform yöntemi
aşağıdaki basamaklardan oluşmaktadır:

1. PCR Amplifikasyonu için karışım hazırlandı: 1.850 µl saf su, 0.625 µl MgCl₂ ile hazırlanmış PCR Buffer, 0.325 µl MgCl₂, 0.100 µl dNTP karışımı, 1.000 µl Primer karışım, 1.000 µl Genomik DNA ve 0.100 µl Hotstar Taq toplamda 5.000 µl olacak şekilde eklendi.
2. Eklenen yukarıdaki maddeler nazıkçe karıştırıldı.
3. Standart thermocycler'da PCR reaksiyonu aşağıdaki şekilde yapıldı.

94° C'de 15 dakika	}	45 döngü
94° C'de 20 saniye		
56° C'de 30 saniye		
72° C'de 1 dakika		
72° C'de 3 dakika		
4° C'de bekletilir		
4. SAP (shrimp alkaline phosphatase) tedavisi yapıldı. Bunun için 1.330 µl saf su, 0.170 µl SAP buffer, 0.500 µl SAP enzim toplamda 2.000 µl olacak şekilde karıştırıldı.
5. Her bir PCR reaksiyonuna 2 µl SAP karışımı eklendi ve nazıkçe karıştırıldı.
6. Standart thermocycler'da SAP ilave edilmiş PCR reaksiyonu aşağıdaki gibi inkübe

edildi.

37° C’de 40 dakika

85° C’de 5 dakika

4° C’de bekletilir

7. Primerlerin uzatılması için İPLEX reaksiyon karışımı hazırlanır. Bunun için 0.755 µl saf su, 0.200 µl iPLEX Buffer Plus, 0.200 µl iPLEX sonlandırma karışımı, 0.804 µl Primer karışım, 0.041 µl İPLEX enzimi toplamda 2.000 µl olacak şekilde nazikçe karıştırıldı.

8. Standart thermocycler’da 2 aşamalı 200 kısa devir programında İPLEX reaksiyonu aşağıdaki gibi yürütüldü.

94° C’de 30 saniye

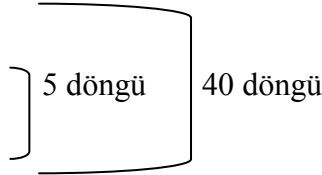
94° C’de 5 saniye

52° C’de 5 saniye

80° C’de 5 saniye

72° C’de 3 dakika

4 ° C’de bekletilir



9. Açık Reçine: Kütle spektrometrik analizleri optimize etmek için İPLEX reaksiyon ürünlerinin temizlenmesi uygulandı.

10. MALDI-TOF MS Analizi: ‘MassARRAY Workstation version 3.4 software’ kullanıldı ve sonuçlar elde edilmiş oldu (82).

Çalışmada kullanılan genler ve SNP’leri:

MDR-1 geni: (3435C>T) rs1045642 SNP’ye ait sekans

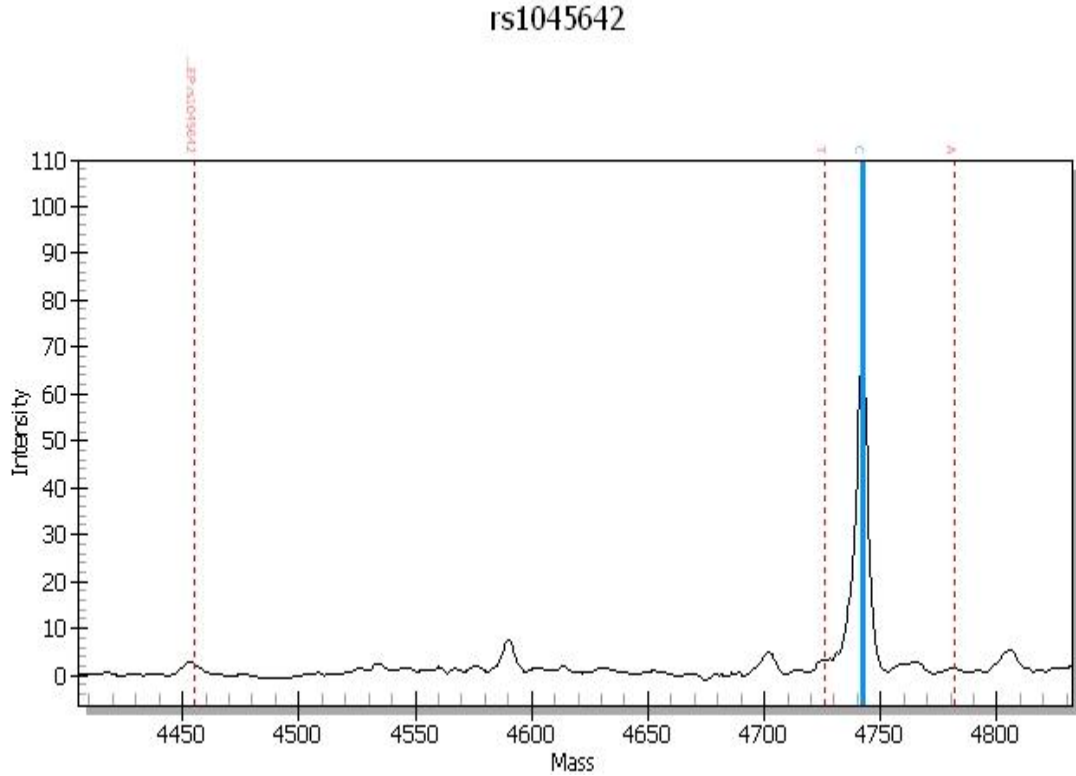
AGCCGGGTGGTGTACAGGAAGAGAT[A/C/T]GTGAGGGCAGCAAAGGAGGCCAACA

C: Normal= ‘Wild tip’, CT: Heterozigot, T: Homozigot olarak değerlendirilmiştir.

Rs1045642 için primerler:

Forward: 3’- ACGTTGGATGACTGCAGCATTGCTGAGAAC- 5’ ve

Reverse: 5’- ACGTTGGATGAAGGCATGTATGTTGGCCTC- 3’ dür.



Şekil 8. 36 numaralı nefrotik sendromlu hastanın rs1045642 SNP'ye ait dağılım grafiği

MDR-1geni: (1236C>T) rs1128503 SNP'ye ait sekans

CACTCGTCCTGGTAGATCTTGAAGGG[C/T]CTGAACCTGAAGGTGCAGAGTGGGC

C: Normal= 'Wild tip', CT: Heterozigot, T: Homozigot olarak değerlendirilmiştir.

Rs112850 için primerler:

Forward: 3'-ACGTTGGATGGTTTTTTCTCACTCGTCCTG- 5' ve

Reverse: 5'- ACGTTGGATGAGCCACTGTTTCCAACCAGG - 3' dür.

MDR-1geni: (2677G>A) rs2032582 SNP'ye ait sekans

TGAAAGATAAGAAAGAACTAGAAGGT[A/G/T]CTGGGAAGGTGAGTCAAATAAATA

G: Normal, GT-GA: Heterozigot, T-A-TA: Homozigot olarak değerlendirilmiştir.

Rs2032582 için primerler:

Forward: 3'-ACGTTGGATGGAAAATGTTGTCTGGACAAGC- 5' ve

Reverse: 5'-ACGTTGGATGCATATTTAGTTTGACTCACC - 3' dür.

MDR-1: (199G>A) rs2229109 SNP'ye ait sekans

TTTGAATTCAGAAATGTTCACTTCA[A/G/T]TTACCCATCTCGAAAAGAAGTTAAG

G: Normal, GA: Heterozigot, A: Homozigot olarak değerlendirilmiştir.

Rs2229109 için primerler:

Forward: 3'- ACGTTGGATGGAGTGGGCACAAACCAGATA -5' ve
Reverse: 5'- ACGTTGGATGGTACCTTAACCTCTTTTCGAG - 3' dür.

MDR-1: (61A>T) rs9282564 SNP'ye ait sekans

AGAAGAAGAACTTTTTTAAACTGAAC[A/G]ATAAAAGGTAAGTACTAGCTTGTTCAT

A: Normal, GA: Heterozigot, G: Homozigot olarak değerlendirilmiştir.

Rs9282564 için primerler:

Forward: 3'- ACGTTGGATGGAGGAGCAAAGAAGAAGAAC -5' ve

Reverse: 5'- ACGTTGGATGACTCAAATCTCGCAACTATG - 3' dür.

CYP3A5: (27289C>A) rs28365083 SNP'ye ait sekans

CAAAGGGTCAATGGTGGTGATTCCAA[A/C]TTATGCTCTTCACCATGACCCAAAG

C: Normal, CA: Heterozigot, A: Homozigot olarak değerlendirilmiştir.

Rs2032582 için primerler:

Forward: 3'- ACGTTGGATGTTCCCAAAGGGTCAATGGTG-5' ve

Reverse: 5'- ACGTTGGATGAGGCTCTGTCCAGTACTTTG- 3' dür.

CYP3A5: (18386G>A) rs28383479 SNP'ye ait sekans

AGCAGAACTGCAAAAGGAGATTGAT[A/G]CAGTTTTGCCCAATAAGGTGAGGGG

G: Normal, GA: Heterozigot, A: Homozigot olarak değerlendirilmiştir.

Rs28383479 için primerler:

Forward: 3'- ACGTTGGATGATATGAACTGGCCACTCACC -5' ve

Reverse: 5'-ACGTTGGATGATCCCCTCACCTTATTGGGC - 3' dür.

CYP3A5: (27131_27132insT) rs41303343 SNP'ye ait sekans

GTTTCTTTCCTTCCAGGCACCACT[-/T]ACCTATGATGCCGTGGTACAGATGG

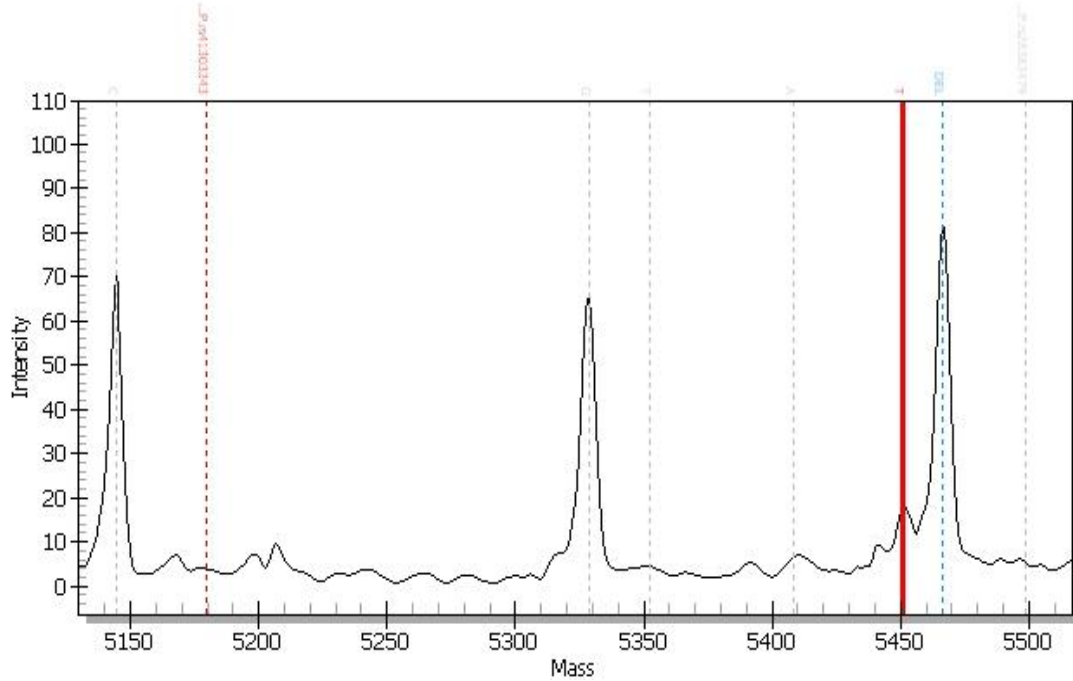
Delesyon: Normal, TDelesyon: Heterozigot, T:Homozigot olarak değerlendirilmiştir.

Rs41303343 için primerler:

Forward: 3'- ACGTTGGATGCTGTTTCTTTCCTTCCAGGC-5' ve

Reverse: 5'- ACGTTGGATGACCACCATGTCAAGGTACTC - 3' dür.

rs41303343



Şekil 9. 36 numaralı NS hastasının rs41303343 SNP'ye ait dağılım grafiği

CYP3A5: (3699C>T) rs55817950 SNP'ye ait sekans

CAGTCTCTTAAAAAGTNCATRTGTAC[A/G]GGTCCCATATCTACAAAGTGAAACA
G: Normal, GA: Heterozigot, A: Homozigot olarak değerlendirilmiştir.

Rs55817950 için primerler:

Forward: 3'- ACGTTGGATGCCTGGAATTCCCAGTCTCTT -5' ve

Reverse: 5'- ACGTTGGATGAAGTCACAATCCCTGTGACC - 3' dür.

CYP3A5: (6986A>G) rs776746 SNP'ye ait sekans

TCTTTAAAGAGCTCTTTTGTCTTTCA[A/G]TATCTCTTCCCTGTTTGGACCACAT
A: Normal, AG: Heterozigot, G: Homozigot olarak değerlendirilmiştir.

Rs776746 için primerler:

Forward: 3'- ACGTTGGATGCAGCTTAACGAATGCTCTAC -5' ve

Reverse: 5'- ACGTTGGATGGTAATGTGGTCCAAACAGGG- 3' dür.

CYP3A5: (14690G>A) rs10264272 SNP'ye ait sekans

TCTAAGAAACCAAATTTTAGGAACTT[C/T]TTAGTGCTCTCCACAAAGGGGTCTT
C: Normal, CT: Heterozigot, T: Homozigot olarak değerlendirilmiştir.

Rs10264272 için primerler:

Forward: 3'- ACGTTGGATGGCCACATACTTATTGAGAG - 5' ve

Reverse: 5'- ACGTTGGATGAGACCCCTTGTGGAGAG- 3' dür.

CYP3A4: (21896C>T) rs12721629 SNP'ye ait sekans

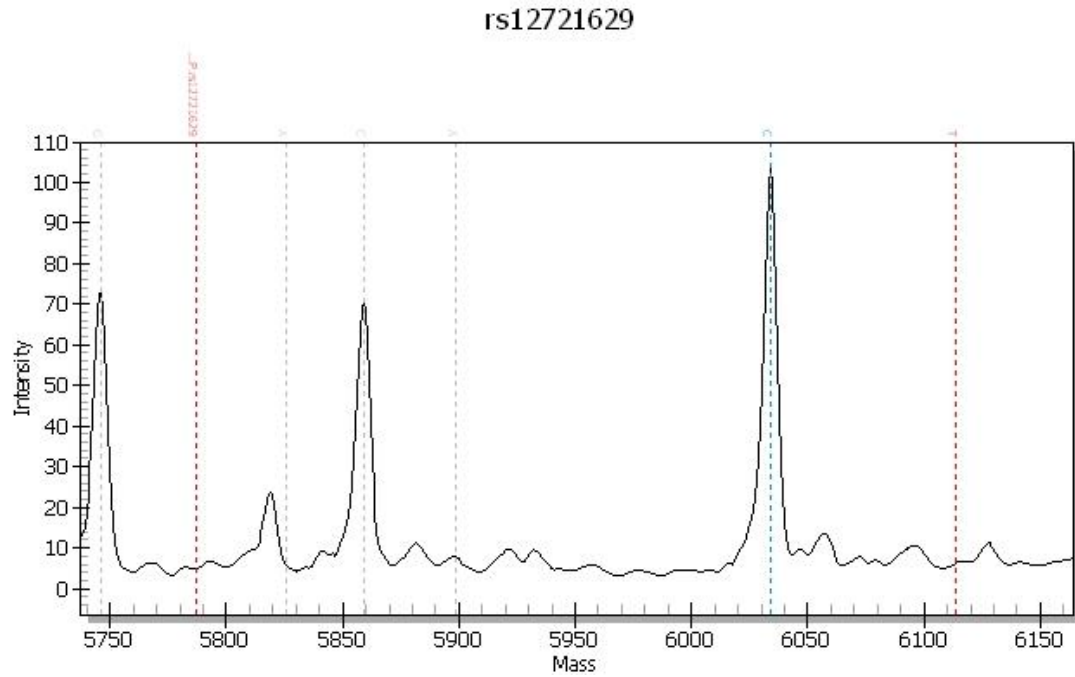
TCAGATTATTCCCAATTGCTATGAGA[C/T]TTGAGAGGGTCTGCAAAAAAGATGT

C: Normal, CT: Heterozigot, T: Homozigot olarak değerlendirilmiştir.

Rs12721629 için primerler:

Forward: 3'- ACGTTGGATGGCTCAGATTATTCCCAATTGC -5' ve

Reverse: 5'- ACGTTGGATGCACCCCTTTGGGAATGAACA - 3' dür.



Şekil 10. 36 numaralı NS hastasının rs12721629 SNP'ye ait dağılım grafiği

CYP3A4: (23171T>C) rs4986910 SNP'ye ait sekans

AAGTGGACCCAGAACTGCATTGGCA[C/T]GAGGTTTGCTCTCATGAACATGAAA

T: Normal, TC: Heterozigot, C: Homozigot olarak değerlendirilmiştir.

Rs4986910 için primerler:

Forward: 3'- ACGTTGGATGTACACACCCTTTGGAAGTGG -5' ve

Reverse: 5'- ACGTTGGATGTGAAGGACTCTGATTAGAGC - 3' dür.

Her bir grup için çalışılan genlerin allel frekansları aşağıdaki formülle hesaplandı:
(83).

$$\text{Allel frekansı} = \frac{(2 \times \text{o grup için homozigot sayısı}) + \text{aynı grubun heterozigot sayısı}}{2 \times \text{aynı gruptaki toplam hasta sayısı}}$$

2.1. İstatistiksel analizler

Olguların verileri SPSS 15.0 programında oluşturulan veri tabanına girildi ve verinin istatistiksel analizleri yine aynı program ile yapıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu tek örneklem kolmogorov-smirnov testi ile değerlendirildi. Parametrik sonuçlar (ikili grupların normal dağılım gösteren veriler yönünden ortalamaları arasındaki farkın anlamlı olup olmadığı) standart t testi ile parametrik olmayan sonuçlar (normal dağılım göstermeyen veriler yönünden ortalamaları arasındaki farkın anlamlı olup olmadığı) Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı. Oranların karşılaştırılması Ki-kare (χ^2) testi ile değerlendirildi. Normal dağılım göstermeyen verilere sahip üçlü grup ölçümlerinin karşılaştırılması Kruskal-Wallis testi ile yapıldı. P değerinin $<0,05$ olması istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Çocuk Nefroloji Bilim Dalı'nda izlenen 53 NS tanılı çocuk ile kronik hastalığı olmayan 22 sağlıklı çocuk çalışmaya dahil edildi.

Hastalarımızın yaş aralığı 1-18 yıl ($8,96\pm4,26$) arasında değişiyordu. Çalışmaya alınan NS'li 53 çocuğun 39'u (%73,6) erkek, 14'ü (%26,4) kız olup, erkek/kız oranı $39/14=2,78$ idi. Hastaların ortalama tanı yaşı 5 yaş 4 ay (6 ay-16 yaş) olarak bulundu. Kızların ortalama tanı yaşı 5 yaş 10 ay olup, erkeklerden daha fazlaydı. Hastaların ortalama vücut ağırlığı $31,77\pm15,52$ kg ve ortalama boyları $128,73\pm22,72$ cm idi.

Nefrotik sendrom olguları ve kontrol grubu hastalarının yaş ve cinsiyet açısından aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0,05$). Olgularımızın demografik verileri Tablo 3'de verildi.

Tablo 3. Olguların Demografik Özellikleri

	Nefrotik Sendrom n=53	Kontrol N=22	P değeri
Yaş (yıl $\pm$ SD)	$8,96\pm4,26^*$	$8,48\pm4,46$	$>0,05$
Cinsiyet (kız/erkek)	14 (%26,4) / 39 (%73,6)	9 (%40,95) / 13 (%59,1)	$>0,05$

*Normal dağılım gösteren veriler ortalama $\pm$ SD, Normal dağılım göstermeyen veriler ortanca (min-max) olarak ifade edilmiştir.

On üç hastanın (%24,5) anne-babası arasında akrabalık bulunmaktayken 40 hastanın (%75,5) ebeveynleri arasında akrabalık yoktu.

Polikliniğimize başvuran NS'li olgularının en sık başvuru semptomu göz kapaklarında şişlikti (%96,2). Olgularımızın başvuru bulguları Tablo 4'de verildi.

Tablo 4. Olguların başvuru bulguları

Semptom	N (%)
Göz kapaklarında şişlik	51 (% 96,2)
Pretibial ödem	48 (% 90,5)
Karın ağrısı	10 (% 18,8)
Karında şişkinlik	5 (% 9,4)
Az idrara çıkma	4 (% 7,5)
Skrotal ödem	4 (% 7,5)
Baş ağrısı	2 (%3,7)
Hipertansiyon	2 (%3,7)
Hematüri	1 (%1,8)
Kusma	1 (%1,8)

Olgularımız steroid tedavisine verdikleri yanıtı göre steroidde duyarlı ve dirençli olarak iki grupta değerlendirildi. Nefrotik sendrom tanılı 53 hastanın 45'i (%84,9) steroidde duyarlı, 8'i (%15,1) steroidde dirençli idi. Kontrol grubunda ise 22 hasta vardı. Steroidde duyarlı grubun yaş ortalaması $8,67 \pm 3,42$ yıl, steroidde dirençli grubun yaş ortalaması $10,63 \pm 6,23$ yıl, kontrol grubunun yaş ortalaması ise $8,48 \pm 4,46$ yıl olup her üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p > 0,05$).

Steroidde duyarlı gruptaki 45 hastanın 9'u (%20) kız, 36'sı (%80) erkek idi. Steroidde dirençli gruptaki 8 hastanın ise 5'i (%62,5) kız, üçü (%37,5) erkek idi. Kontrol grubundaki 22 hastanın ise 9'u (%40,9) kız, 13'ü (%59,1) erkek idi. Cinsiyet dağılımına baktığımızda steroidde dirençli grupta kızların daha fazla olduğu saptandı ($p < 0,05$). Nefrotik sendrom genel olarak erkeklerde daha sık görülürken steroidde dirençli grupta kızların fazla olduğu görüldü.

Hastaların tanı yaşları değerlendirildiğinde ise, steroidde duyarlı grubun tanı yaşı 4 yıl (1-14), steroidde dirençli grubun tanı yaşı 4,5 yıl (0,5-16) olarak bulundu.

Hastaların vücut ağırlıkları ve boyları bakımından her üç grup arasında istatistiksel farklılık yoktu. Steroid tedavisine yanıtına göre olgularımızın demografik verileri Tablo 5'de verildi.

Steroidde dirençli ve duyarlı grupların ailesinde NS öyküsü olan bireylerin olduğu ve bu iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark olduğu belirlendi ($p < 0,05$). Steroidde yanıtı grupta 45 hastanın ikisinde, dirençli grupta ise 8 hastanın üçünde NS aile öyküsü mevcuttu. Ayrıca steroidde dirençli NS'li hasta grubunda NS aile öyküsünün kız hastalarda daha fazla (%67) olduğu saptandı.

Tablo 5. Steroid tedavisine yanıtına göre olguların demografik verileri

	Steroide dirençli	Steroid duyarlı	P değeri
	n=8	n=45	
Yaş (yıl±SD)	10,63±6,23*	8,67±3,42*	>0.05
Cinsiyet (kız/Erkek)	5 (%35,7) / 3 (%7,7)	9 (%64,3) / 36 (%92,3)	>0.05
Vücut ağırlığı (kg±SD)	34,25± 20,4*	31,33±14,74*	>0.05
Boy (cm±SD)	129,12±31,88*	128,66±21,17*	>0.05
Tanı yaşı (yıl)	4,5 (0,5-16)**	4 (1-14)**	<0.05
NS aile öyküsü (n %)	3 (%37,5)	2 (%4,4)	<0.05

*Normal dağılım gösteren veriler ortalama±SD, **Normal dağılım göstermeyen veriler ortanca (min-max) olarak ifade edilmiştir.

Hastalık başlangıcında 2 hastada hipertansiyon (%3,77) belirlendi. Steroide duyarlı ve dirençli grupların her birinde birer hastanın kan basıncı yüksek saptanmış olup, her iki grup arasında kan basıncı yükseklikleri bakımından istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

Nefrotik sendromlu hastaların total protein değeri $4,31\pm0,70$ g/dL ve albümin değeri $1,18\pm0,50$ g/dL, üre 31,92 (3-118) mg/dL ve kreatin 0,6 (0,10-3,70) mg/dL idi. Serum üre ve kreatin değerlerinde steroide duyarlı ve dirençli gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görüldü. Steroide dirençli grupta serum üre ve kreatin değerleri duyarlı gruba göre anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0,05$).

Nefrotik sendromlu hastaların idrar protein/kreatin oranı $6,79\pm3,76$ idi. Tanı anında günlük protein atılımı $124,59\pm62,13$ mg/kg/gün olarak saptandı. Spot idrar protein/kreatin oranı steroide yanıtı grupta $6,56\pm3,92$, steroide dirençli grupta $8,08\pm2,50$ idi. Tanı anındaki günlük proteinüri miktarı steroide duyarlı grupta $128,2\pm64,31$ mg/kg/gün iken steroide dirençli grupta $104,32\pm46,12$ mg/kg/gün idi ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($P>0,05$).

Hematüri görülme sıklığı erkeklerde daha fazla olup kızlarda 3 hastada erkeklerde ise 6 hastada hematüri belirlendi. Nefrotik sendromlu hasta grubunda bir hastada (%1,88) makroskobik hematüri ve 8 hastada (%15,09) mikroskobik hematüri saptandı. Steroide dirençli ve duyarlı gruplar arasında hematüri saptanması açısından anlamlı farklılık yoktu ($p>0,05$). Steroide yanıtı grupta 45 hastanın 8'inde (%17,7) hematüri saptandı; bunların 7'sinde mikroskobik hematüri, birinde makroskobik

hematüri tespit edildi. Steroide dirençli grupta ise bir hastada (%12,5) mikroskobik hematüri saptandı.

Steroide dirençli ve duyarlı gruplar arasında laboratuvar tetkiklerinden beyaz küre, hemoglobin ve trombosit, total protein, albümin, kolesterol, trigliserit değerleri arasında istatistiksel anlamlı farklılık yoktu (Tablo 6).

Tablo 6. Nefrotik Sendrom hastalarının laboratuvar bulguları

	Steroide duyarlı n=45	Steroide dirençli n=8	P değeri
Beyaz küre (K/uL)	9.831,53±4.125,85*	8.722,50±2.125,81*	>0.05
Hemoglobin (g/dL)	13,6±1,4*	12,5±1,5*	>0.05
Trombosit (/mm ³)	419.222,22±119.727,32*	410.625,00±1543.89,98*	>0.05
Serum üre (mg/dL)	25 (11-118)**	42,12 (3-108)**	<0,05
Serum kreatin (mg/dL)	0,5 (0,2-2)**	1,13 (0,1-3,7)**	<0,05
Total protein (g/dL)	4,36±0,72*	4,05±0,53*	>0.05
Albümin (g/dL)	1,87±0,53*	1,92±0,31*	>0.05
Total kolesterol (mg/dL)	373,63±101,86*	348,75±96,82*	>0.05
Trigliserit (mg/dL)	222,76±97,78*	226,37±72,97*	>0.05
İdrar Prot/kreatin (mg/dl)	6,56±3,92*	8,06±2,50*	>0.05
Proteinüri (mg/kg/gün)	128,20±64,31*	104,32±46,12*	>0.05

*Normal dağılım gösteren veriler ortalama±SD, **Normal dağılım göstermeyen veriler ortanca (min-max) olarak ifade edilmiştir.

Böbrek fonksiyonları açısından hastalar değerlendirildiğinde, hastaların glomerüler filtrasyon hızları Schwartz yöntemi ile hesaplanmış olup steroide yanıtli grupta 152,80±36,45 ml/dak/1,73m², steroide dirençli grupta 168,75±130,26 ml/dak/1,73m² olarak bulundu (p>0,05). Tanı sırasında üç hastada (%5,66) böbrek yetmezliği vardı. Steroide yanıtli gruptaki bir hastanın böbrek yetmezliği tedavi ile gerilerken, steroide dirençli gruptaki FSGS tanısı olan iki hasta SDBY'ne ilerledi.

Antiglomerüler bazal membran antikoru tüm hastalarda negatif idi. C3 düşüklüğü steroide yanıtli grupta iki hastada saptanırken, steroide dirençli grupta saptanmadı. C3 yüksekliği ise steroide dirençli grupta 8 hastanın birinde, steroide yanıtli grupta ise 7 hastada saptandı. C4 düşüklüğü hiçbir hastada saptanmazken, C4 yüksekliği steroide duyarlı grupta 11 hastada, dirençli grupta bir hastada saptandı. C3 ve C4 değerleri açısından gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı (p>0.05).

Elli üç hastanın 21'ine (%39,6) böbrek biyopsisi yapıldı. Biyopsi yapılan 21 hastanın biyopsi bulguları 9 hastada FSGS (%42,8), 5 hastada MezPGN (%23,8), 5 hastada MCNS (%23,8), bir hastada MPGN (%4,8), bir hastada C1q Nefropatisi (%4,8) ile uyumluydu. Steroide dirençli gruptaki tüm hastalara biyopsi yapıldı. Dirençli grupta üç hastada MezPGN, üç hastada FSGS, iki hastada MCNS saptandı. Steroide yanıtli grupta ise 13 hastaya böbrek biyopsisi yapıldı ve bir hastada MPGN, iki hastada MezPGN, 6 hastada FSGS, bir hastada C1q nefropatisi ve üç hastada MCNS saptandı (Tablo 7).

Tablo 7. Nefrotik Sendrom olgularının böbrek biyopsi sonuçları

BİYOPSİ SONUÇLARI					
	MPGN	MezPGN	FSGS	C1Q Nefropati	MCNS
SSNS (n)	1	2	6	1	3
SRNS (n)	0	3	3	0	2
Tüm NS'li hastalar (n)	1	5	9	1	5

Her iki grup arasında podosin ve nefrin mutasyonları değerlendirildi. Nefrin için A1105G, T763C, T741C olmak üzere üç mutasyon, podosin için ise G346A ve T318C olmak üzere iki mutasyon bakıldı. Steroide dirençli hastaların tümünde podosin mutasyonu saptanırken, steroide yanıtli hastaların 40'ında (%88,9) mutasyon saptandı, 5'inde (%11,1) ise saptanmadı ($p>0,05$). Benzer şekilde nefrin mutasyonu da steroide dirençli hastaların tümünde saptanırken, steroide yanıtli hastaların 38'inde (%84,4) mutasyon saptandı, 7'sinde (%15,6) ise saptanmadı ($p>0,05$). Tablo 8'de steroide duyarlı ve dirençli hastaların nefrin (A1105G, T763C, T741C) ve podosin (G346A ve T318C) mutasyonları ayrı ayrı verildi.

Tablo 8. Olguların nefrin ve podosin sonuçları

	SSNS n=45	SRNS n=8	P değeri
NEFRIN A1105G mutasyonu	37 (%82)	7 (%87,5)	>0,05
NEFRIN T763C mutasyonu	3 (%6,6)	2 (%25)	>0,05
NEFRIN T741C mutasyonu	1 (%2,2)	1 (%12,5)	>0,05
PODOSIN G346A mutasyonu	3 (%6,6)	1 (%12,5)	>0,05
PODOSIN T318C mutasyonu	39 (%86,6)	8 (%100)	>0,05

Podosin mutasyonu ile biyopsi sonuçları karşılaştırıldığında biyopsi yapılan 21 hastanın 9'unda FSGS saptandı. FSGS olan hastaların tamamında ise podosin mutasyonu bulundu. Ancak podosin ve nefrin mutasyonları ile biyopsi sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Tablo 9'da podosin ve nefrin sonuçları ile biyopsi sonuçları verildi.

Tablo 9. Olguların nefrin ve podosin sonuçları ile biyopsi sonuçlarının karşılaştırılması

Biyopsi sonuçları	Nefrin mutasyonu	Podosin mutasyonu	P değeri
MPGN (n=1)	1 (%100)	1 (%100)	>0,05
MezPGN (n=5)	5 (%100)	4 (%80)	>0,05
FSGS (n=9)	8 (%88,8)	9 (%100)	>0,05
C1Q Nefropati (n=1)	1 (%100)	1 (%100)	>0,05
MCNS (n=5)	5 (%100)	4 (%80)	>0,05

Fokal segmental glomerüloskleroz tanısı alan 9 hastanın tümünde podosin T318C mutasyonu saptandı, 7'sinde nefrin A1105G mutasyonu, birer hastada ise nefrin T763C, T741C ve podosin G346A mutasyonu belirlendi. Mezengiyal proliferatif GN tanısı olan 5 hastanın tümünde podosin T318C mutasyonu, dördünde ise nefrin A1105G mutasyonu saptandı. Nefrin T763C, T741C ve podosin G346A mutasyonu ise saptanmadı. Minimal değişiklik biyopsi sonucu olan 5 hastanın tümünde nefrin A1105G mutasyonu, dördünde ise podosin T318C mutasyonu saptandı. Nefrin T763C, T741C ve podosin G346A mutasyonu ise saptanmadı. C1Q nefropati ve MPGN tanısı olan birer hastada da nefrin A1105G ve podosin T318C mutasyonu saptandı. Nefrin T763C, T741C ve podosin G346A mutasyonu ise saptanmadı.

Steroid tedavisine yanıtın değerlendirilmesinde ilaç eliminasyonundan sorumlu genlerin ve polimorfizmlerinin rolünü belirlemek amacı ile nefrotik sendromlu ve kontrol grubundaki hastaların genetik polimorfizmleri belirlendi. Her hastanın MDR-1, CYP3A4 ve CYP3A5 genetik polimorfizmleri belirlendi ve SNP'ler arasındaki korelasyon ve tedaviye yanıtları analiz edildi. Bu çalışmada analiz edilen genetik polimorfizmler MDR-1 için C3435T (rs1045642), C1236T (rs1128503), G2677A (rs2032582), G199A (rs2229109), A61T (rs9282564); CYP3A5 için C27289A (rs28365083), G18386A (rs28383479), 27131_27132insT

(rs41303343), C3699T (rs55817950), A6986G (rs776746), G14690A (rs10264272); CYP3A4 için ise C21896T (rs12721629), T23171C (rs4986910) idi. CYP3A5 rs283650, rs283834, rs558179 ve rs102642 polimorfizmleri ile CYP3A4 rs127216, rs498691 polimorfizmleri hiçbir hastada saptanmadı. Polimorfizm saptanan MDR-1 rs1045642, rs112850, rs203258, rs222910, rs928256 ve CYP3A5 rs776746, rs413033 karşılaştırıldığında NS'li olgular ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). Tablo 10'da polimorfizmlerin gruplar arasında karşılaştırmalı sonuçları verildi.

Tablo 10. Polimorfizmlerin gruplar arasında karşılaştırmalı sonuçları

	NS'li hastalar n:53	Kontrol n:22	P değeri
MDR-1rs1045642			>0,05
Normal: C	13 (%24,5)	6 (%27,3)	
Heterozigot: CT	23 (%43,4)	11 (%50)	
Homozigot: T	17 (%32,1)	5 (%22,7)	
MDR-1rs1128503			>0,05
Normal: C	15 (%28,3)	4 (%18,2)	
Heterozigot: CT	28 (%52,8)	12 (%54,5)	
Homozigot: T	10 (%18,9)	6 (%27,3)	
MDR-1rs2032582			>0,05
Normal: G	16 (%30,2)	5 (%22,73)	
Heterozigot: GT ,GA	28 (%52,8)	12 (%54,54)	
Homozigot: T,A,TA	9 (%17)	5 (%22,73)	
MDR-1rs2229109			>0,05
Normal: G	47 (%88,7)	21 (%95,5)	
Heterozigot: GA	6 (%11,3)	1 (%4,5)	
Homozigot: A	0	0	
MDR-1rs928256			>0,05
Normal: A	52 (%98,1)	22(%100)	
Heterozigot: GA	1 (%1,9)	0	
Homozigot: G	0	0	
CYP3A5rs413033			>0,05
Normal: Del	52 (%98,1)	22(%100)	
Heterozigot: Tdel	1 (%1,9)	0	
Homozigot:	0	0	
CYP3A5rs776746			>0,05
Normal: A	0	0	
Heterozigot: A G	3 (%5,7)	2 (%9,1)	
Homozigot: G	50 (%94,3)	20 (%90,9)	

Steroide duyarlı ve dirençli olgulardaki polimorfizmler değerlendirildiğinde de istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 11).

Tablo 11. MDR-1, CYP3A5 polimorfizmlerinin gruplar arasında karşılaştırmalı sonuçları

	Steroide duyarlı n:45	Steroide dirençli n:8	P değeri
MDR-1rs1045642			>0,05
Normal: C	11 (%24,4)	2 (%25)	
Heterozigot: CT	18 (%40)	5 (%62,5)	
Homozigot:T	16 (%35,6)	1 (%12,5)	
MDR-1rs112850			>0,05
Normal: C	13 (%28,9)	2 (%25)	
Heterozigot: CT	23 (%51,1)	5 (%62,5)	
Homozigot: T	9 (%20)	1 (%12,5)	
MDR-1rs2032582			>0,05
Normal: G	14 (%31,1)	2 (%25)	
Heterozigot:GT,GA	23 (%51,1)	5 (%62,5)	
Homozigot: T,A, TA	8 (%17,8)	1 (%12,5)	
MDR-1rs2229109			>0,05
Normal: G	40 (%88,9)	7 (%87,5)	
Heterozigot: GA	5 (%11,1)	1 (%12,5)	
Homozigot: A	0	0	
MDR-1rs928256			>0,05
Normal: A	44 (%97,8)	8 (%100)	
Heterozigot: GA	1 (%2,2)	0	
Homozigot: G	0	0	
CYP3A5rs413033			>0,05
Normal: Del	44 (%97,8)	8 (%100)	
Heterozigot: Tdel	1 (%2,2)	0	
Homozigot:	0	0	
CYP3A5rs776746			>0,05
Normal: G	0	0	
Heterozigot: GA	2 (%4,4)	1 (%12,5)	
Homozigot: A	43 (%95,6)	7 (%87,5)	

Çoklu ilaç direnç-1 geni rs1045642 polimorfizmi steroide duyarlı 45 hastanın 34'ünde (%75,6), steroide dirençli 8 hastanın 6'sında (%75), kontrol grubunda ise 22 hastanın 16'sında (%72,7) saptandı ve her üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$).

Çoklu ilaç direnç-1 geni rs1128503 polimorfizmi steroide duyarlı 45 hastanın 32'sinde (%77,1), steroide dirençli 8 hastanın 6'sında (%75) kontrol grubunda ise 22 hastanın 18'inde (%81,8) saptandı ve 3 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$).

Çoklu ilaç direnç-1 geni rs203258 polimorfizmi steroide duyarlı 45 hastanın 31'inde (%68,9), steroide dirençli 8 hastanın 6'sında (%75), kontrol grubunda ise 22 hastanın 17'sinde (%77,3) saptandı ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir

fark saptanmadı ($p>0,05$).

Çoklu ilaç direnç-1 geni rs222910 polimorfizmi steroide duyarlı 45 hastanın 5'inde (%11,1), steroide dirençli 8 hastanın birinde (%12,5), kontrol grubunda ise 22 hastanın birinde (%4,5) saptandı ($p>0,05$).

Çoklu ilaç direnç-1 geni rs928256 polimorfizmi steroide duyarlı 45 hastanın birinde (%2,2) saptandı, steroide dirençli ve kontrol grubunun hiçbirinde herhangi bir polimorfizm saptanmadı. ($p>0,05$).

Sitokrom 3A5 rs283650, rs283834, rs558179 ve rs102642 polimorfizmleri hiçbir hastada saptanmazken; CYP3A5 rs413033 polimorfizmi steroide duyarlı bir hastada (%2,2) saptandı ($p>0,05$).

Sitokrom 3A5 rs776746 polimorfizmi ise steroide duyarlı ve dirençli hastaların tamamında mevcuttu.

Onsekiz hastada (%33,96) steroid tedavisine ek olarak siklofosfamid, siklosporin ya da diğer immünsüpresif ilaçlar kullanılmıştı.

Çoklu ilaç direnç-1 geni rs1128503 polimorfizmi olan hastalarda siklofosfamid tedavisine yanıt istatistiksel değerlendirmede anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p<0,05$). Siklofosfamid tedavisi alan toplam 14 hasta vardı. Bunların 8'i (%57,1) siklofosfamid tedavisine yanıt vermezken 6 hastada (%42,9) ise yanıt gözlendi. Siklofosfamid tedavisine yanıt alınan 6 hastanın tümünde MDR-1 rs112850 polimorfizmi saptandı, yanıt vermeyen 8 hastanın ise dördünde mutasyon yokken, dördünde ise polimorfizm saptandı. Ancak diğer MDR-1, CYP3A5 ve CYP3A4 polimorfizmleri açısından siklofosfamid direnci arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0,05$).

Siklosporin tedavisi alan ise toplam 13 hasta vardı. Bunların 8'i (%61,5) siklosporin tedavisine yanıt vermezken 5 hastada (%38,5) ise remisyon gözlendi. MDR-1, CYP3A5 ve CYP3A4 polimorfizmlerinin siklosporin cevabı açısından bir önemi olmadığı belirlendi ($p>0,05$).

Nefrotik sendrom ile kontrol grubu arasında MDR-1 geninde bakılan tüm polimorfizmlerin allel frekansları (mutant ve normal) değerlendirildi ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 12).

Tablo 12. Nefrotik sendrom ve kontrol grubu hastalarında MDR-1 gen polimorfizminin ve allel frekansının karşılaştırılması

Polimorfizm	Genotip			Allel		P değeri
C3435T (rs1045642)	CC	CT	TT	C	T	>0,05
NS (n=53)	13 (%24,5)	23 (%43,4)	17 (32,1)	0,46	0,55	
Kontrol (n=22)	6 (%27,3)	11 (%50)	5 (%22,7)	0,52	0,48	
C1236T (rs1128503)	CC	CT	TT	C	T	>0,05
NS (n=53)	15 (%28,3)	28 (%52,8)	10 (%18,9)	0,55	0,45	
Kontrol (n=22)	4 (%18,2)	12 (%54,5)	6 (%27,3)	0,45	0,55	
G2677A (rs2032582)	GG	GT,GA	T,A,TA	G	T,A	>0,05
NS (n=53)	16 (%30,2)	28 (%52,8)	9 (%17)	0,57	0,43	
Kontrol (n=22)	5 (%22,73)	12 (%54,5)	5 (%22,7)	0,50	0,50	
G199A (rs2229109)	GG	GA	AA	G	A	>0,05
NS (n=53)	47 (%88,7)	6 (%11,3)	0	0,94	0,06	
Kontrol (n=22)	21 (%95,5)	1 (%4,5)	0	0,97	0,03	
A61T (rs9282564)	AA	AG	GG	A	G	>0,05
NS (n=53)	52 (%98,1)	1 (%1,9)	0	0,99	0,01	
Kontrol (n=22)	22 (%100)	0	0	1	0	

Nefrotik sendrom ile kontrol grubu arasında MDR-1 C3435T (rs1045642) için T allel frekansı karşılaştırıldı ve sırasıyla 0,55 ve 0,48 olarak bulundu ($p>0,05$). MDR-1 C1236T (rs1128503) için bakılan T allel frekansı sırasıyla 0,45 ve 0,55 idi ($p>0,05$), MDR-1 G2677A (rs2032582) için T, A allel frekansı sırasıyla 0,43 ve 0,50 ($p>0,05$), MDR-1 G199A (rs2229109) için A allel frekansı sırasıyla 0,06 ve 0,03 ($P>0,05$) ve MDR-1 A61T (rs9282564) için G allel frekansı 0,01 ve 0 bulundu ($P>0,05$).

Nefrotik sendrom ile kontrol grubu arasında CYP3A5 geninde bakılan tüm polimorfizmlerin allel frekansları (mutant ve normal) değerlendirildi ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 13).

Tablo 13. Nefrotik sendrom ve kontrol grubu hastalarında CYP3A5 gen polimorfizminin ve allel frekansının karşılaştırılması

Polimorfizm	Genotip			Allel		P değeri
27131_27132insT (rs41303343)	Delesyon	Tdelesyon	T	Delesyon	T	>0,05
NS (n=53)	52 (%98,1)	1 (%1,9)	0	0,99	0,01	
Kontrol (n=22)	22 (%100)	0	0	1	0	
A6986G (rs776746)	AA	AG	GG	A	G	>0,05
NS (n=53)	0	3 (%5,7)	50 (%94,3)	0,03	0,97	
Kontrol (n=22)	0	2 (%9,1)	20 (%90,9)	0,05	0,95	

Nefrotik sendrom ile kontrol grubu arasında CYP3A5 27131_27132insT (rs41303343) için T allel frekansı karşılaştırıldı ve sırasıyla 0,01 ve 0 olarak bulundu ($p>0,05$). CYP3A5 A6986G (rs776746) için G allel frekansı ise sırasıyla 0,97 ve 0,95 idi ($p>0,05$).

Steroide duyarlı ve dirençli hastalarda MDR-1 geninde bakılan tüm polimorfizmlerin allel frekansları (mutant ve normal) değerlendirildi ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 14).

Tablo 14. Steroide duyarlı ve dirençli hastalarda MDR-1 gen polimorfizminin ve allel frekansının karşılaştırılması

Polimorfizm	Genotip			Allel		P değeri
C3435T (rs1045642)	CC	CT	TT	C	T	>0,05
SSNS (n=45)	11 (%24,4)	18 (%40)	16 (35,6)	0,44	0,56	
SRNS (n=8)	2 (%25)	5 (%62,5)	1 (%12,5)	0,56	0,44	
C1236T (rs1128503)	CC	CT	TT	C	T	>0,05
SSNS (n=45)	13 (%28,9)	23 (%51,1)	9 (%20)	0,54	0,46	
SRNS (n=8)	2 (%25)	5 (%62,5)	1 (%12,5)	0,56	0,44	
G2677A (rs2032582)	GG	GT,GA	T,A,TA	G	T,A	>0,05
SSNS (n=45)	14 (%31,1)	23 (%51,1)	8 (%17,8)	0,57	0,43	
SRNS (n=8)	2 (%25)	5 (%62,5)	1 (%12,5)	0,56	0,44	
G199A (rs2229109)	GG	GA	AA	G	A	>0,05
SSNS (n=45)	40 (%88,9)	5 (%11,1)	0	0,94	0,06	
SRNS (n=8)	7 (%87,5)	1 (%12,5)	0	0,94	0,06	
A61T (rs9282564)	AA	AG	GG	A	G	>0,05
SSNS (n=45)	0	1 (%2,2)	44 (%97,8)	0,99	0,01	
SRNS (n=8)	0	0	8 (%100)	1	0	

Steroide duyarlı ve dirençli hastalar arasında MDR-1 C3435T (rs1045642) için T allel frekansı karşılaştırıldı ve sırasıyla 0,56 ve 0,44 olarak bulundu ($p>0,05$). MDR-1 C1236T (rs1128503) için bakılan T allel frekansı sırasıyla 0,46 ve 0,44 idi ($p>0,05$), MDR-1 G2677A (rs2032582) için T, A allel frekansı sırasıyla 0,43 ve 0,44 ($p>0,05$), MDR-1 G199A (rs2229109) için A allel frekansı sırasıyla 0,06 ve 0,06 ($P>0,05$) ve MDR-1 A61T (rs9282564) için G allel frekansı 0,01 ve 0 bulundu ($P>0,05$).

Steroide duyarlı ve dirençli hastalarda CYP3A5 geninde bakılan tüm polimorfizmlerin allel frekansları (mutant ve normal) değerlendirildi ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 15).

Tablo 15. Steroide duyarlı ve dirençli hastalarda CYP3A5 gen polimorfizminin ve allel frekansının karşılaştırılması

Polimorfizm	Genotip			Allel		P değeri
27131_27132insT (rs41303343)	Delesyon	Tdelesyon	T	Delesyon	T	>0,05
SSNS (n=45)	44 (%97,8)	1 (%2,2)	0	0,99	0,01	
SRNS (n=8)	8 (%100)	0	0	1	0	
A6986G (rs776746)	AA	AG	GG	A	G	>0,05
SSNS (n=45)	0	2 (%4,4)	43 (%95,6)	0,02	0,98	
SRNS (n=8)	0	1 (%12,5)	7 (%87,5)	0,06	0,94	

Steroide duyarlı ve dirençli hastalar arasında CYP3A5 27131_27132insT (rs41303343) için T allel frekansı karşılaştırıldı ve sırasıyla 0,01 ve 0 olarak bulundu ($p>0,05$). CYP3A5 A6986G (rs776746) için G allel frekansı ise sırasıyla 0,98 ve 0,94 idi ($p>0,05$).

4. TARTIŞMA

Nefrotik sendrom, glomerüler kapiller duvarda yarı geçirgenliğin bozulması ve idrarla protein kaybını önleme yeteneğini kaybetmesi ile karakterize; yoğun proteinüri, hipoalbuminemi, hiperlipidemi ve ödemin görüldüğü çocukluk çağıının kronik hastalığıdır. Çocukluk çağıında iki ile altı yaş arasında en sık görülmektedir. Olgularımızın yaş ve cinsiyet dağılımı literatür bilgileri ile uyumlu idi (84, 85). Ortalama tanı yaşı dört yaş olup, literatürde bildirilen ortalama tanı yaşından daha düşük idi (86). Wasilewska ve ark.'nın (6) çalışmasında olduğu gibi çalışmamızda da kızların tanı yaşı 5 yaş 10 ay idi ve erkeklerden daha yüksek bulundu.

Çalışmalarda nefrotik sendromlu hastalarda steroid tedavisine yanıt %63,4 - %88 arasında bildirilmiştir. Çalışmamızda SSNS'li hastalar % 84,9 oranında olup önceki çalışmalarla benzer oranlarda idi. (5, 85, 87-91).

Steroid dirençli NS'li hasta grubunun ortalama tanı yaşı 4,5 yaş, SSNS'li grubun ortalama tanı yaşı 4 yaş olup, her iki grup için literatürde bildirilen ortalama tanı yaşından daha küçük bulundu (5).

Mortazavi ve ark. (85) çalışmamıza benzer şekilde kızlarda SRNS'nin erkeklerden daha fazla oranda görüldüğünü bildirmişlerdir. Ancak bu bulgular hem SRNS hem de SSNS'li hastalarda erkek cinsiyetin daha fazla olduğunu gösteren diğer çalışmalardan farklılık göstermektedir (92-94). 25 sporadik SRNS'li çocuğun dahil edildiği bir çalışmada da çalışmamıza benzer şekilde kız hastaların prevelansı erkek hastalardan daha fazla idi ve aynı çalışmada SRNS'li hastaların ortalama tanı yaşı çalışmamıza benzer bulunmuştu (95).

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

Mortazavi ve ark. (85), hematüri görülme sıklığının kızlarda erkeklere göre daha yüksek olduğunu bildirirken, yaptığımız çalışma hematüri görülme sıklığının erkeklerde daha fazla olduğunu gösterdi.

Çalışmalarda (85, 91) hematürinin görülmesi steroid rezistansını gösteren bir bulgu olarak bildirilmesine karşın çalışmamız bu tezi desteklememektedir. Çalışmamızda 8 hastada hematüri gözlenmiş olup sadece bir hasta SRNS'li hasta olarak değerlendirildi.

Çalışmamızda SRNS'li 8 hastanın ikisi SDBY'ne ilerledi (%25). Bu sonuç önceki çalışmalarla benzerdi (94).

Farklı çalışmalar renal biyopsi ihtiyacı gösteren hastaların oranını %7-42 arasında bildirmektedir (88, 93, 96 - 98). Çalışmamızda %39,6 olup bildirilen diğer çalışmalarla benzerdi. Steroid dirençli nefrotik sendromlu olgularda bildirilen baskın histoloji FSGS'dir (5). Çalışma grubumuzda da böbrek biyopsilerinde %42,8 oranı ile ilk sırada FSGS saptanmıştır. Ejaz ve ark.'nın (99) biyopsi yapılan nefrotik sendromlu hastaları değerlendirdikleri çalışmada, biyopsi sonuçları kıyaslandığında en sık %42 ile FSGS, ikinci sırada %22 ile MCNS, üçüncü sırada %14 ile MPGN ve %12 ile en az oranda Mezengiyoproliferatif glomerulonefrit saptanmıştır. Çalışmamızda elde ettiğimiz biyopsi sonuçları ile kıyaslandığında; 9 hastada FSGS (%42,8), 5 hastada MezPGN (%23,8), 5 hastada MCNS (%23,8), bir hastada MPGN (%4,8), bir hastada C1q nefropatisi (%4,8) saptandı.

Nefrotik sendromda hastaların steroid tedavisine verdikleri yanıt değişkendir. Steroid tedavisine dirençte genetiğin etkisi üzerinde durulmaktadır. Bununla ilgili birçok çalışma mevcuttur (100). Glomerüler kapiller duvardaki podosin ve nefrin üzerinde en çok çalışılan proteinlerdir. Podosin ve nefrin için farklı çalışmalarda farklı mutasyonlar bakılmıştır (100, 101). Bazı yayınlarda steroid direnci ile ilişkilendirilirken (102), bazı çalışmalarda da mutasyonlar ile steroid rezistansının ilişkili olmadığı bildirilmiştir (101). Ancak aynı podosin veya nefrin gen mutasyonunu taşıyan ve biyopsi sonuçları aynı olan hastaların bir kısmının tedaviye yanıt verirken diğerlerinde yanıt gözlenmemesi, hastalığın genetiği dışında ilacın eliminasyonunda etkili genetik faktörlerin de steroid direncinde etkisinin olabileceği hipotezini düşündürmektedir. Çalışmamızda bu hipotezden yola çıkarak ilacın hücre içine alınmasında görevli olan MDR-1 gen polimorfizmi ile ilacın karaciğerde

metabolizmasından major sorumlu olan CYP3A4 ve CYP3A5'in genetik polimorfizmini değerlendirmeyi amaçladık.

Çoklu ilaç direnci hem klinisyenler hem de kanser alanındaki araştırmacılar tarafından yaygın olarak araştırılan bir konudur. Ancak steroid direncini değerlendirmede NS'li hastalar üzerinde yapılan çalışmalar çok sınırlıdır ve hala veriler çok yeterli değildir. Çalışmamızda NS'li hastalarda steroide cevabın belirlenmesinde MDR-1 geni ve ilacın eliminasyonunda gevli CYP3A5 ve CYP3A4 gen polimorfizmlerini değerlendirdik.

Çoklu ilaç direnç-1(MDR-1), sitokrom 3A4 ve sitokrom 3A5 polimorfizmleri ayrı ayrı veya birlikte birçok çalışma ile değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmalarda sınırlı sayıda polimorfizm bakılmış olup yapmış olduğumuz çalışmada MDR-1 için 5, CYP3A5 için 6, CYP3A4 için iki polimorfizm bakıldı. Çalışmamız literatürdeki diğer yayınlarla karşılaştırıldığında bu üç gen için bakılan en geniş polimorfizm ilaç yanıtı çalışmasıdır.

İnsan MDR-1 geni ilaçların etkinliğinde görev alan P-glikoproteini kodlar. MDR-1 polimorfizmi P-glikoproteinin ekspresyonunu ve fonksiyonunu etkileyebileceği gibi ilaç rezistansında kişisel değişiklikleri belirler (103). Her bir SNP'nin farklı etkileri vardır. Örneğin G2677T'deki bir aminoasit değişimi akış transport yeteneğinin artması ile sonuçlanabilir (104) veya C3435T polimorfizmi RNA stabilitesini değiştirerek MDR-1 mRNA seviyesini azaltabilir (105).

Nefrotik sendromlu ocuklarda MDR-1 gen polimorfizminin değerlendirildiği bir çalışmada 170 NS'li ocukta MDR-1 C1236T (rs1128503), G2677T/A (rs2032582) ve C3435T (rs1045642) polimorfizmlerine bakılmıştır. MDR-1 C3435T NS ve kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmamış, MDR-1 1236 CC, TC ve C allel steroide başlangıçta yanıtlı olanlarda yanıtız olanlara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuş ve NS'li hastalarda başlangıç steroid tedavisine yanıtın MDR-1 genindeki genetik çeşitlilik ile açıklanabileceği bildirilmiştir (106). Ancak alışmamızda steroide dirençli ve duyarlı hastalar arasında MDR-1 1236 CC, TC ve C allel oranları birbirine benzer olup istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Wasilewska ve ark. (80) alışmalarında 108 SSNS'li ocukta MDR-1 C1236T (rs1128503), G2677T/A (rs2032582) ve C3435T (rs1045642) genetik polimorfizmlerini klinik ve tedaviye yanıtları bakımından değerlendirmişlerdir.

SSNS'li çocuklar ile sağlıklı kontrol grubu arasında genotipik ve allelik dağılım açısından fark saptamamışlardır. SNP (1236TT, 2677TT, 3435TT) TTT haplodipi başlangıç oral steroide geç yanıt verenlerde (7 günden uzun sürede) erken yanıt verenlere (7 günden kısa sürede) göre daha yüksek bulunmuş ($p<0,05$) ve 2677TT genotipi sık relaps olan hastalarda sık relaps göstermeyenlere göre daha fazla oranda görülmüştür. Aynı çalışmada tüm hastalar SSNS'li olduğu için steroid direnci ile genetik polimorfizm arasındaki ilişki değerlendirilememiştir. Çalışmamızda steroide yanıtli ve bağımlı hastalarımızı değerlendirdiğimizde MDR-1, CYP3A5 ve CYP3A4 polimorfizmleri ile steroide cevap arasında anlamlı bir fark belirlenemedi.

Chiou ve ark. (107) yaptıkları çalışmada 58'i steroide duyarlı, 16'sı dirençli 74 İNS'li çocuğu değerlendirmişlerdir. Çalışmalarında MDR-1 C1236T (rs1128503) polimorfizmini İNS'li çocuklarda steroid rezistansı ile ilişkilendirmişlerdir ($p<0,05$) ve T allel sıklığını SRNS'li grupta SSNS'li gruba göre istatistiksel olarak daha yüksek bulmuşlardır. Ancak yaptığımız çalışmada MDR-1 C1236T (rs1128503) T allel sıklığı SSNS'li grupta SRNS'li gruba göre daha yüksekti, ama istatistiksel olarak anlamlı değildi. Yine aynı bildiride çalışmamızda olduğu gibi MDR-1 G2677T/A ve C3435T ve CYP3A5 A6986G polimorfizmlerinde iki grup arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Hindistan'dan bildirilen başka bir çalışmada 216 NS'li hastada MDR-1 G3435C, G2677T/A, C1236T genetik polimorfizmini steroide verdikleri yanıt açısından değerlendirilmiştir. Nefrotik sendromlu çocuklarda kontrol grubu karşılaştırıldığında MDR-1 C3435T ve G2677T/A polimorfizmlerinin anlamlı olarak daha yüksek olduğu bildirilmiştir. SRNS'li çocuklarda ise MDR-1 G2677T/A polimorfizminin SSNS'li çocuklara göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu bildirilmiştir ($p<0,05$), C3435T ve C1236T polimorfizmlerinde her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulunmuştur (5).

Bireyler arası ve bireyin kendi içindeki farklılıklar ekzojen glukokortikoidlerin eliminasyonundan ve esas olarak glukokortikoidlere yanıtlan sorumludur. Membran transporterlar ve ilacı metabolize eden enzimlerdeki genetik polimorfizmlerin kanıtı giderek artmaktadır (108). Ancak çalışmamızda olduğu gibi NS'li hastalarda steroide yanıtsızlık bu genetik polimorfizmlerden bağımsız olarak da görülmektedir.

Karşılaştırma yaparken şu da göz önünde bulundurulmalıdır ki, çalışılan genlerin farklı populasyonlardaki sağlıklı bireylerdeki dağılımları oldukça değişkenlik göstermektedir. Örneğin Gana’lı populasyon üzerinde yapılan bir çalışmada (62) MDR-1 rs104564 homozigot polimorfizmi %19,6 iken çalışmamızda %50 bulunmuştur. Türk populasyonuna baktığımızda Gümüş-Akay ve ark. (109), MDR-1 C1236T (rs1128503) polimorfizmini Türk populasyonunda 100 sağlıklı bireyde değerlendirdiklerinde, C normal ve T mutant allelleri sırasıyla %45,5 ve %54,5 ayrıca CC, CT ve TT fenotipleri sırasıyla %20, %51 ve % 29 olarak bulmuşlardır. Bu dağılımların Çek Cumhuriyeti, Polonya, Portekiz, Rus ve Japon populasyonu ile benzer, Fransız, Alman, Çin ve Hindistan populasyonu ile farklı olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızla karşılaştıracak olursak sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubumuzda C alleli %45, T alleli %55 olarak bulundu. Daha önce Türk populasyonunda yapılan çalışma (109) ile eşdeğer bulundu. NS’li hasta grubumuzda ise bu oranın tersine döndüğü (C allel %55 ve T allel %45) görüldü.

Nefrotik Sendrom dışında renal transplant hastalarında da MDR-1, CYP3A4 ve CYP3A5 polimorfizmleri birçok çalışmada araştırmacılar tarafından değerlendirilmiştir. Renal transplant hastalarında CYP3A5 ve MDR-1 polimorfizmlerinin prednizolon farmakokinetiği üzerindeki etkilerinin değerlendirildiği Japonya’dan yapılan 95 vakalık bir çalışmada CYP3A5 ve MDR-1 (C1236T, G2677T/A, C3435T) gen polimorfizminin plazma prednizolon düzeyini etkilemediği bildirilmiştir (110).

Çoklu ilaç direnç-1, sitokrom 3A4 ve sitokrom 3A5 genetiğinin takrolimus farmakokinetiği üzerine etkisinin renal transplant hastalarında değerlendirildiği bir çalışmada CYP3A4 polimorfizmi ile takrolimus farmakokinetiği arasında ilişki bulunmamıştır. MDR-1 (T129C, C3435T ve G2677T) polimorfizmi düşük takrolimus düzeyi ile ilişkili bulunmuş ve bu hastalarda daha yüksek doz takrolimus dozlarına ihtiyaç olduğu bildirilmiştir. Transplantasyondan sonraki ilk hafta CYP3A5*3’ü homozigot taşıyanlara kıyasla CYP3A5*3 genotipini taşımayan hastalarda daha düşük doz takrolimus kan düzeyi saptanmıştır (111). Böbrek nakli olan hastalarda MDR-1 ve CYP3A4’ün takrolimus farmakokinetiği üzerine etkisi olmadığı çeşitli yayınlarda bildirilmiştir (112-116). Ancak, İtalyan çocuklarda böbrek nakli sonrası CYP3A4, CYP3A5 ve MDR-1 SNP’lerin sıklığı ve rolünün

değerlendirildiği bir çalışmada ise nakil sonrası MDR-1 C1236T'deki TT polimorfizmde takrolimus konsantrasyonunun belirgin olarak azaldığı gösterilmiştir (117). Yine aynı çalışmada MDR-1 polimorfizminin siklosporinin böbrek nakli sonrası erken dönemdeki farmakokinetiğini etkilediği, ancak CYP3A4 ve CYP3A5 polimorfizminin etkisinin olmadığı bildirilmiştir (117).

Zhang ve ark. (77) yaptıkları çalışmada erken dönem renal transplant hastalarında CYP3A5 polimorfizminin takrolimus kan düzeyleri üzerine önemli rolü olduğunu bildirmişlerdir. Başlangıç takrolimus dozlarının CYP3A5 genotipine göre seçilmesi gerektiği ve böylece ilaç kan düzeylerinin daha iyi ayarlanabileceğini vurgulamışlardır.

Çin'den yapılan bir çalışmada renal transplantasyondan sonra verilen siklosporin farmakokinetiğine CYP3A4, CYP3A5 ve MDR-1 genetik polimorfizmlerinin etkisi değerlendirilmiştir. CYP3A5*3 polimorfizmi olan hastaların daha düşük doz siklosporine ihtiyaç gösterdikleri; MDR-1 3435C/C olan hastaların ise heterozigot hastalara kıyasla anlamlı olarak daha düşük siklosporin dozuna ihtiyaç gösterdikleri bildirilmiştir (118).

Qiu ve ark.'nın (119) çalışmasında ise renal transplant hastalarında siklosporin farmakokinetiği ile MDR-1, CYP3A4 ve CYP3A5 polimorfizmleri karşılaştırılmış ve CYP3A*1/1 polimorfizmi olan hastaların daha yüksek doz ayarına ihtiyaç gösterdikleri, MDR-1 ve CYP3A5*3 polimorfizmlerinin postoperatif dozları etkilemediği vurgulanmıştır.

Glukokortikoid tedavinin etkinliği ile MDR-1 genetik polimorfizminin araştırıldığı ilk farmakogenetik çalışmalardan biri Zheng ve arkadaşları (120) tarafından yapılmış olup, kalp nakli olan pediatrik hasta grubunda MDR-1 3435T allelin iyi steroid yanıtı için bir belirteç olduğu bildirilmiştir.

Hematolojik hastalıklarda da MDR-1 polimorfizminin değerlendirildiği çalışmalar mevcuttur. Örneğin akut İTP'li (idiyopatik trombositopenik purpura) hastalarda 3435C>T MDR-1 polimorfizmi ile yüksek doz metilprednizolon tedavisi cevabına bakılmış ve 31 vakanın alındığı bu çalışmada yüksek doz metilprednizolon tedavisine yanıt ile MDR-1 gen polimorfizmi arasında ilişki bulunamamıştır (121).

Türkiye'den yapılan bir çalışmada ise MDR-1 C3435T polimorfizmi kolşisine yanıtı 52 FMF hastasında kolşisin direnci ile ilişkilendirilmiştir (122).

Molowa ve ark.'nın çalışmasında (123) CYP3A4 geninin %98 olarak benzer olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda, NS ve kontrol grubu dahil tüm hastalarımızda CYP3A4 gen polimorfizmi belirlenemedi.

P-glikoproteini (P-gp) kodlayan insan MDR-1 geni kemoterapötik ajanlara karşı gelişen çoklu ilaç direncinde rol oynamanın yanısıra pekçok ilaç ve ksenobiyotiğin farmakokinetiklerini de etkilemektedir. Bugüne kadar MDR-1 geninin kodlayıcı bölgesinde P-gp fonksiyonunu etkileyebilen 60'dan fazla tek nükleotid polimorfizmi (SNP) tanımlanmıştır. Ancak bu polimorfizmlerin P-gp fonksiyonu üzerine etkisinin klinik önemi tam olarak anlaşılamamıştır.

İlaç eliminasyonunda görevli genlerdeki polimorfizmlerin klinik önemini belirleyebilmek için hem çok sayıda olguda yapılması hem de aynı dönemde sorumlu genlerin ürettiği proteinlerin serum düzeylerinin bakılması daha yararlı olacaktır. Ancak çalışmamızda bu yapılamamıştır.

Bir popülasyonda ilaçlara karşı verilen kişisel yanıtların büyük ölçüde değişkenlik gösterdiği ve aynı zamanda toplumlar arasında da ilaç yanıtı açısından farklılıkların bulunduğu bilinmektedir. İlaç kinetiğinin ve kişinin ilaçlara karşı verdiği yanıtın genetik yapıya göre bireyler ve toplumlar arasında değişkenlik göstermesi, farklı popülasyonlarda elde edilecek genetik veri kayıtlarının kullanımı ile “kişiye özel tedavi” yaklaşımlarının geliştirilmesini gündeme getirmiştir (124-126). Farmakodinamik ve farmakokinetik temelli olan ilaç yanıtındaki değişkenlikler, ilaçların metabolizmasından sorumlu enzimlerde, ilaç taşıyıcılarında (transporter), reseptörlerinde veya kofaktörlerindeki genetik varyasyonlardan etkilenebilmektedir (126). Bu hipotezden yola çıkarak çalışmamızda NS'li çocuklarda steroide cevabın belirlenmesinde MDR-1, CYP3A5 VE CYP3A4 gen polimorfizmlerinin etkisi değerlendirildi, ancak istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı.

5. KAYNAKLAR

- 1- Gbadegesin R, Smoyer WE. Nephrotic syndrome. Geary DF, Schaefer F (eds). In: Comprehensive Pediatric Nephrology. 1st ed. Philadelphia: Mosby, 2008: 205-213.
- 2- Eddy AA, Symons JM. Nephrotic syndrome in childhood. Lancet 2003; 362: 629-639.
- 3- Charmandari E, Kino T, Chrousos GP. Familial/Sporadic Glukokortikoid Resistance: clinical phenotype and molecular mechanisms. Ann N Y Acad Sci 2004; 1024: 168–181.
- 4- Fan Q, Xing Y, Ding J, Guan N, Zhang J. The relationship among nephrin, podocin, CD2AP, and alpha-actinin might not be a true ‘interaction’ in podocyte. Kidney Int 2006; 69: 1207–1215.
- 5- Jafar T, Prasad N, Agarwal V, Mahdi A, Gupta A, Sharma RK, et al. MDR-1 gene polymorphisms in steroid-responsive versus steroid-resistant nephrotic syndrome in children. Nephrol Dial Transplant 2011; 26: 3968–3974.
- 6- Wasilewska A, Zalewski G, Chyczewski L, Zoch-Zwierz W. MDR-1 gene polymorphisms and clinical course of steroid-responsive nephrotic syndrome in children. Pediatr Nephrol 2007; 22: 44–51.
- 7- Niaudet P, Boyer O. Idiopathic Nephrotic Syndrome in Children: Clinical Aspects. In: Avner. Sixth Edition. Avner ED, Harmon WE, Niaudet P (eds.) Pediatric Nephrology. USA: Lippincott Williams&Wilkins, 2009: 667–702.
- 8- Skálová S, Podhola M, Vondrák K, Chernin G. Plasmapheresis-induced clinical improvement in a patient with steroid-resistant nephrotic syndrome due to podocin (nphs2) gene mutation. Acta Medica 2010; 53: 157–159.
- 9- Kher KK, Schnaper HW, Makker SP. Clinical Pediatric Nephrology. Second Edition, 2006: 196–259.
- 10- Habashy D, Hodson EM, Craig JC. Interventions for steroid-resistant nephrotic syndrome: a systematic review. Pediatr Nephrol 2003; 18: 906–912.
- 11- Saleem MA. New developments in steroid resistant nephrotic syndrome. Pediatric Nephrology 2012; 12: 2239–2240.
- 12- Lombel RM, Hodson EM, Gipson DS. Treatment of steroid-resistant nephrotic syndrome

in children: new guidelines from KDIGO. *Pediatr Nephrol* 2012; 12: 2304–2308.

13- ISKDC, International study of kidney disease in children. Primary nephrotic syndrome in children: clinical significance of histopathologic variants of minimal change and of diffuse mesangial hypercellularity: a report of the International Study of kidney disease in children. *Kidney Int* 1981; 20: 765–771.

14- Niaudet P. Treatment of childhood steroid-resistant idiopathic nephrosis with a combination of cyclosporine and prednisone. French Society of Pediatric Nephrology. *J Pediatr* 1994; 125: 981–986.

15- Alwadhi RK, Mathew JL, Rath B. Clinical profile of children with nephrotic syndrome not on glucocorticoid therapy, but presenting with infection. *J Paediatr Child Health* 2004; 40: 28–32.

16- Bagga A, Mantan M. Nephrotic syndrome in children. *Indian J Med Res* 2005; 122: 13–28.

17- Mathieson PW. Immune dysregulation in minimal change nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 26–29.

18- Kalman S. Çocukluk çağında steroid dirençli nefrotik sendromda önemli bir neden: fokal segmental glomeruloskleroz ve tedavi yaklaşımları. *Klinik Pediatri* 2004; 3: 31–36.

19- Candiano G, Musante L, Zennaro C, Bruschi M, Carraro M, Artero M, et al. Inhibition of renal permeability towards albumin: a new function of apolipoproteins with possible pathogenetic relevance in focal glomerulosclerosis. *Electrophoresis* 2001; 22: 1819–1825.

20- Schwarz K, Simons M, Reiser J, Saleem MA, Faul C, Kriz W, et al. Podocin, a raft-associated component of the glomerular slit diaphragm, interacts with CD2AP and nephrin. *J Clin Invest* 2001; 108: 1583–1587.

21- Roselli S, Gribouval O, Boute N, Sich M, Benessy F, Attie T, et al. Podocin localizes in the kidney to the slit diaphragm area. *Am J Pathol* 2002; 160: 131–139.

22- Weber S, Gribouval O, Esquivel EL, Moriniere V, Tete MJ, Legendre C, et al. NPHS2 mutation analysis shows genetic heterogeneity of steroid resistant NS and low post-transplant recurrence. *Kidney Int* 2004; 66: 571–579.

- 23- Vats AN. Genetisc of idiopathic nephrotic syndrome. *Indian J Pediatr* 2005; 72: 777–783.
- 24- Vande Walle 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: 399–404.
- 25- Krämer BK. Ramipril in non-diabetic renal failure (REIN study). *The Lancet* 1997; 350: 736.
- 26- MacKinnon M, Shurraw S, Akbari A, Knoll GA, Jaffey J, Clark HD. Combination therapy with an angiotensin receptor blocker and an ACE inhibitor in proteinuric renal disease: a systematic review of the efficacy and safety data. *Am J Kidney Dis* 2006; 48: 8–20.
- 27- Coleman JE, Watson AR. Hyperlipidaemia, diet and simvastatin therapy in steroid-resistant nephrotic syndrome of childhood. *Pediatr Nephrol* 1996; 10: 171–174.
- 28- 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: 561–564.
- 29- Saatçi Ü, Beşbaş N (editörler). Primer nefrotik sendromda tedavi yaklaşımları. Ankara: Çocuk Nefrolojisi Derneği, 1990; 62–63.
- 30- MacDonald NE, Wolfish N, McLaine P, Phipps P, Rossier E. Role of respiratory viruses in exacerbations of primary nephrotic syndrome. *J Pediatr* 1986; 108: 378–382.
- 31- Mendoza SA, Reznik VM, Griswold WR, Krensky AM, Yorgin PD, Tune BM. Treatment of steroid-resistant focal segmental glomerulosclerosis with pulse methylprednisolone and alkylating agents. *Pediatr Nephrol* 1990; 4: 303–307.
- 32- Mendoza SA, Tune BM. Treatment of childhood nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 1992; 3: 889–894.
- 33- Mendoza SA, Tune BM. Management of the difficult nephrotic patient. *Pediatr Clin North Am* 1995; 42: 1459–1468.
- 34- Fujii Y, Khoshnoodi J, Takenaka H, Hosoyamada M, Nakajo A, et al. The effect of

dexamethasone on defective nephrin transport caused by ER stress: a potential mechanism for the therapeutic action of glucocorticoids in the acquired glomerular diseases. *Kidney Int* 2006; 69: 1350–1359.

35- Ambalavanan S, Fauvel JP, Sibley RK, Myers BD. Mechanism of the antiproteinuric effect of cyclosporine in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7: 290–298.

36- Heering P, Schneider A, Grabensee B, Plum J. Effect of cyclosporin A on renal function in patients with glomerulonephritis. *Dtsch Med Wochenschr* 2001; 126: 1093–1098.

37- Faul C, Donnelly M, Merscher-Gomez S, Chang YH, Franz S, Delfgaauw J, et al. The actin cytoskeleton of kidney podocytes is a direct target of the antiproteinuric effect of cyclosporine A. *Nat Med* 2008; 14: 931–938.

38- Lieberman KV, Tejani A. A randomized double-blind placebocontrolled trial of cyclosporine in steroid-resistant idiopathic focal segmental glomerulosclerosis in children. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7: 56–63.

39- Niaudet P. Treatment of childhood steroid-resistant idiopathic nephrosis with a combination of cyclosporine and prednisone. French society of pediatric nephrology. *J Pediatr* 1994; 125: 981–986.

40- Otukesh H, Otukesh S, Mojtahedzadeh M, Hoseini R, Fereshtehnejad SM, Fard RA, et al. Management and outcome of steroid-resistant nephrotic syndrome in children. *Iran J Kidney Dis* 2009; 3: 210–217.

41- Morath C, Schwenger V, Beimler J, Mehrabi A, Schmidt J, Zeier M, Muranyi W. Antifibrotic actions of mycophenolic acid. *Clin Transplant* 2006; 17: 25–29.

42- Li Z, Duan C, He J, Wu T, Xun M, Zhang Y, Yin Y. Mycophenolate mofetil therapy for children with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2010; 25: 883–888.

43- Loeffler K, Gowrishankar M, Yiu V. Tacrolimus therapy in pediatric patients with treatment-resistant nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2004; 19: 281–287.

44- Arikan H, Koc M, Cakalagaoglu F, Eren Z, Segal MS, Tuglular S, et al. Tacrolimus rescue therapy in resistant or relapsing cases of primary glomerulonephritis. *J Nephrol* 2008; 21: 713–721.

- 45- Roberti I, Vyas S. Long-term outcome of children with steroid-resistant nephrotic syndrome treated with tacrolimus. *Pediatr Nephrol* 2010; 25: 1117–1124.
- 46- Gulati A, Sinha A, Jordan SC, Hari P, Dinda AK, Sharma S, et al. Efficacy and safety of treatment with rituximab for difficult steroid-resistant and –dependent nephrotic syndrome: multicentric report. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5: 2207–2212.
- 47- Magnasco A, Ravani P, Edefonti A, Murer L, Ghio L, Belingeri M, et al. Rituximab in children with resistant idiopathic nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2012; 23: 1117–1124.
- 48- Falkenstein E, Tillman HC, Christ M, Feuring M, Wehling M. Multiple actions of steroid hormones-a focus on rapid, nongenomic effects. *Pharmacol Rev* 2000; 52: 513–556.
- 49- Dostert A, Heinzel T. Negative glukokortikoid reseptor response elements and their role in glucocorticoid action. *Curr Pharm Des* 2004; 10: 2807–2816.
- 50- Barnes PJ. How corticosteroids control inflammation: Quintiles Prize Lecture 2005. *Br J Pharmacol* 2006; 148: 245–254.
- 51- Yudit MR, Cidlowski JA. Molecular identification and characterization of a and b forms of the glucocorticoid reseptor. *Mol Endocrinol* 2001; 15: 1093–1103.
- 52- Ayna TK, Çiftçi HŞ, Tozkır H, Gürtekin M, Çarın M. İmmüsupresif ilaçların etki mekanizmaları. *Gaziantep Tıp Dergisi* 2009; 15: 42–47.
- 53- Charmandari E, KinoT, Souvatzoglou E, Vottero A, Bhattacharyya N, Chrousos GP. Natural glucocorticoid receptor mutants causing generalized glucocorticoid resistance: molecular genotype, genetic transmission, and clinical phenotype. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 1939–1949.
- 54- Buttgerit F, Silva JA, Boers M, Burmester GR, Cutolo M, Jacobs J et al. Standardised nomenclature for glucocorticoid dosages and glucocorticoid treatment regimens: current questions and tentative answers in rheumatology. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 718–722.
- 55- Horvath G, Wanner A. Inhaled corticosteroids: effects on the airway vasculature in bronchial asthma. *Eur Respir J* 2006; 27: 172–187.
- 56- Stellato C. Posttranscriptional and nongenomic effects of glucocorticoids. *Proc Am*

Torac Soc 2004; 1: 255–263.

57- Barnes PJ, Adcock IA. Glucocorticoid resistance in inflammatory diseases. *Lancet* 2009; 373: 1905–1917.

58- Coutinho AE, Chap KE. The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids, recent developments and mechanistic insights. *Molecular and Cellular Endocrinology* 2011; 335: 2–13.

59- Kayaalp SO: Kortikosteroid antagonistleri ve ACTH. *Tıbbi Farmakoloji*. 10. Baskı, Hacettepe Taş Kitabevi, 2002: 1221–1251.

60- Schork NJ, Fallin D, Lanchbury S. Single nucleotide polymorphisms and the future of genetic epidemiology. *Clin Genet* 2000; 58: 250–264.

61- McCharty AD, Kennedy JL, Middleton TL. Pharmacogenetics in drug development. *Phil Trans R Soc B* 2005; 360:1579–1588.

62- . Lanfear DE, Mcload HL. Pharmacogenetics: using DNA to optimize drug therapy. *Am Fam Physician* 2007; 76: 1179–1182.

63- Schwab M, Eichelbaum M, Fromm MF. Genetic polymorphisms of the human MDR1 drug transporter. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2003; 43: 285–307.

64- Chiou Y, Wang L, Wang T, Huang S. Genetic polymorphisms influence the steroid treatment of children with idiopathic nephrotic syndrome *Pediatr Nephrol* 2012; 27: 1511–1517.

65- Kudzi W, Dadoo ANO, Mills JJ. Genetic polymorphisms in MDR1, CYP3A4 and CYP3A5 genes in a Ghanaian population: a plausible explanation for altered metabolism of ivermectin in humans? *BMC Medical genetics* 2010; 11: 111.

66- Sailaja K, Surekha D, Rao DN, Raghunadharao D, Vishnupriya S. Association of MDR1 gene polymorphism (G2677T) with chronic myeloid leukemia 2010; 2: 17–21.

67-Wang J, Zeevi A, McCurry K, Schuetz E, Zheng H, Iacono A, et al. Impact of ABCB1 (MDR1) haplotypes on tacrolimus dosing in adult lung transplant patients who are CYP3A5 *3/*3 nonexpressors. *Transplant Immunology* 2006; 15: 235–240.

68- Nebert DW, Adesnik M, Coon MJ, Estabrook RW, Gonzalez FJ, Guengerich FP, et al.

The P450 gene superfamily: recommended nomenclature. *Annu Rev Biochem* 1987; 6: 1–11.

69- Hasler JA, Estabrook R, Murray M. Human cytochromes P450. *Mol Aspects Med* 1999; 20: 1–137.

70- Nelson DR, Koymans L, Kamataki T, Stegeman JJ, Feyereisen R, Waxman DJ, et al. P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. *Pharmacogenetics* 1996; 6: 1–42.

71- Omari AA, Murry DJ. Pharmacogenetics of the cytochrome P450 enzyme system: review of current knowledge and clinical significance. *J Pharm Pract* 2007; 20: 206–218.

72- Shimada T, Yamazaki H, Mimura M, Inui Y, Guengerich FP. Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 270: 414–423.

73- Guengerich FP. Cytochrome P-450 3A4: regulation and role in drug metabolism. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1999; 39: 1–17.

74- Ferraris JR, Argibay PF, Costa L, Jimenez G, Coccia PA, Ghezzi LFR et al. Influence of CYP3A5 polymorphism on tacrolimus maintenance doses and serum levels after renal transplantation: Age dependency and pharmacological interaction with steroids. *Pediatric transplantation* 2011; 15: 525–532.

75- Burk O, Wojnowski L. Cytochrome P450 3A and their regulation. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2004; 369: 105–124.

76- Keshava C, McCanlies EC, Weston A. CYP3A4 Polymorphisms Potential Risk Factors for Breast and Prostate Cancer: A Huge Review. *Am J Epidemiol* 2004; 160: 825–841.

77- Zhang J, Zhang L, Liu L, Tong W. Value of CYP3A5 Genotyping on determining initial dosages of Tacrolimus for Chinese renal transplant recipients. *Transplantation Proceedings* 2010; 42: 3459–3464.

78- He W, Li K. Incidence of genetic polymorphisms involved in lipid metabolism among Chinese patients with osteonecrosis of the femoral head. *Acta Orthopaedica* 2009; 80: 325–329.

- 79- Nakajima M, Fujiki Y, Kyo S, Kanaya T, Nakamura M, Miada Y et al. Pharmacokinetics of Paclitaxel in Ovarian Cancer Patients and genetic Polymorphisms of CYP2C8, CYP3A4, and MDR1. *J Clin Pharmacol* 2005; 45: 674–682.
- 80- Uwe C, Volker S, and Manuel H. Functional interactions between P glycoprotein and CYP3A in drug metabolism. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2005; 1: 1–14.
- 81- Schwartz GJ, Haycock GB, Edelmann CM. A simple estimate of glomerular filtration rate in children derived from body length and plasma creatinine. *Pediatrics* 1976; 58: 259.
- 82- Gabriel S, Ziaugra L, Tabbaa D. SNP Genotyping Using the Sequenom MassARRAY nephrotic Platform. *Curr Protoc Hum Genet* 2009; 60: 2–18.
- 83- Pierce, B. *Genetics: A Conceptual Approach*. W. H. Freeman & Co, 2010.
- 84- Bagga A, Mantan M. Nephrotic syndrome in children. *Indian J Med Res* 2005; 122: 13–28.
- 85- Mortazavi F, Khiavi YS. Steroid response pattern and outcome of pediatric idiopathic nephrotic syndrome: a single-center experience in northwest Iran. *Therapeutics and Clinical Risk Management* 2011; 7: 167–171.
- 86- Wang W, Xia Y, Mao J, Chen Y, Wang D. Treatment of tacrolimus or cyclosporine A in children with idiopathic nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2012; 27: 2073–2079.
- 87- Wong W. Idiopathic nephrotic syndrome in New Zealand children, demographic, clinical features, initial management and outcome after twelve-month follow up: results of a three-year national surveillance study. *J Pediatr Child Health* 2007; 43: 337–341.
- 88- Bircan Z, Yilmaz AY, Kater S, Vitrinel A, Yildirim M. Childhood idiopathic nephrotic syndrome in Turkey. *Pediatr Int* 2002; 44: 608–611.
- 89- McKinney PA, Feltbower RG, Brocklebank JT, Fitzpatrick MM. Time trends and ethnic patterns of childhood nephrotic syndrome in Yorkshire, UK. *Pediatr Nephrol* 2001; 16: 1040–1044.
- 90- Ahmadzadeh A, Derakhshan A, Hakimzadeh M, Zolfigol A. Idiopathic nephrotic syndrome in Iranian children. *Indian Pediatr* 2008; 45: 52–53.

- 91- Gulati S, Kher V, Sharma RK, Gupta A. Steroid response pattern in Indian children with nephrotic syndrome. *Acta Pediatr* 1994; 83: 530–533.
- 92- Kari JA. Changing trends of histopathology in childhood nephrotic syndrome in western Saudia Arabia. *Saudia Med J* 2002; 23: 317–321.
- 93- Mekahli D, Liutkus A, Ranchin B, et al. Long-term outcome of idiopathic steroid resistant nephrotic syndrome: a multicenter study. *Pediatr Nephrol* 2009; 24: 1525–1532.
- 94- Otukesh H, Otukesh S, Mojtahedzadeh M, Hoseini R, Fereshtehnejad SM, Riahi Fard A et al. Management and outcome of steroid resistant nephrotic syndrome in children. *Iran J Kidney Dis* 2009; 3: 210–216.
- 95- Vasudevan A, Siji A, RaghavendrA A, Sridhar TS, Phadke KD. NPHS2 Mutations in Indian children with sporadic early steroid resistant nephrotic syndrome. *Indian Pediatrics* 2012; 49: 231–233.
- 96- Safaei A, Maleknejad S. Spectrum of childhood nephrotic syndrome in Iran: a single center study. *Indian J Nephrol* 2009; 19: 87–90.
- 97- Chang JW, Tsai HL, Wang HH, Yang LY. Clinicopathological features and prognosis of Chinese children with idiopathic nephrotic syndrome between different age groups. *Eur J Pediatr* 2009; 168: 1189–1194.
- 98- Kumar J, Gulati S, Sharma AP, Sharma RK, Gupta RK. Histopathological spectrum of childhood nephrotic syndrome in Indian children. *Pediatr Nephrol* 2003;18: 657–660.
- 99- Ejaz I, Khan HI, Javaid BK, Rasool G, Bhatti MT. Histopathological diagnosis and outcome of paediatric nephrotic syndrome. *J Coll Physicians Surg Pak* 2004; 14: 229–333.
- 100- Megremis S, Mitsioni A, Mitsioni AG, Fylaktou I, Kitsiou-Tzelli S, Stefanidis CJ, et al. Nucleotide variations in the NPHS2 gene in Greek children with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Genet Test Mol Biomarkers* 2009; 13: 249–256.
- 101- Fu R, Chen XM, Wang QH, Chen SP, Yu ZH, Ye LY, et al. Mutations in NPHS2 in familial steroid-resistant nephrotic syndrome in Southern Chinese Han ethnic group. *Zhonghua Er Ke Za Zhi* 2008; 46: 591–596.
- 102- Mbarek IB, Abroug S, Omezzine A, Pawtowski A, Gubler MC, Bouslama A, et al.

Novel mutations in steroid-resistant nephrotic syndrome diagnosed in Tunisian children. *Pediatr Nephrol* 2011; 26: 241–249.

103- Eichelbaum M, Fromm MF, Schwab M. Clinical aspects of the MDR1 (ABCB1) gene polymorphism. *Ther Drug Monit* 2004; 26: 180–185.

104- Kim RB, Leake BF, Choo EF, Dresser GK, Kubba SV, Schwarz UI, et al. Identification of functionally variant MDR1 alleles among European Americans and African Americans. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 70: 189–199.

105- Wang D, Johnson AD, Papp AC, Kroetz DL, Sadée W. Multidrug resistance polypeptide 1 (MDR1, ABCB1) variant 3435C>T affects mRNA stability. *Pharmacogenet Genomics* 2005; 15: 693–704.

106- Choi HJ, Cho HY, Ro H, Lee SH, Han KH, Lee HK, et al. Polymorphisms of the MDR1 and MIF genes in children with nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2011; 26: 1981–1988.

107- Chiou YH, Wang LY, Wang TH, Huang S. Genetic polymorphisms influence the steroid treatment of children with idiopathic nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2012; 27: 1511–1517.

108- Sakaeda T, Nakamura T, Okumura K. Pharmacogenetics of drug transporters and its impact on the pharmacotherapy. *Curr Top Med Chem* 2004; 4: 1385–1398.

109- Gümüş-Akay G, Rüstemoğlu A, Karadağ A, Sunguroğlu A. Genotype and allele frequencies of MDR1 gene C1236T polymorphism in a Turkish population. *Genet Mol Res* 2008; 7: 1193–1199.

110- Miura M, Satoh S, Inoue K, Kagaya H, Saito M, Inoue T, et al. Influence of CYP3A5, ABCB1 and NR1I2 polymorphisms on prednisolone pharmacokinetics in renal transplant recipients. *Steroids* 2008; 73: 1052–1059.

111- Roy JN, Barama A, Poirier C, Vinet B, Roger M. Cyp3A4, Cyp3A5, and MDR-1 genetic influences on tacrolimus pharmacokinetics in renal transplant recipients. *Pharmacogenet Genomics* 2006; 16: 659–665.

112- Anglicheau D, Legendre C, Thervert E. Pharmacogenetics of tacrolimus and sirolimus in renal transplant patients: from retrospective analyses to prospective studies. *Transplant Proc* 2007; 39: 2142–2144.

- 113- Haufroid V, Wallemacq P, Van Kerckhove V, Elans L, De Meyer M, Eddour DC. CYP3A5 and ABCB1 polymorphism and tacrolimus pharmacokinetics in renal transplant candidates: guideline from an experimental study. *Am J Transplant* 2006; 6: 2706–2713.
- 114- Kuypers DR, de Jonge H, Naesens M, Lerut E, Verbeke K, Vanrenterghem Y. CYP3A5 and CYP3A4 but not MDR1 single-nucleotide polymorphisms determine long-term tacrolimus disposition and drug-related nephrotoxicity in renal recipients. *Clin Pharmacol Ther* 2007; 82: 711–725.
- 115- MacPhee IA, Holt DW. A pharmacogenetic strategy for immunosuppressive based on the CYP3A5 genotype. *Transplantation* 2008; 85: 163–165.
- 116- Press RR, Ploegger BA, dan Hartingh J, van der Streten T, van Pelt J, Danhof M, et al. Explaining variability in tacrolimus pharmacokinetics to optimise early exposure in adult kidney transplant recipients. *Ther Drug Monit* 2009; 31: 187–197.
- 117- Turolo S, Tirelli AS, Ferrareso M, Ghio L, Belingheri M, Groppali E, et al. Frequencies and roles of CYP3A5, CYP3A4 and ABCB1 single nucleotide polymorphisms in Italian teenagers after kidney transplantation. *Pharmacological Reports* 2010; 62: 1159–1169.
- 118- HuYF, Qiu W, Liu ZQ, Zhu LJ, Liu ZQ, Tu JH, et al. Effects of genetic polymorphisms of CYP3A4, CYP3A5 and MDR1 on cyclosporine pharmacokinetics after renal transplantation. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006; 33: 1093–1098.
- 119- Qiu X, Jiao Z, Zhang M, Zhong L, Liang H, Ma C, et al. Association of MDR1, CYP3A4*18B, and CYP3A5*3 polymorphisms with cyclosporine pharmacokinetics in Chinese renal transplant recipients. *Eur J Clin Pharmacol* 2008; 64: 1069–1084.
- 120- Zheng H, Webber S, Zeevi A, Schuetz E, Zhang J, Lamba J, et al. The MDR1 polymorphisms at exons 21 and 26 predict steroid weaning in pediatric heart transplant patients. *Hum Immunol* 2002; 63: 765–770.
- 121- Akin M, Turgut S, Ayada C, Polat Y, Balci YI, Erdoğan F. Relation between 3435C>T multidrug resistance 1 gene polymorphism with high dose methylprednisolone treatment of childhood acute idiopathic thrombocytopenic purpura. *Gene* 2011; 487: 80–83.
- 122- Özen F, Silan C, Uludağ A, Candan F, Silan F, Özdemir S et al. Association between ABCB1 (*MDR1*) Gene 3435 C>T Polymorphism and Colchicine Unresponsiveness of FMF

Patients. Renal Failure 2011; 33: 899–903.

123- Molowa DT, Schuetz EG, Wrighton SA, Watkins PB, Kremers P, Mendez-Picon G, et al. Complete cDNA sequence of a cytochrome P-450 inducible by glucocorticoids in human liver. Proc Natl Acad Sci 1986; 83: 5311–5315.

124- Schwab M, Eichelbaum M, Fromm MF. Genetic polymorphisms of the human MDR1 drug transporter. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2003; 43: 285–307.

125- Lee SS, Kim SY, Kim WY, Thi-Le H, Yoon YR, Yea SS, et al. MDR1 genetic polymorphisms and comparison of MDR1 haplotype profiles in Korean and Vietnamese populations. Ther Drug Monit 2005; 27: 531–535.

126- Gümüş Akay G. Kanser farmakogenetiğinde MDR1 geni tek nükleotid polimorfizmleri. Türkiye Klinikleri J Med Sci 2010; 30; 29–36.

6. ÖZGEÇMİŞ

13.12.1977 tarihinde İzmir'de doğdum. İzmir Dokuz Eylül İlkokulunda okudum. Orta ve liseyi İzmir Özel Çamlaraltı Lisesinde okudum ve birincilikle mezun oldum. 2001 yılında Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesinden dönem ikincisi olarak mezun oldum. 2007 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesinden Çocuk sağlığı ve hastalıkları uzmanlığımı aldım. Şubat 2008-Mart 2010 tarihleri arasında Bingöl Kadın Doğum ve Çocuk Bakım Evinde Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları uzmanı olarak görev yaptım. Nisan 2010 tarihinde Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD. Çocuk Nefrolojisi BD.'da yan dal eğitimime başladım.

EK-1

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

(Hekimin Açıklaması)

Bu çalışmada nefrotik sendrom tanısı almış hastalarımızda steroide direnci değerlendirmede MDR 1, CYP3A5 ve CYP3A4 gen polimorfizmlerinin etkili bir faktör olup olmadığını belirlemek amaçlanmaktadır.

Araştırmanın ismi: Nefrotik sendromlu çocuklarda MDR1, CYP3A5 ve CYP3A4 gen polimorfizmlerinin steroid direncini belirlemede rolü

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

Araştırmaya davet edilmenizin nedeni çocuğunuzda nefrotik sendrom bulunmasıdır. Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Nefroloji ve Romatoloji Bilim Dalı ve Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nın ortak katılımı ile bu hastalığın tedavisi ve yapılan tedavinin takibi fizik muayene ve laboratuvar testleri ile yapılacaktır. **Nefrotik sendrom** glomerül kapiller duvarının seçici geçirgen özelliğindeki değişiklikler sonucu oluşan; idrar ile ağır protein kaybı, kan proteinlerindeki düşüklük, ödem (vücutta şişlik) ve kolesterol yüksekliği ile karakterize çocukluk çağının en sık görülen kronik böbrek hastalıklarından biridir. Bu hastalıkta 1. basamak tedavimiz olan steroidlere yanıtız hastalarımız mevcuttur. Bu durumun ilacın dokulara taşınmasını ve metabolizmasını sağlayan genlerdeki değişikliklerden kaynaklandığını düşünmekteyiz ve elde edeceğimiz sonuçlar ileride hastaların tedavi seçimine yol gösterecektir.

Sizin çocuğunuz için etkin olacak tedavi şekli doktorunuz tarafından belirlenecektir. Çocuğunuzla birlikte çalışmaya katılmasanızda tanıyı koymak için tüm hastalarda yapılan kan ve idrar tetkikleri yapıp, tedavileri diğer hastalar gibi yapılacaktır. Yalnızca MDR-1 ve CYP gen polimorfizminin çalışılabilmesi amacıyla 2cc kan alınacaktır. Çocuğunuzla birlikte yaklaşık 40 çocuğun tedavisi benzer testler yapılarak tarafımızdan gerçekleştirilecektir.

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

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

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

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

(Katılımcının/Hastanın Beyanı)

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

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

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

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

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

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda, herhangi bir saatte; Dr. Aslıhan Kara, (0-424-2333555-2346) ve FÜ Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD'nı arayabileceğimi biliyorum.

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

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

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Katılımcı (Veli)

Adı, soyadı :

Adres :

Telefon :

İmza :

Görüşme tanığı

Adı, soyadı :

Adres :

Tefefon :

İmza :

Katılımcı ile görüşen hekim

Adı soyadı :

Ünvanı :

Adres :

Telefon :

İmza :

Hastanın

Adı soyadı :

Doğum tarihi:

Adres :

Telefon :

İmza :

EK-2

NEFROTİK SENDROMLU HASTA DEĞERLENDİRME FORMU

Adı:	Protokol No:
Soyadı:	Adres:
Cinsiyeti:	Tlf:
Doğum tarihi/yaşı:	Boy: cm (p)
Tanı tarihi/hastalık başlama yaşı:	Ağırlık: kg (p)
Kan alınma tarihi:	Tansiyon:
Özgeçmiş:	
Soygeçmiş:	
Fizik muayene: Patolojik bulgular: Ödem: Hipertansiyon: Var () Yok ()	
Laboratuvar: TİT: Hematüri: Var () mikroskopik/makroskopik Yok () Protein (dipstik): Spot idrar proteinüri: Başlangıç proteinüri (24h.): T.prot (g/dl): Albümin (g/dl): Üre (mg/dl): kreatin (mg/dl): Kolesterol (mg/dl): Trigliserid (mg/dl): WBC: Hemoglobin (g/dl): Trombosit: ANA: antiglomerülerBM Ab: C3: C4: HBsAg: Anti HBs:	

GFR (Schwartz):		
Renal USG:		
Genetik Sonuçları:		
Podosin:		
Nefritin:		
MDR1:		
CYP3A5:		
CYP3A4:		
Almış olduğu tedaviler:		
Relaps sayısı:		
KS tedavisine yanıtı: Yanıtlı ()	Bağımlı ()	Dirençli ()
Siklofosfamid kullanımı:	Süresi:	Yanıtı:
Siklosporin kullanımı:	Süresi:	Yanıtı:
ACEI kullanımı:		
Böbrek yetmezliği: Var ()	Yok ()	
Biyopsi tarihi:	Biyopsi sonucu:	