

**T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**ADRIAMİSİN İLİŞKİLİ DENEYSEL NEFROTİK  
SENDROM MODELİNDE OKTRETİDİN  
SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ ARACILIĞIYLA  
BÖBREK PATOLOJİSİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ**

**Uzmanlık Tezi**

**Dr. Sibel ÇAVDAR**

**Tez Danışmanı  
Prof.Dr. Soner DUMAN**

**İZMİR-2014**

Deneysel çalışma Ege Üniversitesi İç Hastalıkları laboratuvarında yapılmıştır. Serum ve idrar örnekleri Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında, böbrek dokuları Patoloji Anabilim Dalında çalışılmıştır. Bu çalışma Ege Üniversitesi Proje Araştırma ve Destekleme Fonu (Proje No: 2011-TIP-060 ) tarafından desteklenmiştir.

## ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimimin ilk gününde beni gülyüzüyle karşılayan, bu sürede her zaman arkamda olduğunu hissettiren, gerek medikal gerek paramedikal konularda deneyimleri ile bana birçok katkısı olan ve hayattaki haksızlıklara karşı sessiz kalmamam için bana cesaret veren İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Fehmi AKÇİÇEK'e, bilgi ve tecrübeleri ile daha doğru, daha üstün bir bakış açısı kazandıran İç Hastalıkları Anabilim Dalının tüm öğretim üyelerine, tez çalışmamın belirlenmesi ve sonuçlanması sürecinde her türlü desteği sağlayan, sorularıyla bilinmeyi araştırma arzusu aşıl原因, birçok konuda sabır ve hoşgörüsünü esirgemeyen tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Soner DUMAN'a, verilerin patolojik ve biyokimyasal değerlendirmelerini yapan Sayın Prof. Dr. Sait ŞEN'e ve Sayın Prof. Dr. Eser SÖZMEN'e, tezimin yazım aşamasında yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Ender HÜR'e, hayata dair karşılaştığım bütün zorluklarda yoluma ışık tutan, en umutsuz anlarımda beni gülümseten ve mutluluk aşıl原因 eşim Dr. Ümit ÇAVDAR'a, beni bugünlere getiren, her düştüğümde elimden tutup kaldıran, bana inanmayı hiç bırakmayan, paylaşmayı, mutluluğu, zorluklara göğüs germeyi öğreten ve koşulsuz şartsız her daim yanımda olduklarını bildiğim ve bundan güç aldığım aileme ve 5 yıl boyunca fikir alışverişinde bulunduğum, sıkıntı ve sevinçleri paylaştığım tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

Kısaltmalar Dizini .....	vi
Tablolar, Şekiller ve Grafikler Dizini .....	x
Özet .....	xi
İngilizce Özet(abstract) .....	xiii
1.GİRİŞ .....	1
2.GENEL BİLGİLER .....	5
2.1. Nefrotik Sendrom.....	5
2.1.1. Etiyoloji ve Epidemiyoloji .....	5
2.1.2. Sınıflandırma.....	7
2.1.2.1. Klinik Sınıflandırma.....	7
2.1.2.2. Histopatolojik Sınıflandırma.....	8
2.1.2.2.1. Minimal Lezyon Hastalığı.....	8
2.1.2.2.2. Fokal Segmental Glomeruloskleroz.....	10
2.1.2.2.3. Mezengial Proliferatif Glomerulonefrit .....	11
2.1.2.2.4. Membranoproliferatif Glomerulonefrit.....	12
2.1.2.2.5. Membranöz Glomerulonefrit .....	13
2.1.2.3. Tedaviye Cevaba Göre Sınıflandırma.....	14
2.1.3. Glomerül yapısı ve Patogenez.....	15
2.1.3.1. Glomerül Yapısı .....	15
2.1.3.2. Patogenez .....	17
2.1.3.2.1. Patogeneizde Serbest Oksijen Radikalleri.....	19
2.1.3.2.2. Proteinüri.....	21
2.1.3.2.3. Hipoalbuminemi.....	22
2.1.3.2.4. Ödem .....	23
2.1.3.2.5. Hiperlipidemi ve Hiperlipoproteinemi.....	23
2.1.4. Klinik Bulgular .....	24
2.1.5. Laboratuar Bulguları .....	25
2.1.6. Nefrotik Sendrom Tedavisi .....	25
2.1.6.1. Destek Tedavisi.....	26
2.1.6.2. Spesifik Tedavi.....	26
2.2. Deneysel Nefrotik Sendrom.....	30
2.3. Somatostatin.....	33

2.3.1. Somatostatin Etki Modeli ve Analogları.....	33
2.3.2. Oktreotid .....	34
2.3.2.1. Oktreotidin Klinik Kullanımı.....	34
2.3.2.2. Oktreotidin Yan Etkileri.....	35
2.3.2.3. Oktreotid ve Radikaller .....	35
2.4. Serbest Oksijen Radikalleri.....	37
2.4.1. Oksidatif Stres.....	37
2.4.2. Serbest Radikaller .....	37
2.4.3. Reaktif Oksijen Türleri .....	37
2.4.3.1. Süperoksit Anyon Radikali .....	38
2.4.3.2. Hidrojen Peroksit .....	38
2.4.3.3. Hidroksil Radikali .....	39
2.4.3.4. Singlet Oksijen.....	39
2.4.4. Serbest Radikallerin Kaynakları .....	39
2.4.5. Serbest Radikallerin Yol Açtığı Hasarlar.....	40
2.4.5.1. Lipitler Üzerine Etkileri .....	41
2.4.5.2. Proteinler Üzerine Etkileri .....	41
2.4.5.3. Karbonhidratlar Üzerine Etkileri.....	42
2.4.5.4. DNA Üzerine Etkileri .....	42
2.4.6. Antioksidan Savunma Sistemleri .....	42
2.4.6.1. Enzimatik Antioksidanlar .....	43
2.4.6.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar.....	46
3.AMAÇ.....	48
4.GEREÇ ve YÖNTEM.....	49
4.1. Deneysel Çalışma.....	49
4.2. Deney Hayvanları.....	49
4.3. Yöntem.....	50
4.4. İstatiksel Analiz.....	53
5.BULGULAR.....	54
6.TARTIŞMA .....	58
7.SONUÇ .....	65
8.KAYNAKLAR .....	66

## KISALTMALAR DİZİNİ

<b>AC</b>	: Akciğer
<b>ACEİ</b>	: Anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörü
<b>ADR</b>	: Adriyamin
<b>AIDS</b>	: Acquired immunodeficiency syndrome
<b>ANA</b>	: Antinükleer Antikor
<b>AOPP</b>	: Advanced oxidation protein products
<b>APSGN</b>	: Akut Poststreptokoksik Glomerulonefrit
<b>ARB</b>	: Anjiotensin reseptör blokeri
<b>AS</b>	: Ankilozan Spondilit
<b>AT2</b>	: Anjiotensin 2
<b>AZT</b>	: Azatiyopürin
<b>BDH</b>	: Bağ Doku Hastalığı
<b>BFT</b>	: Böbrek Fonksiyon Testleri
<b>cAMP</b>	: Siklik adenzin monofosfat
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>C3</b>	: Kompleman 3
<b>C4</b>	: Kompleman 4
<b>CMV</b>	: Sitomegalovirüs
<b>CsA</b>	: Siklosporin A
<b>Cu</b>	: Bakır
<b>CY</b>	: Siklofosfamid
<b>DDH</b>	: Dense Deposit Hastalığı
<b>DM</b>	: Diyabetes Mellitus
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>ENAC</b>	: Epitelyal sodyum kanalları
<b>EM</b>	: Elektron mikroskobu
<b>Fe</b>	: Demir
<b>FMF</b>	: Ailevi Akdeniz Ateşi
<b>FSGS</b>	: Fokal Segmental Glomerüloskleroz
<b>GBM</b>	: Glomerüler Bazal Membran
<b>GH</b>	: Growth Hormon

<b>GİS</b>	: Gastrointestinal Sistem
<b>GK</b>	: Glukokortikoid
<b>GN</b>	: Glomerülonefrit
<b>GnRH</b>	: Gonadotropin releasing hormone
<b>GSH</b>	: Glutasyon
<b>GSH-px</b>	: Glutasyon peroksidaz
<b>GSSG</b>	: Glutasyon disülfid
<b>GR</b>	: Glutasyon redüktaz
<b>GVHD</b>	: Greft versus host disease
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen Peroksit
<b>HBV</b>	: Hepatit B virüsü
<b>HCC</b>	: Hepatoselüler kanser
<b>HCV</b>	: Hepatit C virüsü
<b>HIV</b>	: Human immundeficiency virus
<b>HN</b>	: Heyman nefriti
<b>HO<sub>2</sub></b>	: Peroksil radikali
<b>HOCl</b>	: Hipoklorit
<b>H&amp;E</b>	: Hematoksilen-Eozin
<b>Ig</b>	: Immunglobulin
<b>IgAN</b>	: Immunglobulin A nefropatisi
<b>IGF-1</b>	: İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
<b>IL</b>	: İnterlökin
<b>İv</b>	: İntravenöz
<b>İF</b>	: İmmunflorasan
<b>İK</b>	: İmmun kompleks
<b>İm</b>	: İntramusküler
<b>KCFT</b>	: Karaciğer Fonksiyon Testleri
<b>LH</b>	: Luteinizan Hormon
<b>LOOH</b>	: Lipid Hidroperoksit
<b>MDA</b>	: Malondialdehid
<b>MN</b>	: Membranöz Nefropati
<b>MLH</b>	: Minimal Lezyon Hastalığı

<b>MMF</b>	: Mikofenolat Mofetil
<b>MPGN</b>	: Membranoproliferatif Glomerulonefrit
<b>Na</b>	: Sodyum
<b>NADP</b>	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
<b>NADPH</b>	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz
<b>NO</b>	: Nitrik Oksit
<b>NS</b>	: Nefrotik Sendrom
<b>NSAİ</b>	: Non-Steroid Antiinflamatuvar
<b>1O<sub>2</sub></b>	: Singlet oksijen
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	: Superoksit radikali
<b>OCT</b>	: Oktreotid
<b>OD</b>	: Otozomal Dominant
<b>OH<sup>-</sup></b>	: Hidroksil
<b>OR</b>	: Otozomal Resesif
<b>PAN</b>	: Puromisin Aminonükleozid
<b>PAS</b>	: Periodik Asit Schiff
<b>PBS</b>	: Primer Bilier Siroz
<b>PDGF</b>	: Platelet derived growth factor
<b>PMN</b>	: Polimorf Nüveli Lökosit
<b>RA</b>	: Romatoid Artrit
<b>RF</b>	: Romatoid Faktör
<b>RNA</b>	: Ribonükleik Asit
<b>RNT</b>	: Reaktif Nitrojen Türleri
<b>ROS</b>	: Serbest Oksijen Radikalleri
<b>ROT</b>	: Reaktif Oksijen Türleri
<b>Sc</b>	: Subkutan
<b>Se</b>	: Selenyum
<b>SLE</b>	: Sistemik lupus eritematosus
<b>SOD</b>	: Superoksit Dismutaz
<b>SST</b>	: Somatostatin
<b>TBARs</b>	: Tiobarbitürik Asit Reaktif Substans
<b>TH1</b>	: T helper 1

<b>TH2</b>	:	T helper 2
<b>TNF</b>	:	Tümör Nekrozis Faktör
<b>TFT</b>	:	Tiroid Fonksiyon Testleri
<b>TG</b>	:	Trigliserid
<b>TRPC6</b>	:	Transient receptor potential cation channel, subfamily C, member6
<b>TSH</b>	:	Troid Stimulan Hormon
<b>WT</b>	:	Wilms Tümör
<b>VEGF</b>	:	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
<b>VIP</b>	:	Vazoaktif intestinal peptid
<b>Zn</b>	:	Çinko

## TABLolar, ŞEKİLLER ve GRAFİKLER DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b>	<b>NS yaş ilişkili prevelans tablosu.....</b>	<b>6</b>
<b>Tablo 2.</b>	<b>Yetişkinlerde NS olarak prezente olan glomerüler hastalıklar .....</b>	<b>7</b>
<b>Tablo 3.</b>	<b>MLH gelişimi ile ilişkili faktörler .....</b>	<b>9</b>
<b>Tablo 4.</b>	<b>FSGS' nin etyolojik sınıflaması .....</b>	<b>10</b>
<b>Tablo 5.</b>	<b>MN sekonder sebepleri .....</b>	<b>14</b>
<b>Tablo 6.</b>	<b>NS tedaviye cevap tanımları.....</b>	<b>15</b>
<b>Tablo 7.</b>	<b>ROS endojen-ekzojen kaynakları.....</b>	<b>40</b>
<b>Tablo 8.</b>	<b>Enzimatik olmayan antioksidanlar .....</b>	<b>47</b>
<b>Tablo 9.</b>	<b>Bulgular.....</b>	<b>55</b>
<b>Şekil 1.</b>	<b>Glomerüler lobül, periferal kısım .....</b>	<b>16</b>
<b>Şekil 2.</b>	<b>Proteinüri ilişkili podosit slit diyafram proteinleri .....</b>	<b>19</b>
<b>Şekil 3.</b>	<b>Proteinüri mekanizması .....</b>	<b>22</b>
<b>Şekil 4.</b>	<b>Glutasyonun okside ve redükte formları arasında dönüşümü .....</b>	<b>45</b>
<b>Şekil 5.</b>	<b>Kontrol, NS ve NS+OCT gruplarında patolojik değerlendirme.....</b>	<b>57</b>
<b>Grafik 1.</b>	<b>MLH tanılı çocuk ve yetişkin hastalarda GK cevabı .....</b>	<b>1</b>
<b>Grafik 2.</b>	<b>FSGS' de GK cevabı ve prognoz .....</b>	<b>2</b>
<b>Grafik 3.</b>	<b>Proteinüri ve glomerüler hastalıkta prognoz.....</b>	<b>21</b>
<b>Grafik 4.</b>	<b>OCT'nin böbrek histolojisi üzerine etkisi .....</b>	<b>56</b>
<b>Grafik 5.</b>	<b>Eritrosit içi katalaz ve TBARS değişimi.....</b>	<b>56</b>
<b>Grafik 6.</b>	<b>Böbrek dokusunda katalaz ve TBARS değişimi.....</b>	<b>57</b>

## ÖZET

### ADRIAMİSİNLE İLİŞKİLİ DENEYSEL NEFROTİK SENDROM MODELİNDE OKTREETİDİN SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ ARACILIĞIYLA BÖBREK PATOLOJİSİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ

**Amaç:** Nefrotik sendrom (NS) oluşum nedeni tam olarak aydınlatılamamış, ancak serbest oksijen radikalleri (ROS) ve antioksidan koruyucu mekanizmalar arası dengesizliğin patogeneizde önemli olduğu düşünülmektedir. Somatostatinler vücutta doğal olarak bulunan ve birçok fizyolojik fonksiyonun düzenlenmesinde rol alan nöropeptidlerdir. Bir somatostatin analogu olan oktreotidinin (OCT) oksidatif organ hasarında faydalı antioksidan etkileri bildirilmiştir.

Bu çalışmanın amacı adriamisin (ADR) ile oluşturulan deneysel NS modelinde, etyopatogeneizde yer alan ROS üzerine OCT'nin etkisini araştırmak ve yeni tedavi seçenekleri ortaya sunmaktır.

**Yöntem:** Yirmi dört adet non-üremik wistar albino erkek sıçan 3 gruba ayrıldı. Başlangıç günü (0. Gün): Kontrol grubuna %0.9 NaCl 2 cc (im); Nefrotik sendrom grubuna Adriamisin 5mg/kg (iv); Nefrotik sendrom tedavi grubuna (ADR+OCT) Adriamisin 5mg/kg (iv) ve Oktreetid 200 mcg/kg (im) uygulandı.

Gruplar 21 günün sonunda 24 saatlik idrar örneği toplandıktan sonra intrakardiyak ponksiyonla kan örnekleri alınarak sakrifiye edildi. Kan kreatinin düzeyi ve 24 saatlik idrar örneklerinden proteinüri düzeyleri ölçüldü. Böbreklerden birisi histolojik değerlendirme için % 10 formalinle sabitlendi, diğeri doku enzim düzeyleri çalışılmak üzere saklandı. Lipid peroksidasyon ürünleri ve antioksidan enzim düzeyleri böbrek dokusundan ve plazmadan çalışıldı. Eritrosit içi ve doku katalaz, Tiobarbitürik asit reaktif substans (TBARS) düzeyleri bakıldı. Histolojik olarak hematoksilen-eosin boyası uygulandı. Örnekler grup bilgisi olmadan aynı patolog tarafından inflamasyon, rejenerasyon ve dejenerasyon açısından semikantitatif olarak değerlendirildi.

İstatistiki değerlendirmede nonparametrik testler (Kruskall Wallis, Man Witney U testi) kullanıldı.  $P < 0.05$  anlamlı kabul edildi.

**Bulgular:** İdrar protein atılımı NS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek, tedavi grubunda NS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı daha düşük bulunmuştur. Plazma kreatinin değerleri açısından, NS grubunda ve tedavi grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı bir fark yoktu. Kreatinin düzeyleri her 3 grupta da benzerdir. Eritrosit içi katalaz ve TBARs değerlerinde 3 grup için de anlamlı bir farklılık yoktur. Böbrek dokusunda TBARs, NS grubunda kontrol grubuna göre artmış, tedavi grubunda NS grubuna göre azalmıştı. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Böbrek dokusu katalaz düzeyi NS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak azalmış, tedavi grubunda NS grubuna göre istatistiksel anlamlı artmış saptandı. Böbreğin histolojik olarak değerlendirilmesinde tubul ve interstisyel yapılar da 3 grup arasında anlamlı fark saptanmadı. Glomerüler patoloji skoru, NS grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmış, tedavi grubunda NS grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır.

**Çıkarılma:** Adriamisine bağlı oluşan NS' de doku antioksidan kapasitesinin anlamlı olarak azalması histolojik olarak glomeruler patoloji ile birliktelik göstermektedir. Oktreotid tedavisi böbrek dokusu antioksidan düzeylerini ve histolojisini kısmen düzeltmektedir. Eritrosit içi ROS düzeyleri bu tedaviden daha az etkilenmektedir. Bu alanda OCT yeni bir tedavi seçeneği olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Nefrotik sendrom, Oktreotid, Serbest oksijen radikalleri

## **ABSTRACT**

The Effect of Octreotide on Adriamycin induced Experimental Nephrotic Syndrome Model on Renal Pathology through Oxygen Free Radicals.

**Objective:** The nephrotic syndrome (NS) has not been fully clarified, but the free oxygen radicals (ROS) and the antioxidant protective mechanisms thought to be important in the pathogenesis. Somatostatins are found as neuropeptide structures naturally in the body and involved in the regulation of many physiological functions. Octreotide (OCT) which is a somatostatin analogue has been reported having beneficial antioxidant effects on oxidative organ damage.

The aim of this study was to investigate the effect of OCT on ROS which take place in the ethyopathogenesis of NS, in the experimental NS model induced by adriamycin, and to provide new treatment options.

**Methods:** Twenty-four non-uremic Wistar albino male rats weighing 200-250 grams were divided into 3 groups. At the beginning (Day 0): Control group, 0.9% NaCl 2 cc (im); Nephrotic syndrome group: Adriamycin 5mg/kg (iv), Nephrotic syndrome treatment group (ADR + OCT): Adriamycin 5mg/kg (iv) and Octreotide 200 mcg/kg (im) was administered.

At the end of 21 days: 24-hour urine sample collected and rats were sacrificed after the intracardiac puncture by taking blood samples. Creatinine and protein levels were measured in 24-hour urine samples. One of the kidneys fixed by 5% formalin for histological evaluation and the other is reserved for analyzing tissue enzyme levels. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels were studied in renal tissue and plasma. Erythrocyte and tissue catalase, thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) were measured. Histologically, hematoxylin-eosin (H&E) dye was applied (Figure 1-2).

Cross-sections were evaluated semi-quantitatively for inflammation, regeneration and degeneration by the same pathologist blindly.

Statistical evaluation, nonparametric tests (Kruskal Wallis, Man Whitney U test). P <0.05 was considered as significant.

**Results:** Urinary protein excretion of NS group was significantly higher than control group and when it was compared with treatment group, urinary protein excretion was significantly lower in the treatment group. Serum creatinin levels were similar between 3 groups. There was no significant difference between 3 groups in terms of CAT and TBARs measured in the erithrocytes. Renal tissue TBARs level was higher in NS group compared with control group and it was lower in the treatment group compared with NS group. But it has no statistical significance. Renal tissue CAT level was lowest in NS group, and it was significantly lower than the control group. In treatment group CAT level significantly increased compared with NS group. In terms of renal histology, tubuler and interstitial evaluation were similar between 3 groups. Glomerular pathology score was significantly higher in NS group compared with control group and it was significantly decreased in treatment group compared with NS group.

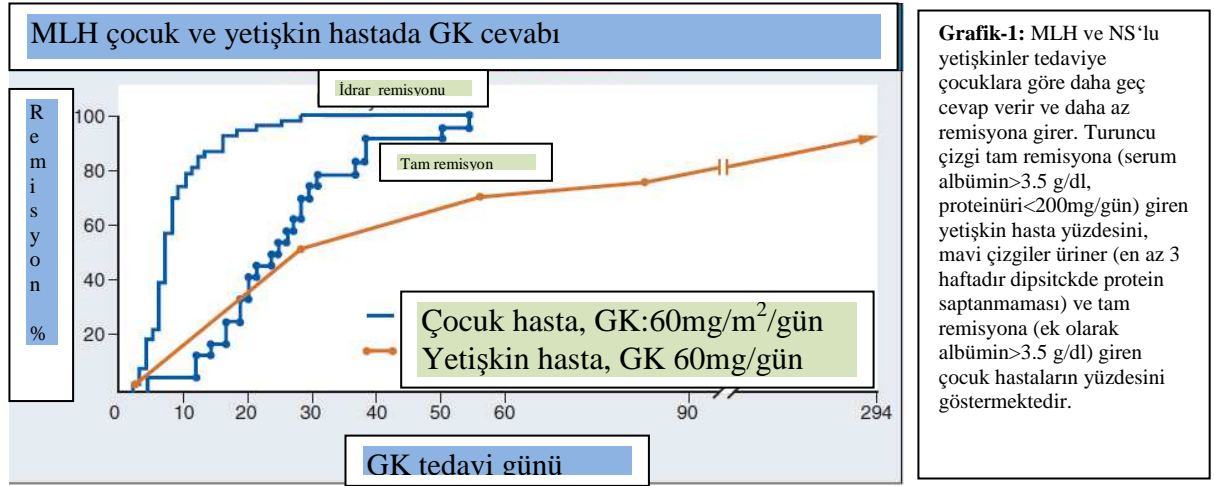
**Discussion:** Adriamycin-induced NS in the tissue antioxidant capacity is associated with a significant reduction in the histological glomerular pathology. Octreotide treatment partially improves renal tissue antioxidant levels and histology. ROS levels in red blood cells less affected by this treatment. OCT may be a new treatment option in this area.

**Key Words:** Nephrotic syndrome, octreotide, reactive oxygen species

## 1. GİRİŞ

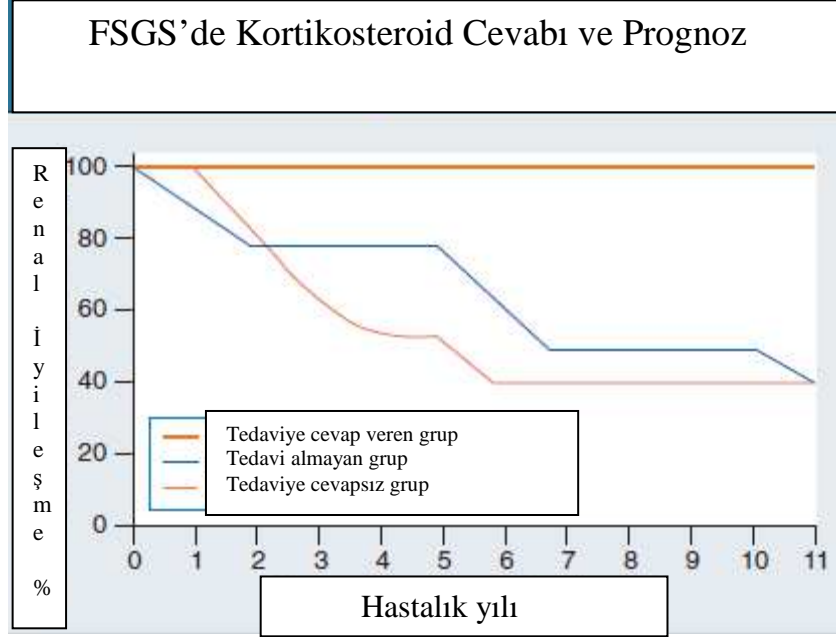
Nefrotik sendrom (NS) ağır proteinüri, hipoalbuminemi, hiperlipidemi ve ödemle karakterize bir tablodur(1,2). Nefrotik sendromun tedavisi steroid ve sitotoksik ilaçlarla yapılmaktadır. MLH çocukluk çağında daha sık rastlanan ve steroide iyi yanıt veren bir NS tipidir(1,3). Fakat MLH tanılı yetişkinlerde ve diğer glomerüler patolojilere bağlı gelişen NS' lu hastalarda steroid tedavisi ile remisyona girme oranları düşüktür(1,4,5). MLH dışındaki diğer GN' lere progresif renal yetmezlik gelişme riski mevcuttur. Progresyonda en ciddi risk faktörü proteinürüdür. Proteinürünün miktarı ve ciddiyeti ne kadar çoksa progresyon açısından risk o kadar fazladır(1).

**Grafik 1-** MLH tanılı çocuk ve yetişkin hastalarda GK cevabı(4,5)



Steroide dirençli NS'lar, histopatolojik olarak çoğunlukla fokal segmental glomeruloskleroz (FSGS) şeklinde kendini gösterir. Böbrek nakli sonrasında da %30 civarında nüks görüldüğünden ayrıca önem taşırlar(6).

**Grafik 2-** Fokal segmental glomeruloskleroz da glukokortikoid cevabı ve Prognoz (7)



Steroide dirençli olgularda azatiopirin, levamizol, siklofosfamid, siklosporin A, takrolimus, mikofenolat mofetil, eculuzimab, rituksimab tedavi seçenekleri olarak sunulmaktadır(1). Bu tedavi seçeneklerine rağmen proteinürisi devam eden hastaların yönetimi sorun olmaya devam etmektedir(8).

Çoğu glomerülopatide lezyon podositlerdedir. Podositlerin yapı ve fonksiyonlarının daha iyi anlaşılması tedavide hedefe yönelik yaklaşımları da beraberinde getirmiştir. Olması gereken podositlerdeki hasar mekanizmalarını tamir etmektir (9,10).

Sonuç olarak anti-inflamatuar ve immün-supresif etkileri ile halen kullanılan ilaçlar, genel podosit biyolojisini düzeltmede ve glomerüler hasarın tamirinde sınırlı etkiye sahiptir.

Bu nedenle dirençli nefrotik sendromlu hastalarda böbrek yetmezliğine gidişi hızlandıran proteinüriyi azaltacak yeni tedavi yaklaşımlarının arayışı devam etmektedir.

Bu konuyla ilgili yapılmış bir çok çalışma olmakla birlikte nefrotik sendrom sürecinin patogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır.

NS patogenezinde immünolojik mekanizmalar, otoimmünite ve genetik yatkınlığın rol oynadığı bilinmektedir. GN'lerde böbrek hasarını başlatan ve devam ettiren en önemli hücreler T hücreleridir(11). Özellikle monositler, T ve B lenfositleri ve trombositler en çok aktive olan hücrelerdir. Bu aktivasyon sonucunda çeşitli sitokinler dolaşıma, lokal olarak böbrek içine veya özel dokuların içine salınmakta ve glomerul geçirgenliğini artırıp protein kaybına neden olduğu düşünülmektedir.

Son zamanlarda NS'un ROS ve antioksidan defans mekanizmaları arası dengesizliğin sonucu olduğu (12,13), ROS'un proteinüri etyopatogenezinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir(14). Oksidatif stres bir çok dokuda kalıcı hasarlanma oluşturduğu gibi böbrek dokusunu da etkilemektedir. Reaktif oksijen metabolitleri artmış glomerüller kapiller duvar geçirgenliğine sebep olur(15). Superoksit ilişkili oksidatif hasar glomeruler bazal membranı bozar ve glomeruler geçirgenliği dengeleyen proteoglikan sentezini azaltır(16-18). NO çeşitli hücreler fonksiyonları düzenleyen küçük bir sinyal molekülüdür, NS patogenezinde önemli rolü vardır(19,20). SOD superoksit radikalini parçalar ve peroksite dönüştürür. Albumin peroksil radikalleri ile reaksiyona girer ve onları nötralize eder. Albumin plazmadaki major antioksidandır ve sürekli oksidatif strese maruz kalır(21). Ürik asid single oksijen moleküllerini bağlayarak eritrosit ve makrofajları korur. Bilirubin ise lipid ve lipoproteinleri oksidasyona karşı koruyan efektif bir antioksidandır(22).

MDA, bir lipid peroksidasyon ürünü olup NS'da anlamlı derecede yüksektir. ROS lipid peroksidasyonu dahil birçok indirgenme işlemine katılır ve GBM'da ROS üretimi artar. Lipidler gibi heparan sülfat gibi moleküllerin oksidatif hasardan etkilenmesi artmış glomerüler permeabiliteye yol açar(23,24).

Steroid sensitif NS'lu çocuklarda yapılan bir çalışmada antioksidan koruma mekanizmalarından GPx'in azaldığı, yüksek doz steroid uygulaması sonrası selenyum düzeyinin ve orantılı olarak GPx aktivitesinin arttığı gösterilmiştir(25).

Yapılan bir çalışmada NS'da ROS üretiminin arttığı, bunun da ROS üreten PMN ve diğer kan hücreleri arası dengesizlikten kaynaklandığı bildirilmiştir. T reguler hücreler ile CD20 pozitif B hücrelerin bu düzende muhtemel rolü olduğu düşünülmektedir(26). Bu çalışmada NS'lu çocuklarda PMN'den normale göre 10 kat

fazla ROS salınımı olduğu ve bunun da proteinüri ile doğru orantı gösterdiği saptanmıştır. NS'da ROS'un kaynağı net olarak bilinmemekle birlikte dolaşımdaki PMN'den kaynaklandığını düşünülebilir. ROS hücreler için toksik olduğu için çok hızlı indirgenme reaksiyonlarına girer(27). Ancak uzun ömürlü ROS metabolitleri (chloramines) böbrek dışında oluşsa da böbreğe ulaşacak yarı ömre sahiptirler(28). Anti-CD20 monoklonal antikoru (rituksimab) alanlarda ROS üretiminin %60 azalmış olduğu gösterilmiştir.

Adriamisin ilişkili NS modelinde, ADR glomerüllerde oksidatif hasarı uyarır ve minimal change/FSGS benzeri hasar oluşturur(29,30).

Oktreotid, bir somatostatin analogu olup, tüm büyüme faktörlerini inhibe etmektedir. Yapılan çalışmalarda akut pankreatit, üst GİS kanamaları, karsinoid tümör, VIPoma, Zollinger Ellison sendromu, glukagonoma, AIDS'e bağlı diyare ve akromegali tedavisinde başarılı bir şekilde kullanılmaktadır(31) Son çalışmalar göstermektedir ki somatostatin lenfosit fonksiyonlarını modüle eder ancak makrofaj fonksiyonları üzerine etkisi tam olarak bilinmemektedir. Somatostatin ve oktreotidin hidrojen peroksit, NO ve TNF düzeylerini uygulanan hormon konsantrasyonuna göre düzenlediği gösterilmiştir (32) .

Nefrotik sendrom patogeneğinde reaktif oksijen metabolitlerinin rol aldığı ve nefrotik sendromlu hastalarda glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz gibi defansif oksidatif stres mekanizmalarının bozuk olduğu gösterilmiştir(14,25). Genel inhibitör etkisi olan oktreotidin immunomodülatör etkisi de olması sebebi ile ROS ve antioksidan sistem arası dengesizliği önleyerek sağkalıma katkısı olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada oktreotidin NS etyopatogeneğinde rol alan ROS üzerine etkisinin gösterilmesi hedeflenmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Nefrotik Sendrom

Nefrotik sendrom glomerüler filtrasyon bariyerinde geçirgenliğin artması sonucu oluşan masif proteinüri(yetişkin>3.5gram/gün,çocuk>40mg/saat/m<sup>2</sup>) ve bunun sonucu ortaya çıkan hipoalbuminemi(<3.5g/dl), ödem, hiperlipidemi, lipidüri ile karakterize klinik bir tablodur(1,2).

#### 2.1.1 Etiyoloji ve Epidemiyoloji

NS'un yıllık insidansı 16 yaşın altındaki çocuklarda 100.000'de 2.0-2.7, erkek kız oranı çocukluk döneminde 2/1, yetişkin ve adölesan dönemde eşit, siyah ırkta beyaza göre daha fazla görüldüğü bildirilmektedir(1,33,34,35).

MLH çocukluk çağında predominanttır ve tüm yaş gruplarında da sık görülür(36). 10 yaşın altındaki çocuklarda NS'un %90 sebebi MLH'dır. Daha büyük çocuklarda bu oran %50-70, yetişkinlerde %10-15 dir(1). Son veriler MLH ın yetişkinlerde sıklığının azaldığı yönündedir(37). İnsidansı coğrafyalar arası farklılık gösterir. İngilterede 1/milyon, ABD de 27/milyon, GüneyAsya ve Amerikalılarda sık olmakla beraber Afrika kökenli Amerikalılarda çok daha seyrek görülür. Afrika kökenli Amerikalılarda FSGS 'nin prevalansı artmıştır. ABD'de Afrika kökenli Amerikalılarda FSGS en sık idiyopatik NS sebebidir(38). Brezilya gibi bazı ülkelerde FSGS en sık primer renal hastalıktır(39). Primer FSGS erkeklerde kadınlardan sık görülür ve hem çocuk hem yetişkinlerde siyah ırkta Kafkaslara göre daha sık görülür(40). Yapılan bazı çalışmalarda çocuklarda ve yetişkinlerde FSGS prevalansının arttığı gözlenmektedir(41). 60 yaş üstü Kafkaslarda idiyopatik MN en sık primer NS sebebidir(1,42). MN çocuklarda nadir<%5 görülürken, yetişkinlerde yaşa bağlı %15-50 arası sıklıkta görülür(1,42). 40 yaştan sonra sıklığı artar ve yetişkinlerde erkeklerde kadınlardan daha sık görülür. MPGN çocuk ve yetişkinlerde primer NS un %5-10' unu oluşturur(2). Kadın ve erkekte eşit sıklıkta görülür. Kafkaslarda Afrika kökenli Amerikalılara göre daha sık görülür. 8-14 yaşları arasında prezente olan MPGN sıklıkla

idiyopatiktir veya nefritik faktörlerle ilişkilidir.18 yaş üstü gelişen MPGN kriyoglobulinemi veya HVC ile ilişkilidir.

MPGN tip1 prevelansı Avrupa’da azalmaktadır çünkü ilişkili olduğu bazı kronik enfeksiyonlar azalmaktadır. Suudi Arabistan, Peru ve Afrika’da bakteriyel viral ve parazitik enfeksiyonlar sık görüldüğü için MPGN tip1 hala sık görülmektedir.

NS’daki glomerüler hastalıkların sıklıkları yaşla değişiklik gösterir. İlişkili prevelanslar aşağıdaki tablodaki gibidir(1,43,44).

**Tablo1-** Nefrotik sendrom yaş ilişkili prevelans tablosu

	PREVALANS(%)				
	Çocuk <15 yaş	Genç Yetişkin		Orta yaş ve yaşlı populasyon	
		Beyaz ırk	Siyah ırk	Beyaz ırk	Siyah ırk
<b>MLH</b>	78	23	15	21	16
<b>FSGS</b>	8	19	55	13	35
<b>MN</b>	2	24	26	37	24
<b>MPGN</b>	6	13	0	4	2
<b>Diğer GN’ler</b>	6	14	2	12	12
<b>Amiloid</b>	0	5	2	13	11

NS'un major etiyolojik sebepleri aşağıdaki tabloda belirtilmiştir(1).

**Tablo 2-** Yetişkinlerde nefrotik sendrom olarak prezente olan glomerüler hastalıklar

Hastalık	İlişkili durumlar	Tanıma yardımcı serolojik testler
<b>MLH</b>	Alerji,atopi,NSAİİ,Hodgkin	-
<b>FSGS</b>	Zenci Amerikalılar	-
	HIV enfeksiyonu	HIV antikoru
	Eroin, pamidronat	-
<b>MN</b>	İlaçlar:altın,penisilamin,NSAİİ	-
	Enfeksiyonlar:HBV,HCV;malarya	HBsAg, anti-HCV
	SLE nefriti	Anti-DNA antikoru
	Malignite:meme,AC,GİS	-
<b>MPGN tip 1</b>	C4 nefritik faktör	C3 düşük, C4 düşük
<b>MPGN tip 2 (DDH)</b>	C3 nefritik faktör	C3 düşük, C4 normal
<b>Kriyoglobulinemik</b>	Hepatit C	Anti-HCV, RF,
<b>MPGN</b>		C3-C4 düşük
<b>Amiloid</b>	Myelom	Serum protein elektroforez
		İdrar İF elektroforezi
	RA, Bronşektazi, Crohn Hast., FMF	-
<b>DM Nefropatisi</b>	Diğer DM mikroanjyopatiler	-

### 2.1.2. Sınıflandırma

Nefrotik sendromu klinik duruma, histopatolojik lezyona ve steroid tedavisine verdiği cevaba göre inceleyebiliriz .

#### 2.1.2.1. Klinik Sınıflandırma

NS primer (idiyopatik) böbrek hastalığı veya birkaç sistemik hastalıkla ve herediter hastalıklarla ilişkili olarak (sekonder) olarak iki ana grupta incelenir(45,46).

Primer NS'da olay izole olarak böbrektedir. En sık görülen primer glomerül hastalıkları membranöz nefropati, fokal segmental glomerüler skleroz, minimal değişiklik hastalığı, membranoproliferatif glomerülonefriti kapsar(46).

Sekonder NS'da ise NS sistemik bir hastalık ya da bir olaya ikincil olarak gelişir (33, 45,47,48). Sistemik lupus eritematozis (SLE), vaskülitler, amiloidoz, sarkoidoz gibi sistemik hastalıklar, HBV, HCV, sfiliz gibi sistemik enfeksiyonlar, diyabet gibi heredofamilyal bozukluklar, altın tuzları, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID), tridion, kaptopril, eroin, d-penisilamin, civa bileşikleri gibi ilaçlar, Hodgkin hastalığı, lenfoma lösemi gibi maligniteler sekonder NS'a sebep olabilir(1,45,46).

### **2.1.2.2. Histopatolojik Sınıflandırma**

Işık mikroskopunda görülen glomerüler değişiklikler immünofloresan ve elektron mikroskopik incelemelerle birlikte değerlendirilir(1).

Işık mikroskop incelemelerde klasik olarak H&E ve PAS boyaları kullanılır. Bu boyalar selülarite ve matriks genişlemesini değerlendirmede kullanılır. Metenamin gümüş glomerül ve tubülüs bazal membranlarını boyar. Masson trikrom tekniği, glomerül bazal membran, interstisyum, protein depozitleri ortaya koymak için uygulanır.

İmmunofloresan ve immün peroksit boyamaları Ig ve komplemanları tanımlamak için kullanılır.

Elektron mikroskopi bazal membran morfolojisini değerlendirmek için kullanılır. Ayrıca immün depositlerin yerleşimini lokalize etmede yardımcıdır.

#### **2.1.2.2.1 Minimal Lezyon Hastalığı**

Işık mikroskopta glomerüler görünüm normaldir. İmmunofloresan mikroskopta kompleman veya immunglobulin birikimi yoktur. Karakteristik histolojik lezyon elektron mikroskopta epitelyal ayaklı çıkıntılarda görülen yaygın silinmedir. Daha spesifik olarak ayaklı çıkıntılarda retraksiyon, genişleme ve kısalma görülür(49,50).

Ayaksı çıkıntılarda görülen silinmenin derecesi ile proteinürinin derecesi korelasyon göstermez(51).

Patogenezi net değildir. Son çalışmalar sistemik T hücre disfonksiyonunun glomerüler permeabilite faktör salınımı ile sonuçlanacağını önermektedir. Dolaşımdaki bu faktör direkt olarak glomerüler kapiller duvarı etkiler ve ayaksı çıkıntılarda füzyon ve ciddi proteinüri ile sonuçlanır. Bu hipotez hücre aracılıklı immunitenin MLH’da major patojenik faktör olduğunu savunur. Atopik bireylerin MLH gelişimi için daha yüksek risk altında olması, hodgkin hastalarında MLH’nın genel populasyona oranla daha sık görülmesi, hücre ilişkili cevabı modifiye eden glukokortikoid ve siklofosfamidin MLH tedavisinde kanıtlanmış fayda sağlaması bu hipotez ile tutarlılık gösterir(52).

Yıllardır MLH patofizyolojisinde B hücrenin rolü önemsiz kabul edilmektedir. Ancak ritüksimabın (CD20 monoklonal antikoru) MLH’da olumlu etkilerinin gösterilmesi glomerüler permeabilite faktörünün hem B hem de T hücrelerle ilişkili olabileceğini önermektedir(53).

**Tablo 3-** MLH gelişimi ile ilişkili faktörler (1)

İlaçlar
NSAİİ
İnterferon alfa
Lityum (nadir)( genellikle kronik interstisyel nefrit yapar)
Altın (nadir)( genellikle MN yapar )
Allerji
Polenler
Ev tozu
Böcek zehiri
İmmünizasyon
Malignite
Hodgkin hastalığı
Mikozis Fungoidez
Kronik Lenfositik Lösemi (nadir)(MPGN ile ilişkilidir )

### 2.1.2.2.2 Fokal Segmental Glomerüloskleroz

FSGS, bir hastalıktan ziyade bir histolojik lezyonu tarifler. Etyolojik sınıflama komplikedir(54,55).

-Primer, idyopatik FSGS: Tipik NS kliniği vardır.

-Sekonder FSGS: Non-nefrotik proteinüri ve renal yetmezlik ile prezente olur.

**Tablo 4– FSGS'nin etyolojik sınıflaması (1)**

<b>Primer (idyopatik) FSGS</b>
Muhtemelen dolaşımdaki permeabilite faktörleri ile ilişkili
<b>Sekonder FSGS</b>
1)Familyal/Genetik(OR-OD kalıtım gösterebilir.) Nefrin,podosin,alfa-aktinin4,informin2,WT1,TRPC6,fosfalipazC1 mutasyonu
2)Virüs ilişkili HIV-1, parvovirus B19, CMV, SV40
3)İlaç ilişkili Eroin, interferon, lityum, pamidronat, sirolimus
4)Yapısal/Fonksiyonel postadaptif durum ilişkili -Azalmış renal kitle (çok düşük doğum ağırlığı, tek taraflı renal agenezi, renal displazi, reflü nefropatisi, cerrahi renal ablasyon, kronik allogreft nefropatisi -Normal renal kitle ( hipertansiyon, obezite, anabolik steroidler, orak hücreli anemi, siyanotik konjenital kalp hastalığı, ateroemboli, akut vazookluziv durumlar

Primer FSGS'li hastaların çoğunda glomerül hücrelerde hasar dolaşan faktör sebebi ile gelişir. Sekonder FSGS'de glomeruloskleroz glomerüller hipertrofiye ve hiperfiltrasyona adaptif cevap olarak gelişir.

Işık mikroskopta FSGS'nin çeşitli histolojik varyantları tanımlanmıştır(56).

- Klasik FSGS diyebilmek için diğer tipler dışlanmalıdır(54). En sık görülen varyanttır. Işık mikroskopta bazı glomerüllerde segmental alanlarda mezenjiyal kollaps ve skleroz ile karakterizedir. İlmli mezenjiyal hiperselülarite ve kapiller lümenin hyalen depositlerle parsiyal oklüzyonu sık görülür. İF mikroskopta genellikle immun deposit görülmez. Sklerotik lezyonlarda non spesifik IgM ve kompleman (C<sub>3</sub>,C<sub>1</sub>) görülebilir. Ayrıca çok zayıf mezenjiyal IgM birikimi görülebilir(54). Elektron mikroskopta epitelyal hücre ayaksı çıkıntılarda yaygın füzyon görülür.
- ‘Kollapsing’ varyant: HIV enfeksiyonu veya başka bozukluklar sebebi ile gelişebilir. Klasik FSGS’den kollaps ve sklerozun segmental değil bütün glomerüllerde olması ile ayrılır. Klasik FSGS’ye göre daha ciddi NS tablosu ile seyreder.
- Tip varyant: Proksimal tübüle yakın glomerüllerin uç tarafında epitel hücre hasarı ve köpük hücre birikimi ile karakterizedir(54). İF mikroskopta IgM ve C3 pozitifdir.
- Perihiler varyant: Segmental sklerotik glomerüllerin %50’den fazlasında perihiler skleroz ve hyalinozis vardır(54).
- Selüler varyant: Glomerüllerden en az birinde kapiller lümeni tıkayan segmental endokapiller hiperselülarite mevcuttur.

### **2.1.2.2.3 Mezengial Proliferatif Glomerülonefrit**

Yaygın mezengial IgA birikimi ile karakterize mezengial proliferatif bir hastalıktır. IgA moleküllerinin anormal glikozilasyonunun hastalık patogenezinde önemli olduğuna inanılmaktadır. Tipik olarak İF mikroskopunda, glomerul mezengium bölgesinde egemen olarak IgA birikimi ile tanı doğrulanır. Elektron mikroskobunda mesangiumda elektron-yoğun birikimlerin varlığı doğrulanır. Işık mikroskobu bulguları değişkendir. Mesangial hücre proliferasyonu, mesangial genişleme, fokal ve yaygın

proliferatif GN, kresentikGN, kronik sklerozan GN ve membranoproliferatif GN tip 1 saptanabilir(46).

#### **2.1.2.2.4 Membranoproliferatif Glomerülonefrit**

MPGN'de renal biyopsideki glomerüller hasar ışık mikroskopta karakteristik değişiklikler olarak izlenir. Işık mikroskopta mezenjial hiperselülarite, endokapiller proliferasyon, glomerüller kapiller duvar boyunca çift çizgi formasyonu görülür.

EM görünümlere göre klasik olarak tip1,2,3 olarak sınıflanır.

- MPGN tip1: Mezengium ve subendotelyal alanda immun deposit birikimi (IgG ve kompleman)
- MPGN tip2 (DDH): Glomerül,tübul ve bowman kapsülü bazal membranı boyunca devamlılık gösteren deposit birikimi(57,58,59). intramembranöz dens depolanma ile bazal membran kalınlaşması vardır.
- MPGN tip3: Subendotelyal birikimin yanında subepitelyal birikim de mevcuttur.

Bütün tiplerde mezengial proliferasyon, kresent oluşumu, hiperlobülasyon ve epimembranöz depolanma görülür(60).

IF mikroskop incelemelerde MPGN'nin major 2 formu izlenir: İmmun kompleks ilişkili tip ve kompleman ilişkili tip.

MPGN patogenezinde 2 ana mekanizma tanımlanmıştır.

1) İmmun kompleks ilişkili: Kompleman aktivasyonuna sebep olan immun kompleks birikimi. Kronik antijenemi ve/veya dolaşan immun kompleksler, kronik enfeksiyonlar, otoimmun hastalıklar ve monoklonal gamopatiler sonucu gelişebilir(61-69).Vakaların çoğunda altta yatan bir sebep bulunur(70-72). IF mikroskopi altta yatan sebep hakkında bir fikir verebilir.

2) Kompleman ilişkili: IK ilişkili tipe göre daha az sıklıkta görülür. Alternatif kompleman yolun disregülasyonu ve sürekli aktivasyonu sonucu oluşur (70,71,73,74).

İmmun kompleks ilişkili tipte kompleman aktivasyonu klasik yol aracılığı ile olur. Tipik olarak normal veya ılımlı azalmış C<sub>3</sub> ve düşük serum C<sub>4</sub> konsantrasyonu mevcuttur.

Kompleman aracılı tipte alternatif yolun aktivasyonuna bağlı C<sub>3</sub> düşük, C<sub>4</sub> normaldir(77). Ancak kompleman aracılı tip C<sub>3</sub> düzeyinin normal olması ile dışlanamaz. Yetişkinlerde DDH'da veya C<sub>3</sub> GN'de normal C<sub>3</sub> bulunması seyrek değildir(79). Hipokomplementemi MPGN'nin bütün formlarında görülür(75-79).

#### **2.1.2.2.5 Membranöz Glomerülonefrit**

Membranöz glomerülonefritte subepitelyal depozitler genellikle düzenli, bazen düzensiz şekilde bazal membranda dağılım gösterir. Primer histolojik değişiklik ışık mikroskopta görülür. Hücre proliferasyonu ve infiltrasyonu olmadan GBM'da diffuz kalınlaşma görülür(80,81). İmmun florasan mikroskopta GBM boyunca subepitelyal diffuz granüler IgG ve C3 birikimleri görülür. Elektron mikroskopta GBM dış yüzeyinde subepitelyal elektron yoğun birikimler, podosit ayakları çıkıntılarında silinme ve spike görülür.

MN'e yol açan patojenik mekanizmalar ratlardaki Heymann nefriti ile açıklanabilir. Bu model insanlardaki MN kliniği ve histolojisi ile benzerlik gösterir(82,83). Heymann nefritinde dolaşan antikorlar podosit ayakları çıkıntılarında endositik reseptör megalini (gp330) hedef alır. Oluşan subepitelyal immün birikimler komplemanı aktive eder. c5b-9 membran atak kompleksi oluşur. Kompleman ilişkili podosit hasarı 2 değişikliğe sebep olur.

- Podositte sinyal yollarının aktivasyonu ile oluşan proteinürü, aktinin yeniden dağılımına ve slit diyafram bütünlüğünün kaybına sebep olur(84,85).
- Hasarlanan podositlerden tip4 kollajen ve lamininin fazla miktarda üretimi GBM genişlemesine sebep olur(86-88).

Megalin insan glomerüllerinde eksprese edilmez. Diğer antijenler insan MN'de de bulunur (fosfolipaz A2 reseptör, nötral endopeptidaz).

Etyoloji: Yetişkinlerdeki MN vakalarının çoğu idiyopatiktir(yaklaşık%75).

**Tablo 5– MN sekonder sebepleri (1,89)**

Hastalık grupları	Sık görülenler	Nadir görülenler
İmmun hastalıklar	SLE, DM	RA, Hashimoto, Graves, mixed BDH, Sjogren, PBS, Büllöz pemfigoid, dermatitis herpetiformis, AS, GVHD, Gullian Barre, Kemik iliği ve kök hücre transplantasyonu, anti-GBM, ANCA kresentik GN
Enfeksiyonlar, parazitik hastalıklar	HBV	HCV, Sfiliz, Filaryazis, Şistozoma, Malarya,Lepra
İlaç ve toksinler	Altın, penisilamin, NSAİİ	Kaptopril, formaldehid, busilamin, hidrokarbonlar, Civa

### 2.1.2.3. Tedaviye Cevaba Göre Sınıflandırma

Nefrotik sendrom steroid tedavisine verdiği cevaba göre steroide cevaplı (SSNS) ve steroide dirençli (SRNS) olarak değerlendirilebilir.

**Tablo 6-** Nefrotik sendrom tedaviye cevap tanımları (90)

NEFROTİK SENDROM TANIMLARI		
	Yetişkin	Pediyatrik
Relaps	1 aydan uzun süreli tam remisyona sağlandıktan sonra 3.5gr/gün ve üzerinde proteinüri gelişmesi	Albu-stix ile +3 pozitiflik veya haftanın 3 gününde 40mg/m <sup>2</sup> /saat üzerinde proteinüri gelişmesi
Sık relaps	6 ay içinde 2' den fazla relaps olması	6 ay içinde 2' den fazla relaps olması
Parsiyel remisyona	Proteinürinin 210mg/gün-3.4gr/gün arasına gerilemesi ve bazal proteinüriye göre %50 den fazla gerileme	Ödem kaybılması Albuminin 3.5g'ın üzerine çıkması Proteinürinin 100mg/m <sup>2</sup> /gün devam etmesi
Steroid rezistan	4 ay boyunca 1mg/kg/gün prednizon almasına rağmen proteinürinin devam etmesi	4 hafta boyunca 60mg/m <sup>2</sup> prednizone tedavisine rağmen proteinürinin devam etmesi
Steroid bağımlı	Steroid tedavisinin tamamlanmasından sonraki 14 gün içinde veya tedavi süresince 2 ardışık relaps olması	Steroid tedavisinin tamamlanmasından sonraki 14 gün içinde veya gün aşırı Steroid tedavisi boyunca 2 relaps olması

### 2.1.3. Nefrotik Sendromun Patofizyolojisi

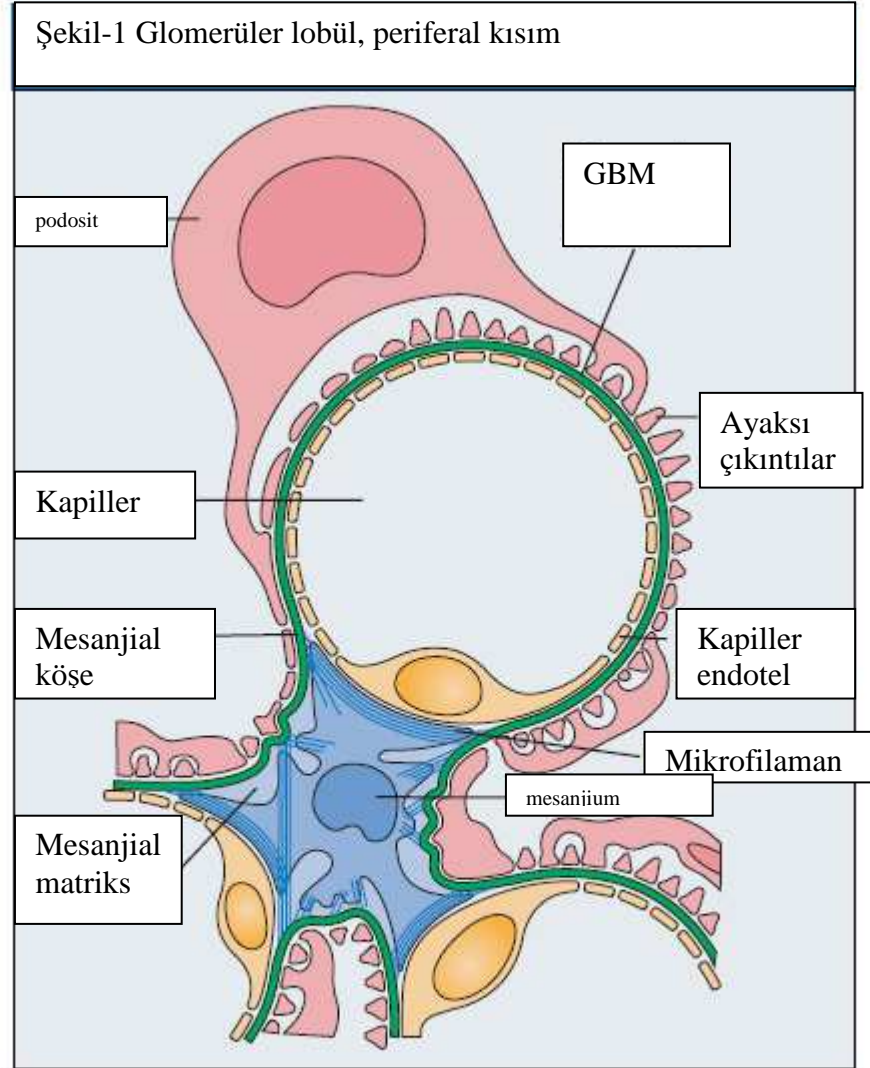
#### 2.1.3.1 Glomerül yapısı:

Glomerüllerin fonksiyonu filtrasyondur. Filtrasyon membranını içten dışa doğru sırasıyla aşağıdaki yapılardan oluşur;

- Endotel
- Bazal membran

- Podosit (Slit Diyafram)

Bu bariyerlerden en önemlisi bazal membrandır.



Kapiller yapı ve mesanjiumun aksiyal kesitinin görüldüğü şekilde visseral epitel(podositler) görünmektedir. Kapiller-mesanjial aralıkta kapiller endotel ile mesanjium direk bitişiktir.

Kapiller endotel fenestra denilen binlerce küçük oyuk ile delinmiştir. Endoteli bazal membran çevreler. Filtrasyon işlevinde GBM mol büyüklüğüne (size) ve elektriksel yüke (charge)(proteoglikanların negatif elektrik yükü sebebi ile) dayalı bir bariyer olarak işlev görür. Glomerüler kapiller ağın en dış katı olan epitel hücreler mikromoleküllerin filtrasyonlarında boyut selektif bir bariyer olarak görev yapar. Visseral epitel hücreleri (podositler), glomerüler filtrasyon bariyerinin en dış parçasını oluşturur. Bu hücreler kesintisiz değildir. Bu ayaksı çıkıntılar glomerüler filtratın geçtiği

dar, slit por denen aralıklar ile birbirinden ayrılmıştır. Plazma proteinlerine esas direnci bazal membran oluşturmaktadır. Elektriksel olarak negatif yüke sahip epitel hücreleri de plazma proteinlerinin filtrasyonuna ayrıca bir kısıtlama getirir(91).

### **2.1.3.2 Patogenez**

Birçok deneysel ve klinik veri GN'in birçok formunun immunolojik mekanizmalarla geliştiği düşüncesini desteklemektedir(92-97). Streptokoklarla oluşan APSGN ve hepatit C ile oluşan kriyoglobulinemik MPGN gibi örnekler dışında etyolojik faktörlerin çoğu bilinmemektedir. Enfeksiyonlar, ilaçlar, toksinlere maruziyet gibi presipite edici faktörler ortak yolları kullanarak benzer immunolojik yanıtları başlatır. GN'in otoimmün hastalıklarla ilişkili olduğuna dair güçlü kanıtlar vardır. Vücudun kendi antijenlerine uygunsuz bir cevabı (toleransın bozulması) veya yabancı bir antijene karşı bozulmuş bir cevap söz konusu olabilir(93,98).

GN'lerde böbrek hasarını baslatan ve devam ettiren en önemli hücreler T hücreleridir.

Yardımcı T hücreleri farklı immün mekanizmaları aktive eder. Proliferatif ve kresent formlarda Th1 baskın iken, MN ve MLH' da Th2 baskındır(99,100). Humoral ya da TH2 ilişkili immün cevap glomerüllerde immunglobulin birikimine ve kompleman aktivasyonuna yol açar. Hücresel ya da TH1 ilişkili immün cevap glomerülün dolaşımdaki mononükleer inflamatuvar hücrelerle (lenfosit, makrofaj) infiltrasyonuna ve kresent formasyonunun oluşmasına katkıda bulunur. Humoral ve hücresel immün işlemler lokal olarak inflamatuvar mediatörlerin salınımını başlatır. Bu mediatörler GN'in fonksiyonel (protein filtrasyonu artar, GFR hızı azalır) ve yapısal (hiperselülarite, nekroz, tromboz, kresent, skleroz) değişikliklerinden sorumludur. Humoral immünite (TH2); glomerüler hastalıkların çoğu glomerüler Ig ve kompleman birikimi ile karakterizedir. Glomerüllerde immunglobulin depolanması birçok mekanizmayı aktive eder: Kompleman sistemi, nötrofiller (özellikle nötrofiller, monosit/makrofaj sistemi ve T hücreleri) ve sitokinler, büyüme faktörleri proteazlar ve pıhtılaşma zincirindeki proteinler..(101). Bu da bize humoral immün yanıtın glomerüler

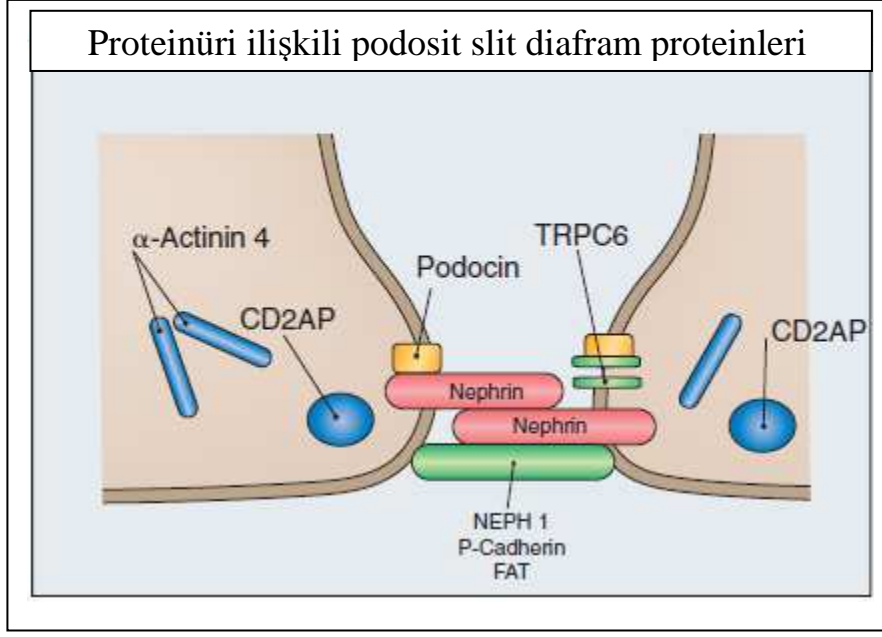
hasarın esas sebebi olduğunu düşündürür. APSGN, IgA nefropatisi, lupus nefriti, membranöz nefropati, tip1 MPGN buna örnek olarak verilebilir. Glomerüllerdeki immun deposit birikimi şu faktörlerin etkisi ile yapısal ve fonksiyonel değişiklik meydana getirir(102). Glomerüllerde depositlerin birikim yerlerine göre(103-107):

- 1) Mesangial birikimler mesangial hücre proliferasyonu, fenotip değişimi, mediyatör salınımı ve mesangial matriks genişlemesi ile hasar oluşturur.
- 2) Subendotelyal birikimler dolaşımdaki nötrofil ve makrofajları aktive etme yeteneğine sahiptir(104,105). Bu hasara endotelyal cevap da ayrıca önemlidir(108).
- 3) Subepitelyal birikimler podositlere zarar vererek hasar oluşturur(106,107,109).

IgG1 ve IgG3, komplemanı daha zayıf aktive eden IgG4 ve IgA ya göre glomerüllere daha çok hasar verir(110,111). Glomerüllerde Ag-Ab etkileşimi (insitu İK oluşumu) lokal kompleman aktivasyonu ile sonuçlanır ve bu işlem dolaşımda bu komplekslerin oluşmasına göre daha nefritojeniktir(93,102,112).

Hücrel immünite(TH1); mononükleer, lenfosit ve makrofajlar immun deposit yokluğunda MLH, FSGS ve kresentik GN'de glomerüler hasar gelişiminden sorumludur(97,113-115).

Son yıllarda glomerül yapısında özellikle glomerül kapiller duvarında değişikliklere neden olan bazı mutasyonlar olduğu görülmüştür. Dolayısıyla genetik yatkınlık GN gelişimine yatkınlığı artırabilir. Son zamanlarda, podosit ve ince diyafram proteinleri olan podosin, alfa-adducin ve nefrindeki genetik bozuklukların konjenital ve ailesel nefrotik sendrom ile sonuçlanabileceği gibi, sporadik nefrotik sendroma da yol açabildiği bildirilmiştir(116).



**Şekil2-** Proteinüri ilişkili podosit slit diafram proteinleri

### 2.1.3.2.1 Patogenezde Serbest Oksijen Radikalleri

Glomerüler endotelin iç yüzeyini kaplayan glikokaliks son derece ilginç bir yapıya sahiptir. Fenestralarda da yer alan bu mukus tabakası glomerüler filtrasyon bariyeri için kritik bir rol üstlenmiştir. Fenestraların boş bir delik olmamasının altında yatan temel gerçeklerden birisi ve belki de en önemlisi glikokalikstir. Glikokaliksin yapısında gelişen bozuklukların ortaya çıkardığı klinik tablolar bu görüşe anlam kazandırmıştır(117). Reaktif oksijen ürünlerinin, glikokaliksi tahrip ettiği ve proteinüriyi arttırdığı gösterilmiştir(118,119). Bu vakalarda yapılan standart elektron mikroskopik incelemelerin glomerüler filtrasyon bariyerinde yapısal bir bozukluğu göstermemesinin de temel sebebi budur. Çünkü glikokaliksi görüntülemek için özel fiksasyon tetkikleri kullanmak gerekmektedir(120). Bu duruma verilebilecek bir başka örnek klinik tablo adriamisin toksisitesidir. Adriamisin toksisitesi, proteoglikan sentezindeki azalma ile ilişkili olarak glikokaliks tabakasında incelmeye ve böylece glomerüllerin gerek elektriksel yük ve gerekse büyüklüklerine göre mevcut olan seçici geçirgenliklerinde bozulmaya sebep olur. Bu veriler glomerüler endotelin, proteinürik böbrek hastalıkları patogenezinde önemli rol oynayabildiklerini gösterir(121). Sonuç olarak glomerüler endotel, fenestralar da dahil glikokaliks ile kaplıdır ve bu tabaka

dolaşımdaki glikoproteinler ile yakın ilişki içerisinde. Fenestraların sıvılar için yüksek oranda geçirgenliğe sahip olduğu unutulmamalıdır.

Warner ve ark.nın yaptığı çalışmada patogeneizde ROS ve antioksidan koruyucu mekanizmaları arasındaki dengesizliğin NS'daki podosit hasarında önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir(122). Ratlara PAN enjekte edilerek oluşturulan NS modelinin antioksidan enzim tedavisi ile önlenebileceği gösterilmiştir (bu çalışma podosit hasarının ROS'larla ilişkili olduğunu öne sürer) (123-128).

PAN uygulaması, podosit hidrojen peroksid ve superoksit seviyelerinde erken, lipid peroksidasyon ürünlerinde geç dönem artışa sebep olur. PAN ayrıca major hücresel antioksidan enzim aktivitelerinde anlamlı değişiklikleri indükler. NS böbrek glomerüllerinde visseral epitelyal hücrelerde(podosit) morfolojik değişikliklerle karakterizedir.

NS gelişiminde podosit morfolojisindeki dramatik değişim şu şekillerde sonuçlanabilir(129-132): hücre şişmesi, ayaksı çıkıntıların yok olması, vakuol formasyonu ve ayaksı çıkıntıların glomeruler bazal membrandan ayrılması ile sonuçlanır. Ayaksı çıkıntıların yok olması glomerül filtrasyon bariyerinden proteinüri ile sonuçlanan protein kaçağı ile yakından ilişkilidir.

Mesanjial hücrelerin çeşitli uyarılara karşı ROS üretme kapasitesi glomerüler hasarda bu otokoidlerin infiltre olan PMN ve monositlerden bağımsız olarak rol alabileceğini önermektedir. Günümüz çalışmaları akut proliferatif GN modelinde glomerülden izole edilen glomerüler makrofajların kültürlerde kan monositlerine göre daha fazla miktarda radikal ürettiği gözlenmiştir.

Renal hücrelerin enerji üretimini ve transport fonksiyonlarını bozabilen ROS; proteinlere karşı glomerüler geçirgenliğin artmasından sorumlu tutulmaktadır. Hatta, prostaglandin, tromboksan ve PAF gibi vazoaktif maddelerin salınımında rol oynadıkları da öne sürülmektedir(133).

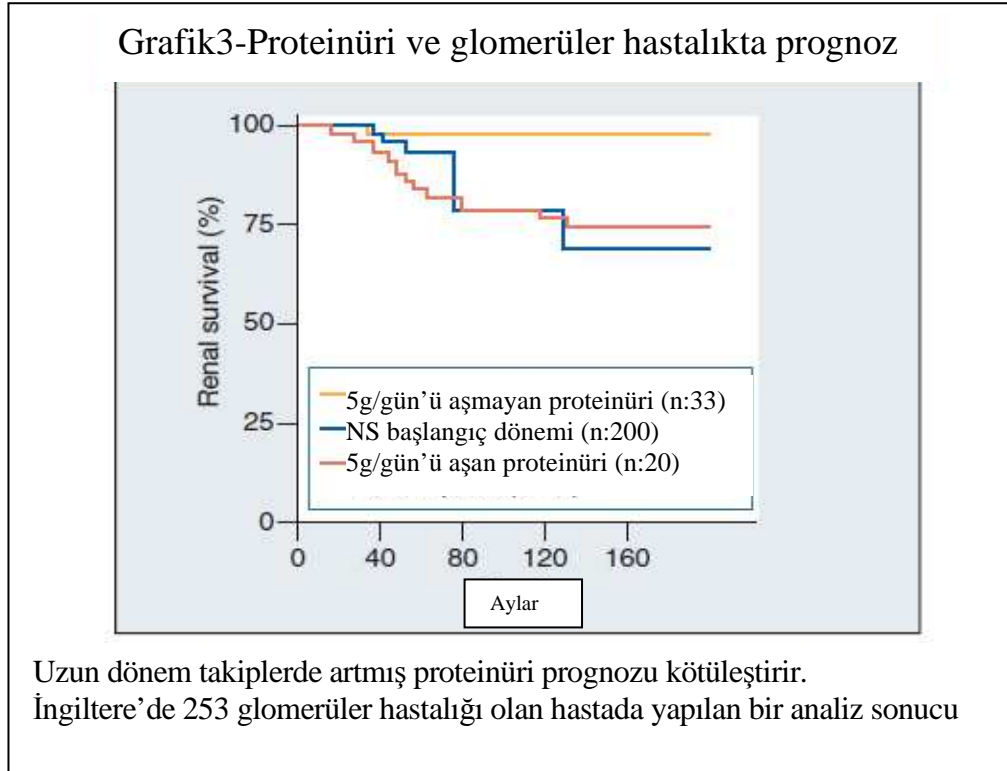
### 2.1.3.2.2. Proteinüri

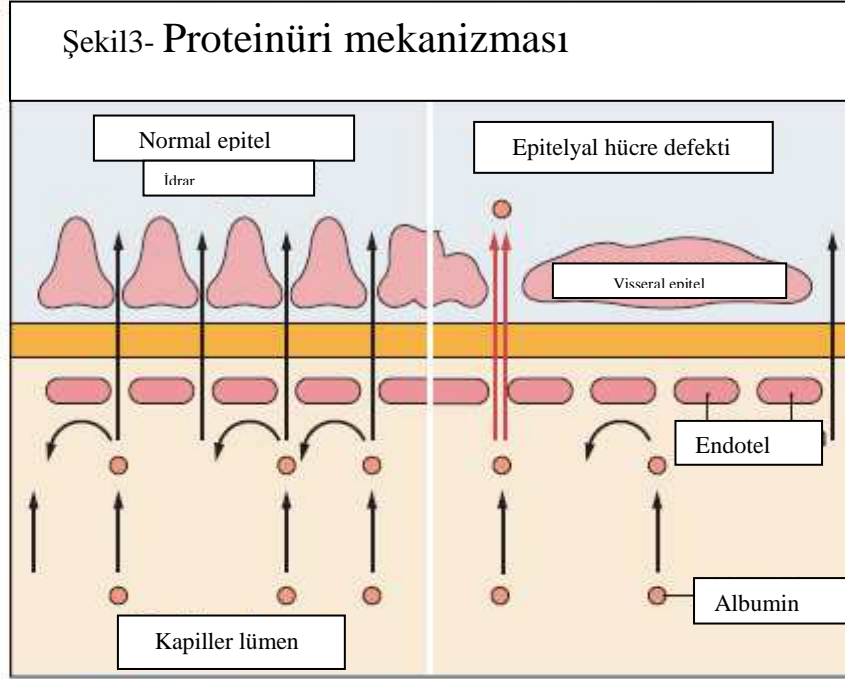
Yetişkinlerde 3.5 gr/gün'den fazla protein atımı nefrotik proteinüri kabul edilir. Normalde, glomerüler filtrasyon bariyerinin seçici geçirgenliği ve proksimal tubulusdan proteinlerin reabsiyonu nedeni ile, büyük molekül ağırlıklı proteinler idrarda görülmez. Altta yatan glomerüler hastalık, glomerüler kapiller duvarın yük ve boyut selektivitesinde ortaya çıkan değişikliklerden dolayı proteinüri ile sonuçlanır(46).

Glomerüler geçirgenliği arttıran faktörlere yönelik geniş araştırmalara karşın, proteinürinin patogenezi halen tam açıklanamamıştır. Yapılan çalışmalarda immün mekanizmalar, inflamatuvar mediatörler, genetik faktörler, humoral ve hücrel immünite sorumlu tutulmaktadır(101).

Filtrasyon bariyerinde geçirgenlik artışı ile ortaya çıkan proteinüri NS gelişmesinde primer sorumlu patofizyolojik mekanizmadır. İdrarla en fazla kaybedilen protein albümindir. Bunun yanında immünglobulinler gibi diğer plazma proteinleri, çeşitli koagülasyon faktörleri, vitamin-D bağlayan protein ve metalloproteinler de idrarla kaybedilmektedir(46).

Ödem, hipoalbüminemi ve hiperkolesterolemi albüminürinin bir sonucudur.





Albumin gibi negatif yüklü proteinler endoteldeki (sialoglikoproteinler) ve bazal membrandaki (heparan sülfat proteoglikanlar) negatif yüklü proteinler sayesinde geri çevrilir. Birçok proteinürik durumda podositler ve slit diyafram hasarlanır, Ayaksı çıkıntılar şişer. Bu durumda albumin glomerüler bazal membran ve birleşmiş ayaksı çıkıntılar arasındaki boşluktan geçer.

**2.1.3.2.3. Hipoalbuminemi:** Hipoalbumineminin mekanizması tam olarak anlaşılacak kadarıyla birlikte albuminin büyük bir kısmı idrar yoluyla atılır(134,135). Masif proteinüri sonucu oluşan hipoalbuminemi NS'un değişmez laboratuvar bulgusudur. İdrarla protein kaybı ile serum albumin düzeyi arasında ters ilişki vardır. Ancak bu her zaman geçerli değildir. Protein atılım hızında değişiklik olmaksızın serum albumin seviyesi normal veya normale yakın bulunabilmektedir. NS'da protein kaybına cevap olarak artmış hepatik albumin sentez hızı hepatik albumin gen ekspresyonundaki artışla ilişkili olabilir(136) ve kısmen düşük onkotik basınç ile stimüle olabilir(137). Düşük onkotik basıncın klinik olarak ikinci önemli bir etkisi daha vardır. Bu da hepatik lipoprotein sentezini arttırmasıdır. Hipoalbumineminin şiddeti hastadan hastaya değişiklik göstermektedir.

Proteinüriyi kompanse etmek için hepatik protein sentez hızı artsa da idrarla kaybedilen küçük molekül ağırlıklı proteinlerin plazma seviyesi düşük kalır. Büyük molekül ağırlıklı proteinlerin plazma seviyesi artar. Bu da hiperkoagülabilité ve hiperlipidemi ile sonuçlanır(1).

**2.1.3.2.4. Ödem:** NS'daki ödemı oluşturan en az 2 major mekanizma vardır. Klasik olarak NS'da görülen ödem, hipoalbuminemi sonucu plazma onkotik basıncında azalma ve buna sekonder, su ve solütlerin intertisyel mesafeye geçmesi sonucu oluşmaktadır. Bu olay sonucu intravasküler volümde azalma meydana gelmekte, bu renin-anjiyotensin-aldosteron sistemini aktive etmektedir. Sonuç olarak su ve tuz tutulumu artmaktadır (underfilling teorisi ) (1).

Bazı NS olgularında primer defekt distal nefronun sodyum atılımındaki bozukluktan kaynaklanmaktadır (overfilling teorisi ). Bu da muhtemelen ciddi proteinüride tübüler lümene geçen proteolitik enzimlerin epitelyal Na kanallarını(ENAC) aktive etmesi sebebi ile gelişir(1).

Na atılım defektinin mekanizması hala bilinmemekle birlikte, birçok glomerüler hastalıkta intersitisyumda bulunan inflamatuvar lökositlerin AT2 ve oksidan üretimini artırarak Na eksreksiyonunu bozabileceği hipotezi öne sürülmüştür(1).

**2.1.3.2.5. Hiperlipidemi ve Hiperlipoproteinemi:** Hiperlipidemi ağır proteinürisi olan NS hastalarında sık olarak görülen bir özelliktir(1). NS'da kolesterol, trigliserid, fosfolipid ve yağ asitlerinin plazma konsantrasyonu artmıştır. Genelde serum kolestrolü 500mg/dl üzerinde iken serum TG düzeyi değişkenlik gösterir(1). Genellikle serum albumin seviyesi ile kolesterol seviyesi arasında ters orantı vardır(138). Trigliseridlerin seviyesi daha değişken olup, hafif hipoalbuminemde normal sınırlarda bile olabilmektedir(139). Hipoalbuminemi gibi hiperlipidemi de artmış sentez veya azalmış yıkım sonucu meydana gelmektedir. Artmış sentez genellikle albumin sentez artışıyla birlikte dir. Çünkü lipoproteinler ve albumin birbirine çok yakın metabolik yollarla karaciğerde sentezlenmektedir(138). Lipoprotein lipaz aktivitesindeki azalmayla giden azalmış lipoprotein katabolizması da hiperlipidemiye katkıda bulunmaktadır(1,140).

#### 2.1.4. Klinik Bulgular

Nefrotik sendrom, asemptomatik proteinüriden en sık görülen ödeme kadar genişleyebilen bir bulgular spektrumuyla ortaya çıkabilir(46). Tipik bulgular ödem, iştah azalması, iritabilite, gastrointestinal rahatsızlık ve enfeksiyonlara yatkınlıktır(46).

Ödem sabah göz kapaklarında sınırlandırılmış iken ayakta durmakla gün boyu lokalizasyonu alt ekstremitelere kayar. Ödem jeneralize hale geldiğinde sıklıkla efüzyonlar da eşlik eder. Asit, labial skrotal şişlik ve plevra efüzyonu ileri ödem tablosunda görülür(141). Aşırı asit ve beraberinde oluşabilen plevral efüzyon solunum sıkıntısı oluşturabilir(46).

Gastrointestinal bozukluklar arasında masif ödeme eşlik eden asit, bağırsak duvarı ödemi sonucu oluşan ishal, kusma, protein malnutrisyonu, artmış albümin sentezine bağlı hepatomegali ve enfeksiyona eğilimin artmasından dolayı spontan peritonite bağlı akut batın tablosu bulunabilir(46,142).

Negatif nitrojen dengesine bağlı gelişen kilo kaybı ciddi proteinürisi olan hastalarda ödemle maskelenebilir.

Bazı NS hastalarında akut böbrek hasarı gelişebilir. Mekanizma tam bilinmemekle birlikte, hipovolemi, intersitisyel ödem, iskemik tübüler hasar öngörülen mekanizmalar arasındadır(141).

NS hastalarında arteriyel-venöz tromboz ve pulmoner emboli insidansı artmıştır. Derin ven trombozuna bağlı ısı artışı ağrı, renal ven trombozundan dolayı gross hematüri, yan ağrısı görülebilir(46,141).

Bazı NS hastalarında proksimal tübül disfonksiyonu görülebilir. Bu da glukozüri, aminoasidüri, fosfatüri, bikarbonatüri ve vitamin D eksikliğine yol açabilir. Eritropoetin yapım bozukluğuna bağlı anemi ve tiroksin bağlayıcı globulindeki değişikliklere bağlı TFT'de bozukluklar görülebilir. Hipertansiyon MLH dışındaki bir glomerüler lezyona sahip hastalarda sık karşılaşılan bulgudur ve basit bir şikayetten ensefalopatiye kadar uzanan klinik yelpazede karşımıza çıkabilir. Hematüri MLH'da

görülebilmesine rağmen beklenen bulgu değilken MLH dışındaki glomerülonefritli hastalarda daha sık görülmektedir(141).

### **2.1.5. Laboratuvar Bulgular**

Proteinüri 24 saatlik idrarda değerlendirilir. 150mg/gün protein atılımı normal sınırlardadır. 3,5g/gün ve üzeri protein atılımı nefrotik düzeyde proteinüri olarak kabul edilir. 24 saatlik idrar toplamayan hastalarda spot idrarda protein/kreatinin (mg/mg) oranı da proteinüri hakkında tahmini bilgi verir(1,46,141).

Proteinüri saptanan hastada klinik öykü ve fizik muayene etiyolojiyi tahmin etmede faydalıdır. DM, SLE, HIV enfeksiyonu gibi sistemik hastalığı olanlarda ve altın, penisilamin, interferon, lityum gibi ilaç kullanım öyküsü olanlarda etken tahmin edilebilir(1,46,141).

NS'lu hastaların serum albümin değeri 2,5mg/dl'nin altındadır. Serum kolesterol ve trigliserid seviyesi artmıştır. Böbrek fonksiyonları için BUN ve serum kreatinin değerlendirilmesi gereklidir. Anemi ve hipokalsemi görülebilir.

NS'lu hastanın klinik olarak değerlendirilmesinden sonra ANA, C3, C4, serum ve idrar protein ve immün fiksasyon elektroforezleri, sfiliz, HBV, HCV serolojileri ve kriyoglobulin ölçümleri yapılabilir. Bu testlerin rutin olarak istenmesi kesin değildir(143).

Tanıyı kesinleştirmek için birçok hastada böbrek biyopsisi gerekir.

**2.1.6. Nefrotik Sendromun Tedavisi:** Nefrotik sendromda destek tedavi ve spesifik tedavi uygulanır.

### 2.1.6.1. Destek Tedavisi

Nefrotik sendrom destek tedavisinde önemli olan faktörler diyet ve diüretik tedavisidir (1,46,141,144).

ACEİ ve ARB'ler intraglomerüler basıncı azaltarak protein atılımını azaltırlar, bu da hastalık progresyonunu yavaşlatır. Glomerüler filtrasyon hızında azalma, hiperkalemi bu ajanların potansiyel yan etkileri olduğu için serum kreatinin ve potasyum düzeyleri takip edilmelidir. Çok düşük proteinli diyetler proteinüriyi azaltmakla ve hastalık progresyonunu yavaşlatmakla birlikte malnutrisyon riski taşır. İdrardaki protein kaybı göz önüne alınarak dikkatle uygulanmalıdır(1).

Periferik ödem ve asit primer renal Na retansiyonuna bağlı olduğu için tuz kısıtlamasına(yaklaşık 2g/gün) gidilir ve genellikle loop diüretikler kullanılır(141).

Hiperlipidemi altta yatan hastalığın tedavisi ile geriler. Diyet kısıtlamasının tedavide minimal faydası vardır. Bazı hastalarda statin kullanılabilir(141). Eğer tromboz gelişmişse heparin ve ardından warfarin tedavisi hastanın nefrotik durumu devam ettiği sürece kullanılır(141).

### 2.1.6.2. Spesifik Tedavi

**1) Kortikosteroidler:** Kortikosteroid tedavisi NS'da remisyon sağlamak için ilk kullanılacak ilaçtır. İmmun supresif etkisinin yanında ek olarak glomerüler filtrasyon bariyerine etkili antiproteinürik etkisi vardır(145,146).

Günümüzde NS tedavisinde steroidlerin değişmez yeri olmasına rağmen kesinleşmiş tedavi rejimi bulunmamaktadır. Steroid tedavisine cevap altta yatan glomerüler patolojiye bağlıdır. GK'lerin; T ve B hücre ilişkili immün cevap üzerinde inhibitör etkisi olduğu gibi fagositler üzerinde de potent inhibitör etkisi vardır. Kazanılmış ve doğal bağışıklık üzerindeki inhibitör etkilerinden dolayı bir çok inflamatuvar ve otoimmün hastalıkta tedavide yeri vardır(147,148).

NS'da steroidlerin hangi mekanizma üzerinden etki gösterdikleri bilinmemektedir. Glukokortikoidlerin podositler üzerinde yerleşik glukokortikoid reseptörleri yoluyla nefrotik sendromda etkili olduğuna dair görüşler bulunmaktadır(149). Gerçekten de steroid tedavisi ile remisyon sırasında slit diyaframın yapısı düzeltilmektedir.

**2) Sitotoksik Tedavi:** NS'da sitotoksik ilaç kullanım endikasyonları uzun süre steroid kullanımına bağlı yan etkilerin azaltılması, sık relaps olanlarda uzun vadeli remisyonun sağlanması ve steroide cevap vermeyen vakalarda remisyonun sağlanmasıdır.

**Siklofosfamid:** Alkilleyici bir ajan olup, hem immünosupresif hem de sitotoksik etkilerini DNA üzerinden hücrenin mitotik aktivitesini engelleyerek göstermektedir (150,151). Hem hücrenel hem de hümorale immunitiyi etkiler(152). Aktif ve inaktif metabolitleri böbrekler yoluyla atılır. Atılım 48 saatte tamamlanır. Böbrek yetmezliği durumlarında ilacın toksik etkileri artar, bu sebeple doz ayarlaması yapılmalıdır(153-155).

Oral tedavi 2 mg/kg/gün dozuyla başlanıp 8–12 hafta süre ile verilir(156-160). Remisyon süresi tedavinin süre ve dozuna bağlıdır(153). 12 haftalık tedavinin 8 haftalık tedaviden daha üstün olduğu bilinmektedir(156,156,161). Dirençli hastalıkta kemik iliği toksitesi, fırsatçı enfeksiyonlar, sistit gibi yan etkileri arttığı için 2.5mg/kg/dozunun aşılması önerilmez(153).

Son yıllarda özellikle yan etkilerinin daha az görülmesi ve oral tedavi ile aynı derecede etkinliğe sahip olması nedeni ile ayda bir 750 mg/m<sup>2</sup>/doz iv. pulse tedavi oral tedavinin yerini almaya başlamıştır(153).

Alkilleyici ajanların yan etkileri hızlı mitoz gösteren hücreler üzerinde çok belirgindir. Siklofosfamidin gonadal toksitesi kemik iliği toksitesi, fırsatçı enfeksiyonlar, sistit gibi yan etkileri son derece önemlidir. Kemik iliği toksitesi açısından haftalık hemogram ile takip edilmeli ve varisella enfeksiyonuna bağlı olarak değilse varisella zoster Ig ile tedavi planlanmalıdır(1,46). Fırsatçı enfeksiyonlardan P.carini açısından dikkatli olunmalıdır(153). Hemorajik sistit siklofosfamid kullanımında daha sık görülen bir komplikasyondur. Mesna kullanımı ile önlenir.

Mesane toksisitesinin tolere edilemediği zamanlarda diğer bir alkilleyici ajan klorambusil kullanılabilir(153).

**Klorambusil:** Alkilleyici bir ajan olup etkisi siklofosfamide benzer. Siklofosfamidi tolere edemeyen hastalarda klorambusil kullanılabilir(150,153).

**Azatiopürin:** Pürin analogu antimetabolittir. Prodrugdur. Kırmızı kan hücrelerinde 6-merkaptopürine transforme olur. IV ve oral kullanılabilir. Oral alındığında emilimi oldukça iyi olup karaciğerde metabolize edilir ve böbrekler yoluyla atılır. Sık görülen yan etkileri kemik iliği süpresyonu sonucu gelişen lökopeni, GİS intoleransı ve enfeksiyona duyarlılıktır(162). Ksantin oksidaz inhibitörü olan allopürinol ile birlikte kullanıldığında yan etkileri artar. Yan etkilerinin alkilleyici ilaçlardan daha az olması nedeniyle tercih edilecek bir ilaç olarak görülmesine rağmen plaseboya üstün olmadığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Bazı vakalarda 2–2,5 mg/kg/gün dozunda 4 yıl süreyle azotiopirin kullanımının faydalı olduğu gösterilmiştir(156,163,164). Maximum 3 mg/kg/gün dozuna çıkılabilir. Hemogram, BFT, KCFT takibi yapılmalıdır. Renal yetmezlikte doz azaltılır. Lökopeni trombositopeni gelişenlerde de doz azaltılır. Makrositoz gelişen hastalar daha yakından takip edilmelidir(162).

**Levamizol:** T-hücre stimülasyon özelliğine sahip immünomodülatör etkili antihelmintik bir ilaçtır. Steroide bağımlı çocuklarda denendiği ve bazılarında remisyon sağladığı bilinmektedir. Yetişkinlerde kullanımı ile bilgiler sınırlıdır. Hong Kong'dan bildirilen bir yayında 3 MLH'lı hastaya uygulanmış, ikisinde tam remisyon sağlamıştır(159).

**Siklosporin A:** T-hücrelerini baskılama özelliğine sahip bir immünsüpresiftir. IL-2 ve T hücre kaynaklı bazı sitokinleri inhibe eder. Podositler üzerine direkt antiproteinürik etkisi vardır(145,146). Siklosporin, steroid bağımlı, siklofosfamid uygulamasından sonra relaps olan ve siklofosfamid toksisitelerinden (gonadal toksisite) kaçınılması gereken kişilerde kullanılabilir(165-167). Deneyimler sınırlı olmasına rağmen takrolimus da kullanılabilir ancak siklosporine üstünlüğü gösterilememiştir(168-171). GK dirençli vakalarda siklosporine cevap daha azdır(%50). Nefrotoksik olmasına rağmen daha düşük doz ve daha uzun süreli tedavilerde nefrotoksisite gelişmeden remisyon sağlanabilir.

Standard başlama dozunda hedef aralık 50-125ng/ml'dir. Önerilen doz 2 bölünmüş dozda 5-6 mg/kg/gün 6 ay süre ile ardından uzun süre 2 mg/kg/gün'dür. Tipik tedavi süresi yavaşça azaltılarak devam eden 1-2 yıldır(46). Nefrotoksisite, hepatotoksisite, gingival hiperplazi, tremor ve nadiren konvülzyon gibi nörolojik bulgular, infeksiyon insidansında artış, glikoz intoleransı, hiperürisemi ve gut yan etkilerindedir(46,172). Çoğu hastada siklosporini bıraktıktan sonra relaps gelişir. Eğer tedavi devamına ihtiyaç varsa nefrotoksisiteyi değerlendirmek için böbrek biyopsisi yapılmalıdır(46). Steroide dirençli FSGS de standard ikinci tedavi siklosporindir(46).

**Takrolimus:** CsA'a benzer bir kalsinörin inhibitörüdür. Fakat invitro olarak lenfosit proliferasyonu ve in vivo greft rejeksiyonunu baskılamada mol esasına göre CsA dan 50-100 kat daha güçlü bir immun supresiftir(46). Makrolid grubu bir antibiyotiktir. Siklosporin ile benzer şekilde hücre ilişkili ve humoral immün yanıtı baskılar. CsA gibi sitokrom p450 tarafından KC'de metabolize edilir. Yan etki profili CsA ile benzerdir(172).

**Mikofenolat Mofetil:** MMF uzun süredir solid organ transplantasyonlarında rejeksiyonu önlemede kullanılan etkin bir immünsüpresif ilaçtır. Denova pürin sentezini inhibisyon ve inozin monofosfat dehidrogenazı inaktivasyon yoluyla seçici olarak T ve B lenfositlerin proliferasyonunu engeller. B hücrelerinin antikor yapımını, sitotoksik T hücrelerinin üretimini baskılar ve lenfositlerde adezyon moleküllerinin ekspresyonunu azaltır. Böylece aktive lenfositlerin endotel hücrelere yapışmasını bozar. Aktive lenfositlerin adezyon moleküllerinin ekspresyonunu bozmasıyla antikor birikiminden sonra glomerüllere inflamatuvar hücrelerin akımını azaltabilir(46). Günümüzde özellikle lupus nefritinin tedavisinde etkili olduğu ortaya konmuştur. Ancak çoklu ilaç direnci olan nefrotik sendromların tedavisinde de kullanılmaya başlanmıştır(173,174). Bulantı kusma, karın ağrısı, anemi ve lökopeni yapar. CsA ve takrolimustan farklı olarak nefrotoksik değildir(46).

**Rituksimab:** B lenfosit yüzeyindeki CD20'nin şimerik monoklonal antikorudur. Çeşitli glomerülopati tedavilerinde kullanılabilir (MLH, FSGS, böbrek transplantasyonunu takiben tekrarlayan FSGS) (175-178). B ve plazma hücrelerini azaltarak antikor yapımını baskılaması ile glomerüldeki patolojinin düzelmesi hatta iyileşmesini öngörmek mantıklıdır.

**Eculizumab:** Aktive olmuş komplemanın uç kısımlarının c5a ve c5b9'un glomerül zararlanmasına katkıda bulunan inflamatuvar hastalığın geniş dağılım göstermesinden sorumlu tutulmuştur. İmmun birikimlerde c5b-9 membran atak kompleksinin olması ve kobra yılan zehiri ile deneysel kompleman tüketimi yapıldığında takiben proteinürinin önlenmesi patogeneizde komplemanın rolünü doğrular. Eculizumab yeni bir humanize anti C<sub>5</sub> monoklonal antikorudur. C<sub>5</sub>'in proinflamatuvar ürünlere parçalanmasını önlemek üzere geliştirilmiştir(46).

## 2.2. Deneysel Nefrotik Sendrom

Deneysel NS modeli, NS'in patofizyolojisini öğrenmek için deney hayvanlarında dışardan verilen bir ilaçla veya antijenik uyarı ile oluşturulan NS modelidir. Değişik yöntemlerle deneysel olarak NS meydana getirmek mümkündür(179).

**1) Puromisin Aminonükleozid Nefriti:** Puromisin aminonükleozid nefrit (PAN) MLH benzeri hastalık oluşturur(180,181). Ratlara PAN enjekte edilerek oluşturulan NS iyi kurgulanmış bir NS modelidir. Yapılan çalışmada antioksidan enzim tedavisi uygulanması ile önlenmesi podosit hasarının ROS'larla ilişkili olduğunu öne sürer(122).

Frenk ve ark.nın yaptığı çalışmada günlük s.c. 1.5 mg/100 gram vücut ağırlığına 10-20 gün verilmiş, 1 hafta sonra idrarda protein artmış, takiben kanda albumin azalmış, patolojik incelemelerde MLH benzeri görünüm ortaya çıkmıştır(182).

Glomerül geçirgenliği üzerindeki değişiklikler PAN'ın intraperitoneal verilmesini takiben 24 saat gibi erken dönemde ortaya çıkmaktadır. Ayaksı çıkıntılarda düzleşme olur(183). PAN uygulamasının podositlere spesifik toksisitesi vardır. PAN'nın toksik etki mekanizması tam anlaşılacakla birlikte, PAN uygulaması, podosit hidrojen peroksid ve superoksit seviyelerinde erken, lipid peroksidasyon ürünlerinde geç dönem artışa sebep olur(122).

**2) Adriamisin ile Oluşturulan Nefrotik Sendrom:** Adriamisin ilişkili nefropati deneysel MLH ve FSGS oluşturmada kullanılır (30,184). Adriamisin DNA ve RNA sentezini inhibe eden antrasiklin grubu antineoplastik bir ajandır. Antrasiklinlerin renal hasara sebep olduğunu gösteren ilk yayının 1970'de Sternberg tarafından bildirildiği görülmüştür(184). Adriamisin ilişkili renal hasar ilk kez 1976'da ratlarda, 1998'de farelerde gösterilmiştir(184).

Adriamisin nefropati modelinde ciddi böbrek hasarı oluşurken mortalite ve morbidite (kilo kaybı) kabul edilebilir sınırlardadır. İlaç uygulamasından sonra birkaç gün içinde renal hasar oluşmaya başlar. Bu özellikleri ile renal hasarı değiştirebilecek ajanların denenmesi yönünden iyi bir modeldir(184).

ADR insanlarda esas olarak KC'de metabolize edilir. Uygulanan dozun yaklaşık %4-5'i 5 gün içinde üriner eksresyona, %40-50'si 7 gün içinde safra yoluyla atılma uğrar(185). Ratlarda adriamisin iv uygulamanın ardından hızlıca plazmadan temizlenir, dokuda birikir. İdrara ve safraya yavaş yavaş salınır. ADR esas olarak böbrekte birikir(186). Bu sebeple nefrotoksik özelliği belirgindir. ADR glomerüllerde direk toksik hasar oluşturur ve ardından tubulointersitisyel hasar oluşturur. Glomerüler filtrasyon bariyerinde değişiklikler meydana getirir. Glikokaliks kalınlığı azalır, endotel hücrelerde por büyüklüğü artar, glomerüler yük selektivitesi azalır, podositlerin ayakçı çıkıntılarında birleşme meydana getirir. Bu değişiklikler glomerüler hücrelerde proteoglikan ve glikozamin üretimindeki azalmadan kaynaklanır(187).

Bunun dışında oksidatif stresin de bu modelde proteinüri patogenezinin sorumlu olduğu ileri sürülmüştür(188).

4-6 hafta içerisinde hafif renal yetmezlikle giden NS tablosuna yol açar(189-192). Progresif glomerüler hastalığa sebep olmaktadır(180,192). Renal fonksiyonlar kısmen korunur. Uzun süreli proteinürinin devam etmesi ile 12-16. haftalarda FSGS tablosu oluşur(193,194).

Erkek Wistar albino ratlarda 1.5-7.5mg/kg dozda adriamisin kullanılabilir (184). Rodentlerin türleri her farklı türün renal hasarlanması için gereken ADR dozu farklı olacağı için önemlidir. Penil ven, femoral ven, retroorbital pleksus kullanılabilirlikle

beraber çalışmaların çoğunda iv kuyruk veni kullanılmıştır(184). Kuyruk veninin kullanılmasının major komplikasyonu ilacın cilt dışına ekstre vaze olması durumunda gelişecek cilt nekrozudur. İntrakardiyak ve intrarenal uygulamalar invaziv olması sebebi ile çok tercih edilmez. İntraperitoneal uygulama kolay uygulanabildiği için özellikle farelerde tercih edilmekteydi(184). Fakat peritoneal membrandan emilim sonucu ortaya çıkan değerler iv uygulama ile tutarlılık göstermediği için artık daha az kullanılmaktadır. Erkek ratlar dişilere göre ADR nefropatisi için daha elverişlidir. Seks hormonlarının ADR ilişkili nefropatide renal hasar derecesine katkısı olduğu düşünülmektedir(184).

Sprague Dawley Ratlara veya Wistar albino ratlara kuyruk veninden farklı dozlarda adriamisin enjekte edilerek bu model oluşturulabilir. 7.5. mg iv. tek doz (daha toksik) olarak verilebileceği gibi 5 mg/kg iv. tek doz şeklinde de verilebilir(195,196).

**3) Heymann Nefriti:** İnsan membranöz glomerülonefritine benzer bulgular ortaya çıkaran otoimmün bir patolojidir (82,83). HN'de dolaşımdaki antikorlar podosit ayakları çıkıntılarındaki endositik reseptör megalini (gp330) hedef alırlar.

HN'in aktif ve pasif olmak üzere 2 modeli vardır(197). Aktif HN 1959'da heymann ve ark. tarafından yapılan çalışmada gösterildiği gibidir. Renal tubuler hücrelerin fırçamsı kenarından FxIA antijeni elde edilerek tavşan ve koyunlara tekrarlanan enjeksiyonlarla verilmiş ve anti-FxIA serumları elde edilmiştir. Ratlara tek enjeksiyon şeklinde anti-FxIA serumu verilerek membranöz nefrit oluşturulmuştur (198).

İmmünizasyonu takip eden 2 hafta içerisinde megaline karşı antikorlar oluşur. 3-4 hafta içinde imün depositler birikir. 6-8 hafta içinde proteinüri gelişir. 12 hafta içinde NS gelişir.

Pasif HN de ratlara megalin veya FX1A ya karşı heterolog antiserumlar düzenli olarak enjekte edilir. MN'in tipik birikimleri dakikalar içinde oluşmaya başlar. Proteinüri enjeksiyondan sonra 4-7 gün içinde oluşur(197).

### 2.3. Somatostatin

SST genel inhibitör etkili tetradeka peptid yapıda bir nörohormondur(199). GİS traktta parakrin hücreler tarafından üretilerek birçok GİS endokrin hormon salınımını inhibe eder. SST ayrıca sinir sisteminde birçok lokasyonda bulunur ve sinir sistemi üzerinde birçok fizyolojik etkisi vardır. Biyolojik olarak aktif olan iki moleküler formu vardır(200). SST-14 ve SST 28. SST14 beyinde, SST28 barsaklarda daha etkindir. Her ikisi de GİS traktta eksprese edilir. Her iki form da preprohormonun post-translasyonel işleme uğraması ile oluşur. Siklik peptid yapıda bir hormondur ve plazma yarı ömrü 1-3dk'dır(200).

Sinir sisteminde korteks, hipotalamus, spinal kordda fazla miktarda bulunur. Ayrıca kalp, tiroid, cilt, göz ve timusa giden sinirlerde de lokalize olmuştur. GİS traktta ve pankreasta fazla miktarda bulunmasının sebebi buradaki parakrin, endokrin D hücreleri ve enterik sinirler tarafından üretilmesidir(200).

SST; periferik ve merkezi sinir sisteminin, endokrin ve ekzokrin bezlerin, vasküler ve immun sistemin fonksiyonlarını düzenler. Etkilerini 5 özgül membran reseptörü aracılığı ile göstermektedir(200). Bu reseptörlerin SST 14 ve SST 28'e bağlanmalarında belirgin farklılık olmamasına rağmen, sentetik SST peptidlerine bağlanmalarında belirgin varyasyonlar vardır(200). Bütün SST reseptörleri beyinde bulunur(200).

#### 2.3.1.Somatostatinin Etki Modeli ve Analogları

SST parakrin mediatör olarak görev yapan regülatuar bir peptiddir. Nöral, endokrin, enteroendokrin hücrelerden salınır ve dokuda ve kandaki yarı ömrü çok kısadır. İv uygulamadan sonra yaklaşık 3 dakika içinde peptidin %50' si dolaşımdan temizlenir. Somatostatin özgül reseptörlerine bağlanarak transmembran uyarısı oluşturmaktadır(200). İn vitro incelemeler somatostatinin siklik adozin monofosfat (cAMP) inhibe ettiğini göstermiştir. İntraselüler c-AMP ve kalsiyum düzeylerini azaltarak reseptör aktivasyonunu sağlar. Potent inhibitör bir hormondur. Ancak sentetik

analogları Lanreotid ve oktreotid daha potent ve daha uzun etkilidir (200). Somatostatin LAR ve Lanreotid PR yavaş salınımlı formlardır.

### **2.3.2. Oktreotid**

Somatostatinin metabolik yıkıma dirençli sentetik analogu oktreotid oktapeptid yapısındadır. Doğal hormona göre etki süresi daha uzun ve potansiyel etkisi daha yüksektir . Oktreotidin plazma yarı ömrü 90 dakikanın üzerindedir(200).

OCT; GH, glukagon ve insülini somatostatinden daha potent inhibe eder. GnRH'a LH yanıtını baskılar. TSH salgısını önler. Splanjik kan akımını azaltarak ve vasküler düz kaslara direk etkiyle portal basıncı düşürür. Sekretin, gastrin, VIP, serotonin, motilin, pankreatik polipeptid salınımını inhibe eder. Safra kesesi kasılmasını ve safra akışını azaltır(201).

#### **2.3.2.1. Oktreotid Klinik Kullanımı**

Oktreotid akromegalide, gastroenteropatik tümörlerde, karsinoid sendromda, nöroendokrin tümörlerde, kolorektal kanserlerde, pankreatidlerde, ciddi diyareli AIDS hastalarında, diyabetik retinopatide, özefagus varisleri ve gastrik ülser nedeniyle üst gastrointestinal sistem kanamalarında, nöroendokrin ve solid tümörlerin görüntülenmesinde klinik olarak kullanılabilir(200,201).

### 2.3.2.2. Oktreotid Yan Etkileri

Enjeksiyon yerinde ağrı, karın ağrısı, bulantı gibi GİS semptomlar, başağrısı, sersemlik hissi, aritmi, hipotroidi, glukoz toleransında bozulma görülebilir. En önemli yan etki safra kesesi taşı oluşma sıklığındaki artıştır. Safra kesesi taşı yaş, cinsiyet ve dozdan bağımsız olarak gelişir. 1 yıl veya daha uzun tedavi alanlarda %52, 1ay veya daha az tedavi alanlarda %2 den az safra kesesi taşı geliştiği gözlenmiştir(201).

Somatostatin analogları somatostatin LAR ve lanreotid yavaş salınlı formlardır. Endikasyona göre haftada bir veya ayda bir uygulanması yeterlidir(200).

### 2.3.2.3. Oktreotid ve Radikaller

Somatostatin, aktive edilmiş immün hücrelerin fonksiyonlarını ve proinflatuar sitokinleri de bloke eden genel inhibitör etkili bir nörohormondur(199).

OCT'nin son zamanlarda bazı klinik çalışmalarda ve çeşitli deneysel modellerde antioksidan özellikleri de bildirilmiştir(202-204).

Oktreotid ile ilgili yapılan çalışmalar OCT'nin değişik alanlarda kullanımı ile ilgili veriler ortaya sunmaktadır.

Aşırı beslenmeye sekonder oluşan metabolik sendromda oksidatif stresin önemli rol oynadığı bilinmektedir. Somatostatin GİS traktta birçok fizyolojik fonksiyonu inhibe ederek besinlerin sindirimi sırasında oluşan ROS düzeylerini kontrol eder. Bir çalışmada yüksek yağ içerikli diyet (HFD) ile metabolik sendrom progresyonunda somatostatinin ROS üzerine etkisi incelenmiş ve SST'nin besinlerin emilimi ve sindirim sistemindeki metabolizmalarından ortaya çıkan ROS üretimini kontrol edebildiği gözlenmiştir(205).

Günümüz çalışmaları göstermektedir ki somatostatin lenfosit fonksiyonlarını modüle eder, fakat makrofaj fonksiyonları üzerine etkisi net olarak tanımlanmamıştır. Yapılan bir çalışmada erkek ratlardan elde edilen peritoneal makrofajlar oktreotid ve somatostatin ile tedavi edildiğinde bulgular göstermektedir ki somatostatin ve oktreotid

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, NO ve TNF salınımını uygulanan hormon konsantrasyonuna göre module edebilmektedir(206).

Makrofaj ve sitokinlerin aktivasyonu ve ardından reaktif oksijen radikalleri gelişimi çeşitli inflamatuvar hastalıklarda en önemli patojenik olaydır. Serbest oksijen radikalleri ile gelişen lipid peroksidasyonun hücre membranına verilen hasarda önemli rolü olduğuna inanılır. Dokulardaki direkt hasarlandırıcı etkinin ötesinde serbest radikaller dokulardaki lökositlerin birikimi için tetikleyici görevi görür. Doku hasarına aktive nötrofiller aracılığıyla indirek katkısı olur. Aktive nötrofiller myeloperoksidaz, elastaz, proteaz gibi enzimler salgılar ve oksijen radikallerini serbestleştirir. Reaktif oksijen metabolitlerinin kaynağı nötrofiller olduğu düşünülürse ve nötrofillerin sistemik inflamatuvar reaksiyona yanıt olduğu düşünülürse nötrofil aktivasyon ve adheransını inhibe eden ajanların oksidatif doku hasarına karşı koruyucu etkisi olabilir(207).

Somatostatin ve sentetik analogu oktreotidin inhibitör etkisinin yanı sıra Moosmann ve Behl bu peptid hormonun antioksidan özellikleri olduğunu önermektedir. Bu özellikleri ile somatostatin ve analogları oksidatif mekanizmaların önemli rol oynadığı iskemik reperfüzyon organ hasarında çalışılmıştır(207). Şener ve ark.nın yaptığı çalışmada oktreotidin nötrofil infiltrasyonunu inhibe ettiği ve lipid peroksidasyonunu azalttığı, bu şekilde termal travma ilişkili oksidatif intestinal hasara karşı koruyucu rolü olduğu incelenmiştir(207). Bunun ötesinde oktreotidin ayrıca oksidatif organ hasarının geliştiği akut olarak abdominal basıncın arttığı abdominal kompartman sendromunda terapötik etkiye sahip olduğu da gösterilmiştir(207). Mevcut çalışmanın sonuçları ayrıca göstermektedir ki OCT serbest radikal hasarlanma kaskadını durdurmak yada önlemeye yardım eder. Bu şekilde birçok dokunun hücresel bütünlüğünün korumasına yardımcı olur. Dokulardaki kollajen içeriğinden yola çıkarak sepsis ilişkili artmış fibrotik aktivite OCT tedavisi ile azalmıştır. Bu bulgular OCT'nin fibrozis ile sonuçlanan inflamasyon ilişkili ekstraselüler matriks üretimi ve depolanması üzerine ek koruyucu etkisi olduğunu önermektedir(207).

## **2.4. Serbest Oksijen Radikalleri**

### **2.4.1. Oksidatif Stres**

Vücudumuzda oksidan ürünler normal aerobik metabolizmanın bir sonucu olarak sürekli oluşur. Normal fizyolojik şartlar altında oksidan üretimi antioksidan mekanizmalarla dengelenir ve böylece oksidatif hasar önlenir(208,209).

Stres altındaki durumlarda ROS ve antioksidan sistem arasındaki denge ROS lehine bozulur ve sitotoksikite ile sonuçlanır(208,209).

Oksidatif stres lipit peroksidasyonuna, protein oksidasyonuna, DNA mutasyon ve kırıklarına, sitotoksik etkilere ve sinyal iletilerinde bozulmalara yol açarak hücre hasarı meydana getirir (208,209).

### **2.4.2.Serbest Radikaller**

Serbest radikaller, dış orbitallerinde bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron taşır. Bu yüzden diğer biyolojik moleküller ile tepkimeye girme eğilimi yüksek olan atom veya moleküllerdir. Hücre metabolizmasındaki tepkimeler sırasında ortaya çıkar(208-210)

Serbest radikaller reaktif oksijen türleri, reaktif nitrojen türleri (RNT) ve diğer reaktifler olmak üzere üç gruba ayrılır. Vücudumuzda en önemli serbest radikaller oksijenden oluşan radikallerdir (208,209).

Bir molekülün veya bir grubun serbest radikal olduğunu göstermek için sağ önüne bir nokta konur, örneğin (R.) gibi.

### **2.4.3. Reaktif Oksijen Türleri (ROT)**

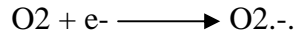
Anaerob organizmalar dışında tüm canlıların enerji sağlamaları için oksijene ihtiyaçları vardır. Adenozin trifosfat oluşum sürecinde, moleküler oksijen şarttır. Moleküler oksijen taşıdığı iki ortaklanmamış elektrondan dolayı diradikal olarak değerlendirilir(211). Hücrede oksijenin %10-15'i oksidan enzimlerin katalize ettiği olaylarda (ksantin oksidaz, siklooksijenaz, lipooksijenaz) kullanılırken %85-90'ı mitokondriyal elektron transportunda kullanılır. Bu süreçte tüketilen oksijenin %0,4-4'u superoksit radikaline dönüşür (208,211).

Solunum zincirinin son ürünü olan su 4 elektronla redüksiyona uğrayarak moleküler oksijen (O<sub>2</sub>) oluşur(212). Biyolojik sistemlerle ilişkili oksijen türevli serbest radikallerin başlıcaları şunlardır; 1. Süperoksit anyonu (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) 2. Peroksil radikali (HO<sub>2</sub>); 3. Hidroksil radikali (OH<sup>-</sup>); 4. NO; 5. Singlet oksijen (1O<sub>2</sub>)

Oksijene bir elektron eklenmesi ile süperoksit anyonu, iki elektron eklenmesi ile hidrojen peroksit, üç elektron eklenmesi ile hidroksil radikali ve dört elektron eklenmesi ile su oluşur (212).

#### **2.4.3.1. Süperoksit Anyon Radikali (O<sub>2</sub><sup>-</sup>)**

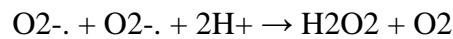
Moleküler oksijenin tek bir elektron alması oksijenin tek değerlikli indirgenmesi ile süperoksit radikali oluşur(213). Bu olay oksijeni kullanan hücrelerin hepsinde gerçekleşir ve kaynağı elektron transport zinciridir (212).



Süperoksit bir serbest radikal olmasına rağmen çok reaktif değildir çünkü lipit mebranların geçirgenlik yeteneğini azaltır ve üretildiği yerde kalır(214).

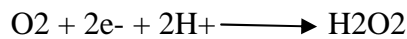
Ancak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynağı olması ve geçiş metallerini indirgeyebilmesi sebebi ile önemlidir.

İki molekül süperoksit proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşür(214).



#### **2.4.3.2. Hidrojen Peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)**

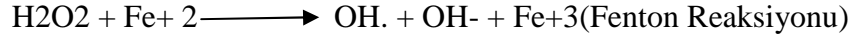
Oksijenin 2 elektronla redüklenmesi veya süperoksit anyonunun bir elektron alması sonucu peroksit molekülü meydana gelir(215). Peroksit molekülü de iki hidrojen atomuyla birleşerek hidrojen peroksiti meydana getirir .



H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bir serbest radikal değildir ancak yapısında su bulundurmasından dolayı biyolojik membranlardan geçebildiği için serbest radikallerin biyokimyasında önemli bir yer tutar. Bunlar geçiş metal iyonlarının bulunduğu ortamda kolaylıkla parçalanıp

oksijen radikallerinin reaktifi olan ve biyolojik sistemlerde daha çok hasar oluşturan OH. oluşturur(215). Proteinleri, tiyol grubu içeren enzimleri, fosfolipidleri, karbohidratları ve DNA'yı hedef alıp fenton reaksiyonu aracılığıyla hasara neden olabilir(216).

Fenton tepkimesinde Fe+2 ile H2O2'in tepkimeye girmesi ile hücre için son derece toksik olan OH. oluşur (217).



H2O2, O2.- ile Haber-Weiss tepkimesi adı verilen tepkimeye girerek hücre için son derece toksik olan OH.'lere parçalanır(217).



#### **2.4.3.3. Hidroksil Radikali (OH.)**

Hidroksil radikali bilinen en toksik radikaldır. Lipitler, proteinler ve nükleik asitler gibi biyolojik molekülleri okside edebilir(216,217). Bu güçlü reaktivitesinden dolayı hidroksil radikali diğer reaktif oksijen türlerine nazaran biyolojik sistemlere çok daha fazla hasar verir .

#### **2.4.3.4. Singlet Oksijen (1O2)**

Singlet oksijen ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan bir reaktif oksijen türüdür.

Serbest radikal reaksiyonları sonucunda meydana gelebilir veya serbest radikal reaksiyonlarına yol açabilir(217).

#### **2.4.4.Serbest Radikallerin Kaynakları**

Organizmada serbest radikal kaynakları başlıca iki grupta toplanabilir.

**Tablo 7-** ROS endojen, ekzojen kaynakları(210,212,213,215,217)

<b>Endojen Kaynaklar</b>	<b>Egzojen Kaynaklar</b>
Yaşlanma	İyonize ve non iyonize radyasyon
Nükleus membran,endoplazmik retikulum ve mitokondriumda bulunan elektron transport sistemleri ve Peroksizomlarda var olan enzimler	Metal iyonları
İskemi, travma gibi durumların sonucu oluşan oksidatif stres	Ksenobiyotikler: hiperoksi, hava kirliliği, anestezi maddeler, pestisitler, solventler, aromatik hidrokarbonlar ve sigara dumanı
Ksantin oksidaz,adenozin deaminaz gibi enzimler	Bağımlılık yapan maddeler: alkol, uyuşturucu maddeler
Katekolaminler, tioller gibi küçük moleküllerin otooksidasyonu	Stres; stres durumunda vücutta katekolamin düzeyi artar ve artan katekolamin oksidasyonu ile radikal üretimi de artar
Geçiş metallere afinitesi olan antibiyotikler	Yiyeceklerde bulunan katkı maddeleri
Makrofaj ve diğer fagositik hücrelerin aktivasyonu ile meydana gelen solunumsal tepkime	Egzersiz
NADPH oksidaz, lipooksijenaz, prostaglandin sentetaz içeren plazma membranı enzimleri ve lipid peroksidasyonu	Antineoplastik ilaçlar

#### **2.4.5. Serbest Radikallerin Yol Açtığı Hasarlar**

Serbest radikaller, üretimindeki artış ve antioksidan sistemdeki yetersizliğe bağlı olarak membran lipidleri, proteinler, karbonhidratlar ve DNA'ya önemli zararlar

verirler. Hücrenin cinsine, maruz kalınan strese ve şiddetine bağlı olarak hücrelerde toksik, mutajenik veya karsinojenik etki yaratırlar(210,214).

#### **2.4.5.1. Lipitler Üzerine Etkileri**

Hücre membranındaki yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyona neden olurlar(210).

Radikallerin reaksiyonu sonucu, lipit peroksitler, lipit alkoller ve aldehit yapısında yan ürünler oluşur. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu, malondialdehit meydana gelir(210).

Malondialdehit, membran komponentlerinin çapraz bağlanmasına yol açar. Bu durum, membran iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitelerinin değişmesine membran akışkanlığında bozulma ve permeabilite değişiklikleri meydana gelir(210).

Küçük bir molekül olan malondialdehit, kolay difüze olabildiği için DNA bazları ile rahatlıkla reaksiyona girer. Bu olumsuz etkiler, malondialdehite mutajenik genotoksik ve kanserojenik bir özellik verir(210).

Dokuda MDA seviyesinin artması o dokuda ROS'un arttığını gösterir(215).

#### **2.4.5.2. Proteinler Üzerine Etkileri**

Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi daha yüksek olduğundan triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin ve sistein gibi aminoasitleri içeren proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenmektedirler (210).

ROS, hücrede fonksiyonel önemi olan enzimlerde bozulmalar ortaya çıkartır(218).

### **2.4.5.3. Karbonhidratlar Üzerine Etkileri**

ROS, monosakkaritlerde otooksidasyon ile hidrojen peroksit, peroksit ve okzoaldehid yapısında ürünler meydana getirir.

Okzoaldehidler, DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağ oluşturabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Bu da kanser ve yaşlanma gibi olaylarda etkili olduklarını düşündürmektedir (219).

### **2.4.5.4. DNA Üzerine Etkileri**

DNA molekülü serbest radikaller için önemli bir hedeftir ve kolaylıkla hasara uğratılır(220). Serbest oksijen radikalleri, nükleer ve mitokondrial DNA'da timin ile reaksiyona girerek tek zincir kırılmaları oluşturur. DNA molekülü hasarı sonucu kronik inflamasyon, enfeksiyon, yaşlanma, karsinogenezis, nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıklar gibi çeşitli patolojiler görülür(221).

### **2.4.6. Antioksidan Savunma Sistemleri**

Hücrelerde oksidatif hasarın engellenmesi için antioksidan savunma sistemleri vardır. Bu sayede serbest radikallerden ve lipit peroksidasyonundan korunma sağlanır (208,217).

Oksidatif strese karşı vücudumuz ya ROS üretimini engelleyerek ya ROS düzeyini azaltarak ya da ROS tarafından hasarlanan proteinleri onararak veya elimine ederek karşı koymaya çalışır(208). Antioksidan savunma sistemleri:

1)ROS'u daha az toksik ürünlere dönüştüren detoksifiye edici enzim sistemleri (Enzimatik antioksidanlar)

Katalaz

Superoksid Dismutaz

Glutatyon redoks siklus enzimleri [glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon reduktaz, glukoz 6 fosfat dehidrogenaz]

2) Radikalleri yakalayıp nötralize eden antioksidanlar (Nonenzimatik antioksidanlar)

Endojen

- Bilirubin
- Tioller [lipoik asid, N-asetil sistein, indirgenmiş glutatyon (GSH)]
- NADPH, NADH
- Ubiquinon(koenzimQ10)
- Urik asit

Diyetle alınan

- $\alpha$  Tokoferol (E vit)
- Askorbik asit (C vit)
- $\beta$  karoten (provit A)
- Diğer karotenoid ve oksikarotenoidler(likopen, lutein)
- Polifenoller

3) ROS oluşumunu önleyen ve oluşanın yayılmasını engelleyen sistemler (metal bağlayan proteinler: ferritin, laktoferrin, seruloplazmin) (mitokondriyal sitokrom oksidaz)

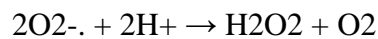
Antioksidanlar hidrofilik ve lipofilik özellikler gösterir. Hidrofilik özellikteki antioksidanlar sitozol ve ekstrasellüler sıvılarda, lipofilik özelliktekiler ise membranda ve lipoproteinlerde yer alırlar(222).

Antioksidanlar enzimatik ve nonenzimatik olarak sınıflandırılırlar.

#### **2.4.6.1. Enzimatik Antioksidanlar**

##### **Süperoksit Dismutaz (Süperoksit: süperoksit oksidoredüktaz) (SOD)**

Süperoksit radikallerinin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler(208,217).



Reaksiyon sonucunda membrandan geçemeyen süperoksit radikali membrandan geçebilen hidrojen peroksit'e dönüşmektedir. Hidrojen peroksit, geçiş metalleri varlığında Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları ile reaktif olan hidroksil radikaline dönüşmektedir.

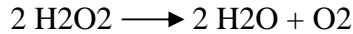
Bu nedenle SOD aktivitesindeki artışın oluşturabileceği H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> birikmesi ancak CAT ve GSH-Px enzimlerinin artan aktiviteleri ile kontrol edilebilir(217).

Süperoksit dismutazlar, merkezlerinde bulunan geçiş metallerine göre, Cu/Zn-SOD, Mn-SOD olarak görev yaparlar(208,217).

### **Katalaz (hidrojen-peroksit: hidrojen-peroksit oksidoredüktaz) (CAT)**

Esas olarak peroksizom denen hücre organellerinde bulunur(208). Dokularda enzimin aktivitesi büyük farklılık gösterir. Karaciğer ve böbrekte en yüksek düzeyde aktivite gösterir(215).

SOD aracılığıyla oluşan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bir radikal olmamasına rağmen, Cu ve Fe iyonlarının katalizörlüğünde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> den en reaktif oksijen türü olan hidroksil radikalini oluşturduğu için önemlidir(217).



Katalaz ortamdaki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>yi okside edici enzimlerin etkisiyle direkt olarak suya dönüştürür(217). CAT enzim aktivitesi, ortamda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonunun çok arttığı durumlarda belirgin artar. Ortamdaki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonu düşük ise hidrojen peroksiti substrat olarak kullanan diğer antioksidan enzimler (GSH-Px gibi) devreye girer ve hidrojen peroksiti ortamdaki uzaklaştırırlar(223).

CAT ve GSH-Px enzimlerinin benzer etkisi olduğu halde hücre içindeki yerleşim ve etki yerleri bakımından farklılık vardır. GSH-Px enzimi başlıca sitozol ve mitokondride bulunurken, CAT enzimi peroksizomlarda mevcuttur(208,212).

## Glutasyon Peroksidaz (glutasyon:hidrojen peroksit oksidoredüktaz) (GSH-Px)

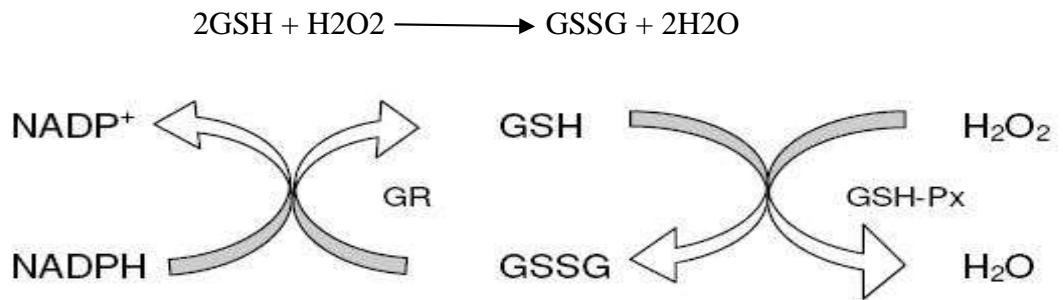
Glutasyon peroksidaz, elektron kaynağı olarak glutasyonu kullanarak hidrojen peroksit ve organik hiperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu bir enzimdir. Mitokondri, sitozol ve hücre membranlarında bulunur(212).

Enzimin iki tipi tanımlanmıştır. Bunlardan biri aktif bölgesinde selenosistein formunda selenyum içeren selenyuma bağımlı GSH-Px(Se-GSH-Px), organik hidroperoksitler ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'e karşı aktiftir.

Diğeri GST olarak adlandırılan, selenyuma bağımlı olmayan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye karşı ihmal edilebilir bir aktivite gösteren, daha çok organik hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu olan tiptir(224,225).

İn vitro ortamda GSH'ı GSSG'ye çevrilir. Bu tepkimede H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi yüksek özgülük ile katalizleyerek detoksifiye eder (şekil-4). Tepkimede GSH, GSSG haline dönüşürken glutasyon peroksidaz enzimi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi suya indirger. GSSG ise glutasyon redüktaz (GR) enziminin katalizlediği tepkimeyle NADPH harcanarak tekrar redükte hale çevrilir(226).

Tepkime aşağıda verilmiştir:



**Şekil 4:** Glutasyonun okside ve redükte formları arasında dönüşümü (GSH=Redükte glutasyon, GSSG=Okside glutasyon, GSH-Px=Glutasyon peroksidaz, GR=Glutasyon redüktaz, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>=Hidrojen peroksit).

Selenyuma bağımlı olmayan GSH-Px'ler glutasyon ile konjugasyon reaksiyonlarında glutasyon transferaz olarak aktivite gösterirler (227).

#### **Glutasyon redüktaz (glutasyon:NADP+ oksidoredüktaz) (GSH-Rd)**

Hidrojen peroksitin detoksifikasyonu reaksiyonunda okside formuna dönüşen glutasyonun tekrar kullanılabilmesi için redükte GSH'a dönüştürülmesi gerekmektedir. Glutasyon redüktaz NADPH varlığında glutasyon disülfiti tekrar redükte glutasyona (GSH) çevirir (226).

#### **2.4.6.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar**

##### **Glutasyon (GSH)**

Glutamik asit, sistein ve glisinden KC'de sentezlenen tripeptiddir. Hücrede en fazla sitozol, mitokondri ve nükleusta bulunur. Hücre içi glutasyonun büyük bir kısmı indirgenmiş (tiyol), daha az bir kısmı da okside glutasyon (GSSG) formundadır (208,212).

GSH'a antioksidan özelliğini tiyol grubu sağlar. Glutasyon hidroksil ve singlet oksijen gibi reaktif oksijen türlerini temizler. Ayrıca diğer serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreyi oksidatif hasarlara karşı korurlar (217).

Redükte glutasyon (GSH) /okside glutasyon (GSSG) oranı, oksidatif durumlarda azalmaktadır. Serbest radikaller ve peroksitlerle tepkimeye giren glutasyon; hücreleri oksidatif hasara karşı korur(226).

##### **Vitamin E (Tokoferol)**

Biyolojik membranların komponenti olan tokoferoller antioksidan olarak görev yaparlar ve membranları stabilize ederler(228).

$\alpha$ -Tokoferol, süperoksit, hidroksil, singlet oksijen, lipid peroksil radikalleri ve diğer bazı serbest radikallerin temizlenmesinde rol oynar (229). GSH-Px ve  $\alpha$ -tokoferol birbirlerini tamamlayıcı antioksidan etki gösterirler.

$\alpha$ -Tokoferol peroksitlerin oluşumunu engellerken, GSH-Px oluşmuş peroksitleri temizler (230).

**Tablo 8 - Enzimatik olmayan antioksidanlar (231-234)**

GSH	OH-, 1O <sub>2</sub> - temizler.
Vit.E	O <sub>2</sub> -, OH-, 1O <sub>2</sub> -, LOOH radikallerini temizler.
Vit.C (Askorbik asit)	O <sub>2</sub> -,OH- temizler. Oksidan etkisi de var. Ferri demiri ferro demire indirger ve fenton reaksiyonunda H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ile etkileşmeye uygun olan ferro demir oluşur. Reaksiyon sonunda süperoksit radikali oluşturduğu için prooksidan olarak değerlendirilir
Vit.A	$\beta$ -karoten güçlü bir singlet oksijen temizleyicisidir. Lipit peroksidasyon zincir reaksiyonunun önlenmesinde rol alır. $\beta$ -Karoten düşük oksijen seviyelerinde etkili olduğundan daha yüksek oksijen seviyelerinde etkili olan vitamin E nin antioksidan etkisinin tamamlayıcısıdır.
Melatonin	Lipofilik(DNAYı korur), OH- güçlü toplayıcısı, prooksidan değil.
Bilirubin	O <sub>2</sub> -,OH- toplar.
Albumin	LOOH, HOCl toplayıcısıdır.
Ürik Asit	Hidrofilik. O <sub>2</sub> -, OH-, peroksil temizler.

### 3. AMAÇ

NS, tedavi edilmediğinde veya tedaviye yanıtız kaldığında son dönem böbrek yetmezliğine kadar ilerleyebilen bir hastalıktır. Tedavide bir çok ajan denenmekle birlikte hala SDBY'e ilerleyen hasta sayısı azımsanamayacak kadar çoktur. Bu sebeple tedavide yeni ajanlarla ilgili çalışmalar devam etmektedir.

Tedavide doğru ajanı bulabilmek için öncelikle hastalığın patogenezini anlamak önemlidir. NS patogenezi halen tam aydınlatılmamış bir süreçtir.

Son zamanlarda NS'un ROS ve antioksidan defans mekanizmaları arası dengesizliğin sonucu olduğu (12,13), ROS'un proteinüri etyopatogenezinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (14). Oksidatif stres bir çok dokuda kalıcı hasarlanma oluşturduğu gibi böbrek dokusunu da etkilemektedir. Reaktif oksijen metabolitleri artmış glomerüller kapiller duvar geçirgenliğine sebep olur(15). Patogenezin aydınlatılması için birçok deneysel model denenmektedir.

Adriamisin ilişkili NS modelinde, adriamisin glomerüllerde oksidatif hasarı uyarır ve minimal change/FSGS benzeri hasar oluşturur(30).

Oktreotid, bir somatostatin analogu olup, tüm büyüme faktörlerini inhibe etmektedir. Ayrıca yapılan bazı çalışmalarda serbest radikaller üzerine etkisi olduğu da gösterilmiştir.

Biz de buradan yola çıkarak OCT'nin NS etyopatogenezinde rol aldığı bildirilen ROS üzerine etkisini araştırmayı planladık.

## 4.GEREÇ ve YÖNTEM

### 4.1 Deneysel çalışma

Çalışma öncesinde Ege Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan onay alındı (26/02/2010 tarih, 2010-13 sayılı etik kurul kararı). Çalışma non-üremik wistar albino erkek sıçanlar kullanılmıştır. Çalışma 21 günlük süre sonunda sonlandırıldı. Kan, idrar örnekleri ile sıçanların böbrekleri çalışma protokolüne uygun şekilde alınarak sıçanlar sakrifiye edildi.

### 4.2 Deney Hayvanları

Çalışmaya 24 adet non-üremik Wistar albino türü sağlıklı erkek sıçan alındı. Sıçanlar rastgele 3 eşit gruba ayrıldı. Sıçanların bakımı literatürdeki diğer çalışmalarda olduğu gibi standard sıçan yemi ile beslenme, normal musluk suyu ve 12 saatlik aydınlık karanlık periyodunda tutma şeklinde yapıldı(189,190).

**Grup1 Kontrol grubu(n:8):** Bu gruptaki sıçanlara çalışmanın başlangıcında iv 2 cc serum fizyolojik (%0.9 NaCl) verildi.

**Grup2 NS grubu(n:8):** Bu gruptaki sıçanlara deneysel NS oluşturmak için çalışmanın başlangıcında 5mg/kg tek doz adriamisin kuyruk veninden intravenöz olarak enjekte edildi.

**Grup3 NS Tedavi grubu(n:8):** Bu gruptaki sıçanlara deneysel NS oluşturmak için çalışmanın başlangıcında 5mg/kg tek doz adriamisin kuyruk veni kullanılarak intravenöz olarak enjekte edildi. Tedavi amacıyla da Oktreotid 200 mcg/kg intramusküler olarak uygulandı.

### 4.3 Yöntem

Çalışmaya erkek cinsiyette 24 adet sıçan dahil edildi. Sıçanlar rastgele 3 gruba ayrıldı. Gruplar 8'er sıçandan oluşturuldu. Sıçanların ağırlıkları tartılıp standard numaralandırma sistemine göre her grup kendi içerisinde 1'den 8'e kadar numaralandırıldı.

Adriamisin (Doxorubicin®) dozu literatur bilgileri ışığında 5mg/kg/gün olarak belirlendi. İntravenöz girişim için sıçanların kuyruk veni kullanıldı. Adriamisin hidroklorür steril distile su ile sulandırılarak kullanıldı. Tedavi grubuna okreotidin uzun salımlı mikrosferik depo formu (Sandostatin LAR®) 200 mcg/kg i.m dozunda uygulandı.

Adriamisin ile oluşturulan NS'da proteinürinin 21.günde maksimuma ulaştığı bildirildiğinden çalışma süresi 21 gün olarak planlandı . Hayvanlar, 22-23oC ısıda 12 saat gece/12 saat gündüz siklusunun ayarlandığı laboratuvar ortamında üstü demir ızgara ile örtülü, zemini talaşla kaplı, orta boy plastik kafeslerde barındırıldılar ve miktarı sınırlanmaksızın standard sıçan yemi ve musluk suyu ile beslendiler. Kontrol grubuna (grup 1) tedavi verilmedi. NS grubuna (grup2) deney başlangıcında 5mg/kg tek doz kuyruk veninden iv adriamisin verildi. Tedavi grubuna (grup3) deney başlangıcında adriamisin yanı sıra 200mcg/kg dozda im octreotid verildi.

Tüm sıçanlar deneyi sonlandırmadan 24 saat önce metabolik kafese alınarak 24 saatlik idrar örnekleri toplandı.

21.günde İntraperitoneal 40mg/kg ketamin anestezisi altında, intrakardiyak 5ml kan alındı. Daha sonra sıçanların batını açılarak böbrekler çıkarıldı. Böbreklerin zarı soyulduktan sonra böbreklerin biri %10'luk formaldehit ile tespit edilerek parafinize edildi, histolojik değerlendirme için patoloji laboratuvarına, diğeri böbrek homojezatında doku enzim düzeyleri çalışılmak üzere biyokimya laboratuvarına götürüldü.

Aynı gün kan örnekleri 5000/dk devirde 5 dakika santrifüj edilerek serum ayrıldı. Kan örneklerinde oto-analizör kullanarak kan örneklerinde kreatinin, protein, kolesterol, trigliserid, 24 saatlik idrar örneklerinde protein düzeyleri ölçüldü. Serum kreatinin, trigliserid, kolesterol ve total protein seviyeleri spektrofotometrik yöntemle, ticari kitler

ile ölçüldü (Biolabo Reagents, Maizy France). İdrar total protein seviyeleri Lowry metodu ile ölçüldü.

Lipid peroksidasyon ürünleri ve antioksidan enzim düzeyleri böbrek dokusundan ve plazmadan çalışıldı. Eritrosit içi ve doku katalaz, tiobarbitürik asit reaktif substans (TBARS) düzeyleri bakıldı.

### **Eritrosit içi enzim çalışma yöntemi**

Hemolizat hazırlanması: Plazma ayrıldıktan sonra eritrositler 2 kere 9g/l NaCl solüsyonu ile yıkandı ve soğuk-buzlu su uygulanarak hemolize edildi(1/5, v/v). CAT aktivitesi hemolizattan hemen çalışıldı. TBARS düzeyleri hemolizat fizyolojik salinle dilüe edildikten sonra çalışıldı. Dilüsyondan sonra üzerine TBA eklenerek 95 derecede 30 dakika kaynatıldı.

### **Doku homojenizasyonu**

Dokular tartıldıktan sonra buz üzerinde fosfat tampon ile (1/10: w/v) homojenize edildi. 2000 devirde 10 dakika santrifüj edildikten sonra analizler yapıldı

### **MDA ölçümü**

Homojenat üzerine TBA eklendi 100°C'de 20 dk kaynatılarak 2000 rpm 10 dakika santrifüjlendikten sonra süpernatantta 532 nm dalga boyunda kolorimetrik ölçüm yapıldı. 1,1,4,4 ile hazırlanan standart grafikten nmol/mL MDA hesaplandı, sonuçlar nmol/g Hb olarak verildi..

### ***TBARS ölçümünde kullanılan madde ve reaktifler***

TBA	Sigma
%37 HCl	Carlo Erba
Triklorasetik asit %100	Carlo Erba
Standard (1.1.1.3 tetraetoksipropan)	Sigma

## **Katalaz ölçümü**

Homojenatlar fosfat tampon ile 1/10 seyreltilerek hidrojen peroksidin katalaz tarafından parçalanması temeline dayalı UV spektrofotometrik yöntem ile düzeyleri tayin edildi (126). Taze hazırlanan 30 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren fosfat tampon çözeltisi üzerine örnek eklenerek 240 nm Dalga boyunda absorbansın azalması 15 saniye ara ile 2 dakika boyunca okundu ve lineer regresyonlara göre her bir analiz için en uygun absorbanslar bulunarak, k değeri ve enzim miktarı hesaplandı.

Sonuçları standardize etmek için; veriler U/gr Hb enzim aktivitesi olarak verildi.

### ***Katalaz aktivitesini ölçmede kullanılan madde ve reaktifler***

Hidrojen peroksit (%30)

Carlo Erba

Fosfat tampon 50mM (pH:7)

Hazırlanan parafin doku bloklarından 3-4 mikron kalınlığında kesitler yapıldı. Yapılan kesitler deparafinize edildikten sonra Hematoksilen + Eozin (H+E) boyama yöntemi ile boyanıp ışık mikroskopunda aynı patolog tarafından kör olarak değerlendirildi. Glomeruler skleroz, tubuler nekroz ve intersitisyel inflamasyon skorlandı.

## **Histolojik skor belirleme:**

Histolojik skora glomerüler skleroz, tübüler nekroz ve interstitiyel inflamasyon değerlendirilerek yapıldı.

### **Glomerüller**

1. Olağan
2. Glomerüler yapışıklık kuşkusu skleroz net belirlenemedi. Bowman mesafesi dar ve yumak kapsüle değişiyor

3. %5'ten az segmental skleroz ve/veya Bowman kapsülüne yapışıklık – Glomerüllerin %5'inden az ve glomerülün sadece %10'undan azını etkiliyor.
4. %10'dan fazla glomerüler yapışıklık
5. %25'ten fazla glomerüler skleroz ve yapışıklık

#### İnterstisyum

1. Olağan
2. Kortikal alanda bir mikroskobik sahada yangısal infiltrasyon
3. Kortikal alanda daha belirgin yangısla infiltrasyon fokal %10'u geçmez
4. %10-25 yangısal infiltrasyon
5. %25'ten fazla yangısal infiltrasyon

#### Tübüller

1. Olağan
2. Tübüler vakuoler değişiklikler
3. Tübüller rejeneratif özellikler- tübüler hiperkromazi ve kromatin paterninde değişiklik
4. Tübüler dejenerasyon rejenerasyon yanısıra tübüler silendirler birlikte
5. Yaygın tübüler nekroz

#### **4.4 İstatiksel Analiz**

Grupların ortalama ve standard sapma değerleri hesaplanarak tablo halinde verildi. İstatistiki değerlendirmede nonparametrik testler (Kruskall Wallis, Man Witney U testi) kullanıldı.  $P < 0.05$  anlamlı kabul edildi.

## 5. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen sıçanların özellikleri, NS oluşturulması ve NS tedavi edilmesi amacıyla kullanılan ilaçlar, çalışma bitiminde alınan kan ve idrar örneklerinde çalışılan biyokimyasal parametreler, böbreklerden elde edilen doku örneklerinde çalışılan enzimatik parametreler ve böbreklerin histolojik skorları tablolar halinde verilmiştir.

İdrar protein atılımı NS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek, tedavi grubunda NS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı daha düşük bulunmuştur. Serum total protein seviyelerine bakıldığında NS grubunun kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuş, NS+OCT grubunda ise NS grubuna kıyasla anlamlı olarak daha yüksek değerler bulunmuştur. Plazma kreatinin değerleri açısından, NS grubunda ve tedavi grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı bir fark yoktur. Kreatinin düzeyleri her 3 grupta da benzerdir. NS grubunda serum trigliserid değeri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmakla birlikte trigliserid değerleri açısından NS+OCT ile NS arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir. Serum total kolesterol değerleri arasında ise gruplar arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir (Tablo 9).

Eritrosit içi katalaz ve TBARs değerlerinde 3 grup için de anlamlı bir farklılık yoktur. Böbrek dokusunda TBARs, NS grubunda kontrol grubuna göre artmış, tedavi grubunda NS grubuna göre azalmıştır. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (Grafik 6). Böbrek dokusu katalaz düzeyi NS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak azalmış, tedavi grubunda NS grubuna göre istatistiksel anlamlı artış saptandı. Böbreğin histolojik olarak değerlendirilmesinde tubul ve interstisyel yapılarda 3 grup arasında anlamlı fark saptanmadı. Glomerüler patoloji skoru, NS grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmış, tedavi grubunda NS grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır (Tablo 9).

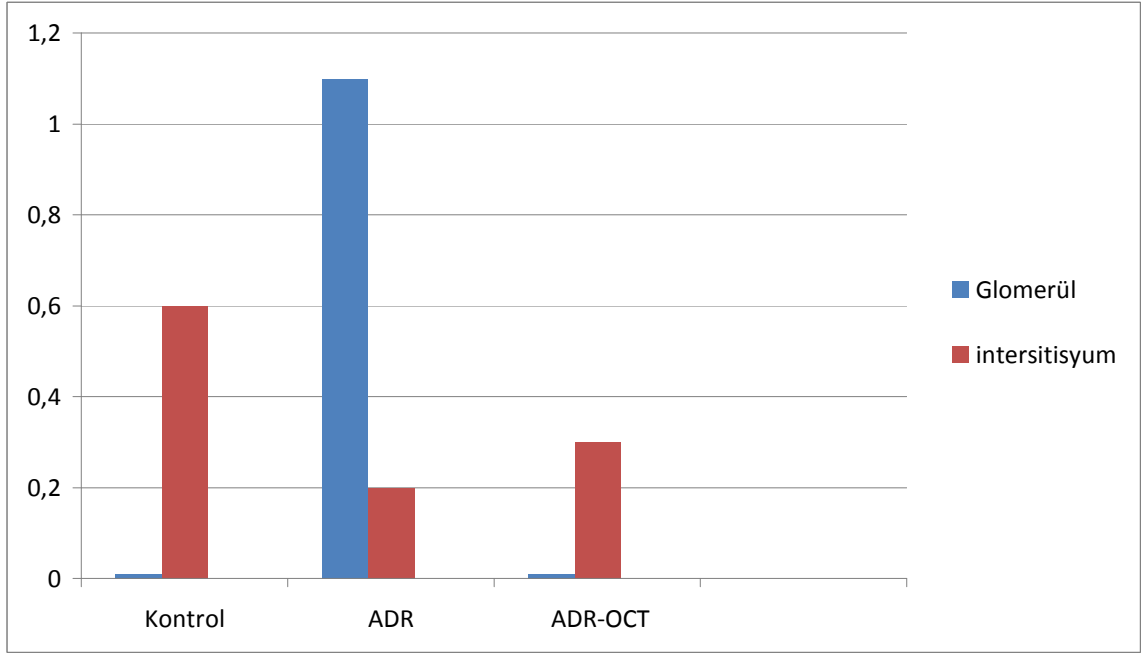
**Tablo 9- Bulgular**

		Kontrol Grubu. (n=8)	Nefrotik Sendrom (ADR) Grubu. (n=8)	Nefrotik Sendrom Tedavi grubu. (ADR+OCT) (n=8)
	Ağırlık (gr)	217±17	235±12	209±9
İdrar	Volüm (cc)	3.8±0.3	8.5±1 a	6±1
	Proteinüri (mg/dl/gün)	12.7±0.4	227±60 a	52±20 b
Plazma	Kreatinin (mg/dl)	0.6±0.06	0.4±0.07 a	0.4±0.04 a
	Total Protein (g/dl)	5.8±0.02	3.7±0.6a	5.9±0.05b
	Kolesterol(mg/dl)	188±5	248±19	222±28
	Trigliserid(mg/dl)	91±5	138±13a	135±24
Eritrosit	Katalaz (U/gHb)	2464±500	2547±660	1442±556
	TBARs (nmol/gHb)	116±14	95±6.3	105±8
Böbrek Dokusu	Katalaz (U/mL)	53±2	35±4.3 a	50±2.47 b
	TBARs (mmol/mg)	0.35±0.03	0.38±0.02	0.36±0.01
Böbrek Histolojisi	Glomeruler	0±0	1.1±0.35a	0±0b
	İnterstisyum	0.6±0.4	0.2±0.2	0.3±0.2
	Tubuler	0.34±0.3	0.50±0.27	1.3±0.4

a: grup ve kontrol karşılaştırıldığında,

b: Nefrotik sendrom tedavi grubu ve Nefrotik sendrom grubu karşılaştırıldığında (p<0.05)

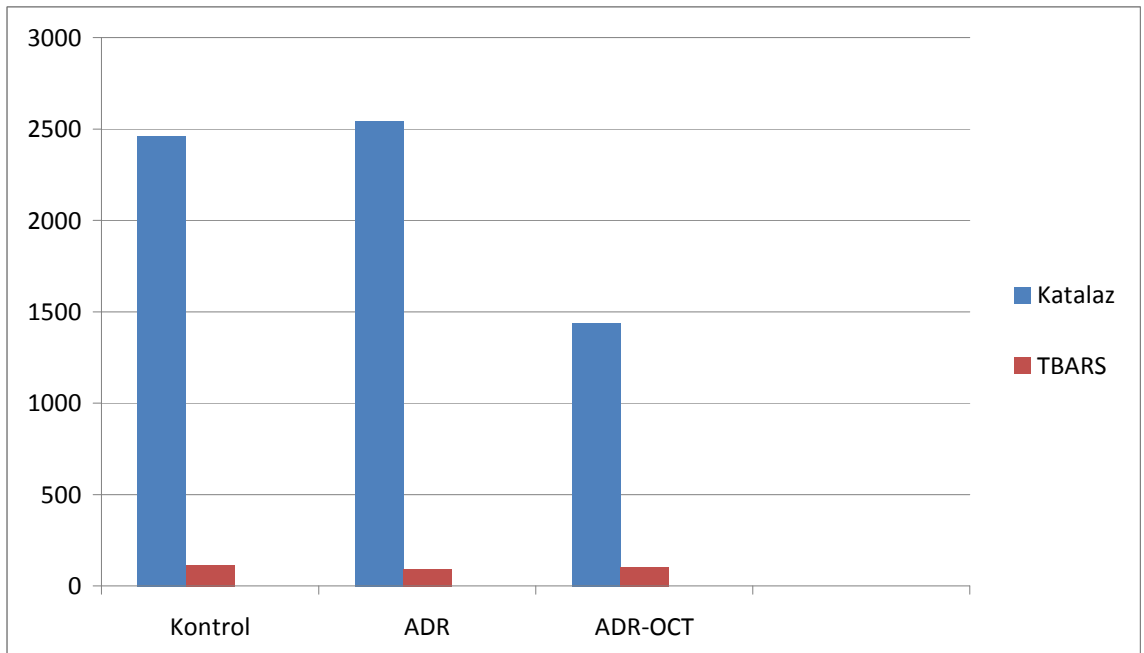
**Grafik4-OCT'nin böbrek histolojisi üzerine etkisi**



İnterisitisyum için  $p>0.05$

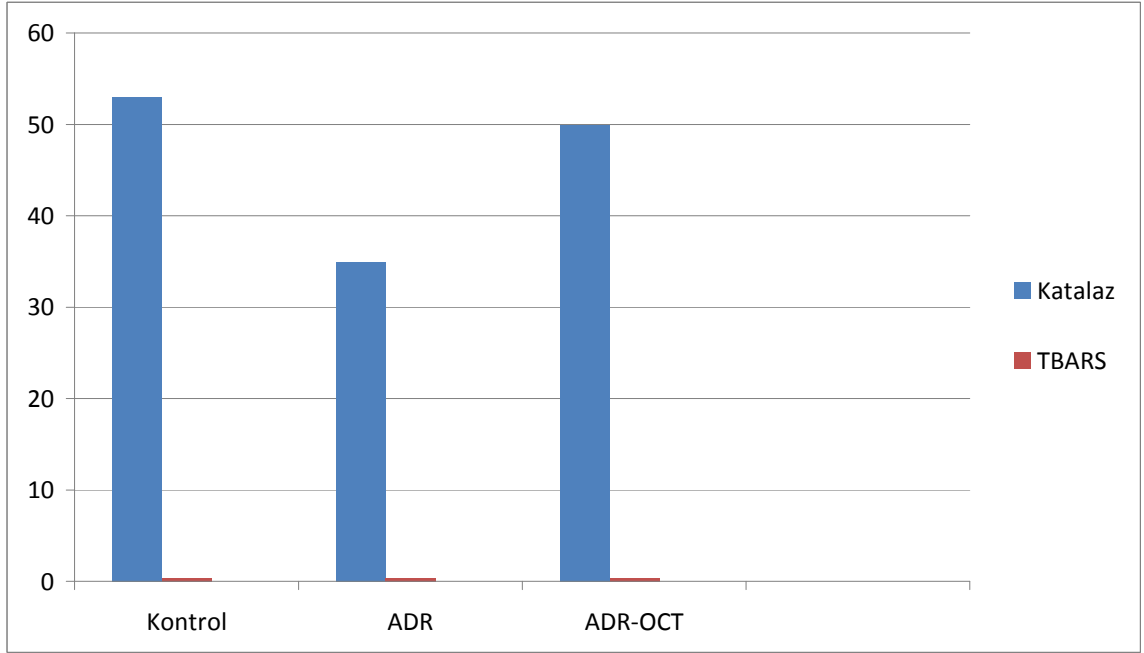
Glomerul için:  $p<0.05$

**Grafik5- Eritrosit içi katalaz ve TBARS değişimi**



( $p>0.05$ )

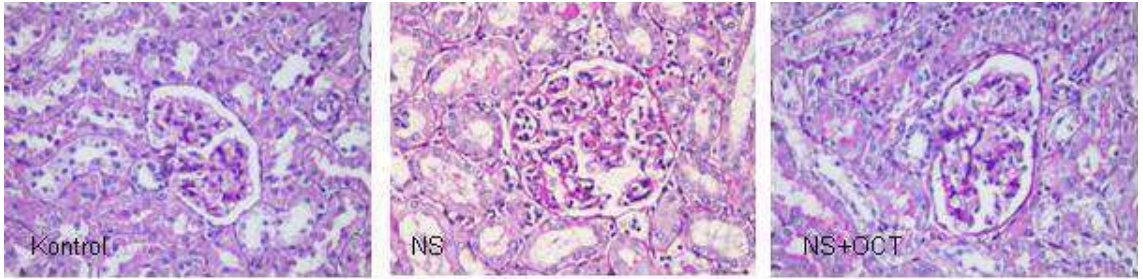
### Grafik6-Böbrek dokusunda katalaz TBARS değişimi



TBARS değişimi  $p>0.05$

Katalaz değişimi ( $p<0.05$ )

Aşağıdaki şekilde kontrol, NS ve NS+OCT gruplarına ait histopatolojik değerlendirmeye birer örnek izlenmektedir.



**Şekil-5** Kontrol, NS ve NS+OCT gruplarında patolojik değerlendirme. Kontrol grubuna ait preparatta normal histoloji gözlenmektedir. NS grubuna ait preparatta Bowman kapsülünde yapışıklık, sklerozlar ve eşlik eden proliferasyon gözlenmektedir. NS+OCT ye ait preparatta ise Bowman mesafesi daralmış olarak izlenmekte, skleroz ve proliferasyon izlenmemektedir.

## 6.TARTIŞMA

NS proteinüri, hiperlipidemi ve ödemle karakterize bir tablodur. MLH dışındaki sebeplerle oluşan NS'da hastaların çoğunda steroid tedavisine başlangıçta veya daha sonra direnç geliştiği bilinmektedir(1).

Steroide dirençli olguların tedavisinde birçok immüsupresif ajan denenmesine rağmen proteinürisi devam eden hasta sayısı göz ardı edilemeyecek kadar çoktur(1). Proteinüri KBY progresyonunda önemli bir risk faktörüdür. Bu sebeple NS ve proteinürinin patogenezinin aydınlatılması ve yeni tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi son derece önemlidir. Bu amaç doğrultusunda deneysel NS modelleri geliştirilmekte ve bu konudaki çalışmalar devam etmektedir.

Bu çalışmada deneysel NS modeli için Wistar albino erkek sıçanlara ADR 5mg/kg dozunda kuyruk veninden iv uygulandı. Literatürde ADR kullanılarak oluşturulan NS modelinde farklı dozlar tanımlanmıştır, biz bu çalışmada 5mg/kg dozu iv tek enjeksiyon uyguladıktan 3.hafta sonra NS tablosu geliştiğini gösterdik.

Nefrotik sendrom grubunda kontrol grubuna kıyasla 24 saatlik idrar değerlendirmesinde giderek artan derecede proteinüri izlenmesi, serum total proteininin düşük ve histolojik değerlendirmede glomeruler skleroz skorlamasının yüksek olması bize deneysel nefrotik sendrom modelinin başarı ile oluşturulduğunu göstermektedir.

NS glomeruloskleroz, fibrozis ve böbrek yetmezliği ile sonuçlanabilen bir süreç olduğu için tedavisi SDBY'ni ilerlemeyi engellemek için önem teşkil etmektedir. Tedaviyi yönetebilmek için patogenezin aydınlatılması gerekir.

NS patogenezi tam olarak bilinmemektedir. Yapılan çalışmalarda ROS 'un proteinüri etyopatogenezinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir.

NS'da ROS ve antioksidan sistem arasındaki bu dengesizliğe yol açan mekanizmanın nötrofillerden kaynaklanan oksidatif tepkime ile ilgili olduğu yönünde çalışmalar vardır.

Polimorfonükleer lökositlerin aktive olması yoluyla ortaya çıkan NADPH oksidaz, SOD, nitrik oksit sentaz ve miyeloperoksidaz gibi enzimler, O<sub>2</sub>·-, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, NO ve hipoklorik asit (HOCl) gibi reaktif ürünleri tepkimesi ile oluşur (235,236).

Bertelli ve ark.nın yaptığı çalışmada NS'lu 38 çocukta kandaki CD15 pozitif PMN'lerde 5-6-carboksi-2',7'-dikloroflurosün diasetat (DCF-DA) florasan assey yöntemi kullanılarak oksidatif tepkime belirlenmiştir. Bu çalışmada PMN ve diğer kan hücreleri arası dengesizlik sebebi ile ROS üretiminin NS'da arttığı gösterilmiştir. Bu çalışmadaki gözlemler PMN kaynaklı oksidanların NS'da rolü olduğunu desteklemektedir(26).

Tanaka ve ark. 19 SSNS (7'si proteinürlü,12'si remisyonda) ve 13 sağlıklı kontrol grubunda monositlerden H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> salınım kapasitesini değerlendirmiştir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> salınımının proteinürlü hastalarda remisyondaki hastalar ve sağlıklı gruba göre belirgin yüksek olduğu saptanmıştır. Bulunan veriler önermektedir ki, proteinürlü SSNS hastalarında monositler aktive olur ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> salınımına sebep olur(237).

Bizim çalışmamızda NS grubu kontrol grubu ve tedavi grubu karşılaştırıldığında eritrosit içinde ölçülen TBARS ve CAT değerlerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Her üç grupta da eritrosit içi TBARS ve CAT değerleri benzerdi. Kamireddy ve ark.nın pediatrik NS'lu çocuklarda oksidatif stresi değerlendirdikleri çalışmada relaps remiyon ve kontrol grupları arasında eritrosit MDA düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık görülmemiştir(238). Bu bulgu ADR uygulaması ile oluşan NS'un sistemik bir oksidatif tepkimeden ziyade izole böbreklerdeki bir patoloji ile ilişkili olabileceği şeklinde yorumlanabilir. Çünkü çalışmamızda her ne kadar Bertelli gibi PMN kaynaklı oksidanları ölçmemiş olsak da olayın sistemik bir oksidatif tepkime olması durumunda bütün hücrelerin bundan etkileneceğini düşünmekteyiz. Bu bağlamda sistemik bir oksidatif tepkimede eritrositlerde ölçtüğümüz TBARS'ın da artmış olmasını beklerdik. Kontrol ve NS grubunda bulduğumuz benzer TBARS değerleri bizi bu hipotezden uzaklaştırmaktadır.

Çalışmamızda böbrek dokusundaki incelemelerde NS grubunda kontrol grubuna göre TBARS artmış, CAT istatistiksel anlamlı olarak azalmış olarak bulunmuştur. Yapılan bazı çalışmalarda glomerüllerden izole edilen makrofajların periferik kandaki

monositlere göre daha fazla radikal ürettiği gözlemlenmiştir(133). Bu bağlamda NS'da bozulmuş ROS-antioksidan sistem arası denge sistemik bir oksidatif tepkimeden ziyade böbrek dokusundan kaynaklanmaktadır. Glomerüler ve periferik kan makrofajlarını izole edip bu hücrelerde ROS salınımını gösterebilseydik bunu daha net ortaya koyabilirdik.

Çalışmamızda NS grubu böbrek dokusunda TBARS kontrol grubuna göre artmış bulunmuştur ancak bu fark istatistiksel anlamlılık göstermemiştir. Bunu MDA'nın yarı ömrünün kısalığı, stabil olmayışı ile ilişkilendirebiliriz. KBY hastalarında yapılan bir çalışmada MDA seviyelerinin hastaların sadece bir kısmında plazma ve eritrositlerde yükselmiş olduğu görülmektedir(239). Bu nedenle, günümüzde *marker* olarak, lipid türevleri yerine, daha stabil ve uzun ömürlü protein oksidasyon ürünlerinin kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır (239). Hücreler lipid peroksidasyon ürünlerini dakikalar içinde yaktığı halde protein peroksidasyon ürünleri saatler, günler içinde yıkılır. Protein oksidasyonunun saptanmasında HPLC, Elisa, izotop dilüsyon gaz kromatografisi-kütle spektrofotometrisi, Western blot ve spektrofotometri yöntemleri kullanılmaktadır. AOPP oluşumu klorine oksidanların(kloramin ve hipokloröz asit gibi) oluşumu ile indüklenmektedir. AOPP ölçümünde kloramin kullanılabilir(240).

Bu çalışmada bulunan sonuçlar NS etyopatogenezinde böbrekte artmış ROS üretiminden ziyade bozulmuş antioksidan koruma mekanizmalarının rolü olduğunu düşündürür. Böbrek dokusunda lipid oksidasyon türevlerinin yanında protein oksidasyon ürünlerini çalışma fırsatımız olsaydı belki de ROS üretiminde de anlamlı bir artış bulabilirdik.

Mishra ve ark.nın yaptığı çalışmada aktif NS'lu 48 hasta ve yaş-cinsiyet olarak eşleşmiş 30 sağlıklı çocukta ROS belirteçleri değerlendirilmiştir. NS hastalarında plazma MDA seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek iken, selenyum düşük saptanmıştır. Akut NS süresince oksidatif stresin arttığı ve antioksidan mekanizmaların yetersizliği ve antioksidan durumun sadece uzun dönem remisyonlarda tamamen iyileştiği gözlemlenmiştir (241).

Davutoğlu ve ark.nın yaptığı çalışmada 40 NS'lu çocuk çalışmaya dahil edilmiştir. İlk grup 21 akut NS dönemindeki çocuktan, grup2 steroid tedavisi altında

nonproteinürük olan 19 çocuktan, grup 3 steroid tedavisi kesildiği halde remisyonda kalan 22 adet çocuktan oluşmaktadır. Total peroksit, oksidatif stres indeksi(OSİ), Paraoksonaz(PON), total antioksidant cevap(TAR) parametreleri değerlendirilmiştir. PON LDL'nin oksidasyonunu lipid peroksit üretimini engelleyerek geciktiren glikoprotein yapısında olan kalsiyum bağımlı bir ester hidrolazdır. HDL kolesterolün antioksidan aktivitesi PON'dan dolaydır. NS'un aktif fazında olan hastalarda PON ve TAR düzeyleri belirgin daha düşük, OSİ ve total peroksit değerleri remisyonda olanlara göre daha yüksek saptanmıştır. Sonuçlar göstermektedir ki NS aktif fazında artmış oksidatif stres ve azalmış antioksidan kapasite mevcuttur(242).

Bulucu ve ark. yaptıkları çalışmada yetişkin NS hastalarında oksidatif stres durumu, plazma selenyum düzeyi, eritrosit ve plazma glutatyon peroksidaz aktiviteleri, eritrosit superoksit dismutaz aktivitesi, eritrosit ve plazma MDA düzeylerine bakarak çalışılmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 20 yetişkin NS hastasının daha düşük plazma ve eritrosit glutatyon peroksidaz aktivitesine sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca eritrosit SOD aktivitesi de kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. Eritrosit ve plazma MDA düzeyleri hasta grubunda daha yüksek, plazma selenyum düzeyleri de hasta grubunda kontrol grubuna göre daha düşük saptanmıştır. Sonuç olarak, bu veriler NS'da antioksidan sistemle ilgili bir bozukluk olduğu yönündeki çalışmalarını desteklemektedir(243).

Yukarıdaki üç çalışma da insan çalışmalarıdır ve eritrosit- plazma MDA seviyeleri artmış saptanmıştır. Bu durum ADR'nin insan ve sıçanlardaki farklı farmakokinetiğinin de bu duruma katkısı olabileceğini düşündürmektedir. ADR insanlarda esas olarak KC'de metabolize edilir, uygulanan dozun yaklaşık % 4-5'i 5 gün içinde üriner eksresyona, % 40-50' si 7 gün içinde safra yoluyla atılıma uğrar(184). Ratlarda adriamisin iv uygulamanın ardından hızlıca plazmadan temizlenir, dokuda birikir. İdrara ve safraya yavaş yavaş salınır. Esas olarak böbrekte birikir (184). Bu sebeple nefrotoksik özelliği belirgindir. Sıçanlarda ADR'nin hızlıca plazmadan temizlenmesi ve böbrekte birikmesi sebebi ile çalışmamızda eritrositlerde bir etkilenme saptamamış olabiliriz.

Yeni tedavi seçenekleri için çalışmaların devam ettiği bu süreçte belki de NS ve proteinürinin etyopatogenezinde rol oynadığı düşünülen ROS'a yönelik yapılacak

çalışmalar akıllıca bir adım olabilir. Oksidatif strese yol açan faktörlerden kaçınılması birçok hastalığın oluşumu ve progresyonu açısından oldukça önemlidir.

NADPH oksidaz inhibitörü apocynin (244), radikal toplayıcı edaravone (245), ICRF-187 (bir demir şelatörü) (246), pefloksasin(florokinolon grubu bir antibiyotik) (247) NS'da denenmiş ve ROS üretimini azaltarak proteinüriyi azalttıkları gözlenmiştir.

Literatüre bakıldığında çeşitli hastalıklarda denenmiş ve ROS üzerine etki ettiği gösterilen OCT'nin NS'da gördüğümüz kadarı ile hiç denenmediğini gözlemledik.

Son zamanlarda yapılan bazı klinik çalışmalarda OCT'nin genel inhibitör etkisine ek olarak antioksidan, antiinflamatuvar, immunmodülatör ve antiapoptotik özellikleri de bildirilmektedir (248) . SST immun modülatör olarak immun hücre aktivasyonunu ve TNF alfa, IL-1, IL-6 gibi sitokinleri inhibe eder. Yapılan çalışmalarda bu nöropeptidlerin doğal antioksidanlar oldukları da gösterilmiştir(248).

OCT'nin antiinflamatuvar, antifibrotik, antioksidan ve genel inhibitör etkileri ile NS' da bir tedavi seçeneği olabileceğini düşündük.

Somatostatin ve oktreotid lökosit fonksiyonları üzerine inhibitör etki gösterir. Niedermühlbichler ve ark.nın somatostatin ve oktreotidin insan monositleri üzerine böyle etkileri olup olmadığını araştırmak amacıyla düzenledikleri çalışmada somatostatin ilişkili peptidlerin oksijen radikalleri metabolizmasında düzenleyici bir role sahip olduğu yönünde veriler bulmuşlardır(249).

Çalışmamızda tedavi grubu NS grubu ile karşılaştırıldığında tedavi grubunda eritrosit içi TBARs ve CAT düzeylerinde belirgin bir farklılık olmamıştır. Böbrek dokusunda bakılan TBARs tedavi grubunda NS grubuna göre azalmış ancak istatistiksel anlamlılık gösterilememiştir. Pelvik inflamasyon ilişkili septik farelerde yapılan çalışmada oksidatif hasarın göstergesi olarak lipid peroksidasyon son ürünü MDA çalışılmıştır. Dokularda nötrofil kaynaklı MPO ve MDA seviyeleri arttığı, GSH seviyelerinin azaldığı görülmüştür. OCT tedavisinin MDA üretimini anlamlı derecede inhibe ettiği, sepsis ilişkili artmış MPO aktivitesini inhibe ettiği görülmüştür. Bu da OCT'nin koruyucu etkisini nötrofil infiltrasyonunu inhibe etmek yoluyla gösterdiğinin bir kanıtıdır(207). Çalışmamızda lipid peroksidasyon ürünü TBARS'ın böbrek

dokusunda tedavi ile azaldığı gösterilmiştir ancak dokuda MPO bakılmadığı için OCT nin bu etkisini nötrofil infiltrasyonu üzerinden gerçekleştirdiğini net olarak söyleyemeyiz.

Çalışmamızda böbrek dokusundaki CAT miktarı NS grubunda kontrol grubuna göre belirgin düşük, tedavi grubunda NS grubuna göre anlamlı artış göstermiştir. Yani NS grubunun antioksidan kapasitesi kontrol grubuna göre anlamlı azalmış, OCT uygulandıktan sonra antioksidan kapasite anlamlı artış göstermiş, kontrol grubu seviyesine çıkmıştır. Ayrıca histopatolojik değerlendirmeler de bulduğumuz bu anlamlı veriyi desteklemektedir. Glomerüler skleroz skoru NS grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmış, OCT tedavisinin uygulandığı grupta NS grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak azalmıştır. Yani OCT tedavisi dokuda hem bozulan antioksidan kapasiteyi hem de histopatolojiyi düzeltmiştir

Taurokolik asitle indüklenen akut pankreatit modelinde serbest oksijen radikalleri ve sitokinlerin rolünü incelemek ve oktreotidin akut pankreatite karşı önleyici etkilerini değerlendirebilmek amacıyla yapılan çalışmada Serum IL6, TNF- $\alpha$  ve pankreatik dokuda MDA, GSH, GPx, katalaz, SOD çalışılmıştır. Oktreotid tedavisinin sitokin ve ROS seviyeleri anlamlı olarak azalttığı ancak histopatolojik değişiklikler üzerine herhangi bir faydalı etkisi görülmediği gözlemlenmiştir(250).

Proteinüri glomerülde hasar oluşturabildiği gibi, özellikle tübülointerstisyuma da toksik etkisi olabilir. Bütün glomerüler hastalıklarda tübülointerstisyel hasar yaygın görülür ve proteinürinin derecesi ve renal fonksiyonla korelasyon gösterir. Bazı çalışmalar uzun dönem sağkalımın tübülointerstisyel hasarın ciddiyeti ile doğru orantılı olduğu yönünde öneriler sunmaktadır. Tübülointerstisyel yapılarda her 3 grupta da farklılık gözlenmemesi çalışmamızın süresinin tübüllere zarar verecek kadar uzun sürmemesi ile ilişkili olarak düşünülmüştür.

### **Çalışmanın kısıtlılıkları**

- 1) E vitamini, C vitamini, glutatyon, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz gibi antioksidan parametreleri de çalışmış olsaydık OCT'nin bu parametreler üzerine ve total antioksidan kapasite üzerine olan etkilerini daha geniş olarak ortaya koyabilirdik.
- 2) NS'da artan ROS'un glomerüler makrofajlardan kaynaklanabileceğini düşündüğümüz için eğer periferik kan monosit-makrofaj veya lökositlerde ROS düzeyini ölçüp bunu glomerüler makrofajlardaki ROS düzeyi ile karşılaştırabilseydik NS etyopatogenezine daha fazla ışık tutabilirdik.
- 3) Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA'nın yarı ömrünün kısa olması ve stabil olmaması sebebi ile yeterli değişikliği gösteremediğimizi düşündüğümüzden, MDA yerine daha uzun ömürlü olduğu belirtilen protein oksidasyon ürünlerini ölçmüş olsaydık NS'daki serbest radikallerin değişimini daha net bir biçimde ortaya koyabilirdik.
- 4) OCT'nin böbrek histopatolojisi ve patogeneizde etkili olduğu düşünülen serbest oksijen radikalleri üzerine olan olumlu etkisini gösterdik ancak sağkalım üzerine etkisinin var olup olmadığını bilmiyoruz. Bu sebeple ileride daha uzun soluklu bir çalışma planlanabilir.

## 7. SONUÇ

Yukarıdaki çalışmalarda bahsedildiği üzere NS patogenezinde ROS'un rolü vardır. Fakat Fydyrk ve ark.nın 18 SSNS lu çocuk ve 20 sağlıklı çocuk ile yaptıkları çalışmada bakılan ROS parametreleri bu durumu destekler nitelikte değildir. Bu çalışma NS daki proteinüride ROS rolünü açıklamada yetersiz kalmıştır(251). Ancak bizim çalışmamızda, literatürdeki pek çok çalışmayı destekler nitelikte bulgular saptanmıştır. Özellikle böbrek dokusunda antioksidan kapasitenin azalması ile NS, proteinüri gelişimi arasında patolojik verilerle de desteklenen bir ilişki gösterilmiştir.

Literatürde birçok çalışmada gösterilen okreotidin antioksidan, antifibrotik etkisi bizim çalışmamızla da desteklenmektedir. Çalışmamız ile literatürde ilk kez OCT'nin böbrek dokusunda azalan antioksidan kapasiteyi ve gelişen glomerüler sklerozu, anlamlı olarak düzelttiğini göstermiş olduk. Bundan sonraki aşama OCT'nin NS'da sağkalım üzerine etkisinin olup olmadığının gösterileceği çalışmalar planlamak olmalıdır.

## **KAYNAKLAR**

1. Floege J, Jons R, Feehally. Glomerular disease. In : Comprehensive Clinical Nephrology Fourth Edition, 2010: 193-282.
2. Orth SR, Ritz E. The nephrotic syndrome. N Engl J Med. 1998; 338: 1201-1212.
3. Floege J, Jons R, Feehally. Minimal Change Disease. Figure 17.6 In : Comprehensive Clinical Nephrology Fourth Edition, 2010: 223.
4. Nolasco F, Cameron JS, Heywood EF, et al. Adult-onset minimal change nephrotic syndrome: A long-term follow-up. Kidney Int. 1986;29:1215-1223.
5. Short versus standard prednisone therapy for initial treatment of idiopathic nephrotic syndrome in children. Arbeitsgemeinschaft für Pädiatrische Nephrologie. Lancet. 1988;1:380-383.
6. DENİZLİ M, KIRAÇ Y, GÜCÜN M, DEMİRCİ R, DURANAY M. Derleme: Podositler ve Nefrotik Sendrom İçin Yeni Tedavi Hedefleri, Yeni Tıp Dergisi 2012;29(1):12-18
7. Floege J, Jons R, Feehally. Focal Segmental Glomerulosclerosis. Figure 18.20-B In : Comprehensive Clinical Nephrology Fourth Edition, 2010: 236.
8. Schwarz A. New aspects of the treatment of nephrotic syndrome. J Am Soc Nephrol, 2001; 12:44-47
9. Dietrich A, Chubanov V, Gudermann T. Renal TRPathies. J Am Soc Nephrol 2010;21(5):736-44.
10. Reiser J, Gupta V, Kistler AD. Toward the development of podocytespecific drugs 2010;77(8):662-8.
11. Main IW, Atkins RC. The role of T-cells in inflammatory kidney disease. Curr Opin Nephrol Hypertens 1995;4:354-8.

12. Zhou LL, Hou FF, Wang GB, Yang F, Xie D, Wang YP, Tian JW. Accumulation of advanced oxidation protein products induces podocyte apoptosis and deletion through NADPH-dependent mechanisms. *Kidney Int* 2009; 76:1148–60.
13. Forbes JM, Coughlan MT, Cooper ME. Oxidative stress as a major culprit in kidney disease in diabetes. *Diabetes* 2008; 57:1446–54.
14. Ghodake SR, Shaikh K, Suryakar AN, Katta AV, Ankush RD. Role of free radicals and antioxidant status in childhood nephrotic syndrome. *Indian J Nephrol* 2011;21(1): 37-40
15. Kinra S, Rath B, Kabi BC. Indirect quantification of lipid peroxidation in Steroid responsive nephrotic syndrome. *Arch Dis Child* 2000; 82:76-8.
16. Vande Walle JG, Donckerwolcke RA, Koomans HA. Pathophysiology of edema formation in children with nephrotic syndrome not due to minimal change disease. *J Am Soc Nephrol* 1999;10:323-31.
17. Loghman-Adham M. Evaluating prteinuria in children. *Am Fam Physician* 1998;59:540.
18. Duann P, Data PK, Pan C, Blumberg JB, Sharma M, Lianos EA. Superoxide dismutase mimetic preserves the glomerular capillary permeability barrier to protein. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 316:1249-54
19. del Rio LA, Corpas FJ, Sandalio LM, Palma JM, Gomez M, Barroso JB. Reactive oxygen species, antioxidant systems and nitric oxide in peroxisomes. *J Exp Bot* 2002;53:1255-72
20. Ozen S, Usta Y, Sahin-Erdemli I, Orhan D, Gümüşel B, Yang B, et al. Association of nitric oxide production and apoptosis in a model of experimental nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16:32-8
21. Bourdan E, Loreau N, Blache D. Glucose and free radicals impair the antioxidant properties of serum albumin. *FASEB J* 1999;13:233-44.

22. Kharb S. Association of serum concentration of total bilirubin and low density lipoprotein cholesterol with myocardial infarction. *World J Med Sci* 2006;1:93-4
23. Raats CJ, Van Den Born J, Berden JH. Glomerular heparan sulfate alterations: Mechanisms and relevance for proteinuria. *Kidney Int* 2000;57:385-400
24. Zachwieja J, Bobkowski W, Zaniew M, Dobrowolska-Zachwieja A, Lewandowska-Stachowiak M, Siwinska A. Apoptosis and antioxidant defense in the nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2003;18:1116-21.
25. Fydryk J, Olszewska M, Urański T, Brodkiewicz A. Serum selenium level and glutathione peroxidase activity in Steroid-sensitive nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*. 2003 Oct;18(10):1063-5.
26. Bertelli R, Trivelli A, Magnasco A, Cioni M, Bodria A, Carrea A, Montobbio G, Barbano G, Ghiggeri G M. Failure of regulation results in an amplified oxidation burst by neutrophils in children with primary nephrotic syndrome. *British soc for immunology* 2010;161(1):151-158.
27. Albrich JM, McCarthy CA, Hurst JK. Biological reactivity of hypochlorous acid: implications for microbicidal mechanisms of leukocyte myeloperoxidase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78:210–14.
28. Peskin AV, Winterbourn CC. Kinetics of the reactions of hypochlorous acid and amino acid chloramines with thiols, methionine, and ascorbate. *Free Radic Biol Med* 2001; 30:572–9.
29. Lee VW et al. Adriamycin nephropathy: A model of focal segmental glomerulosclerosis. *Nephrology(Carlton)*(2011).
30. Remuzzi G, Zoja C, Remuzzi A et al. Low protein diet prevents glomerular damage in adriamycin treated rats. *Kidney Int* 1985;28:21-27.
31. Erol FS. Laminektomi sonrası peridural fibrozisin önlenmesinde melatonin ve oktreotidin etkileri. *Deneysel Çalışma*.2007. [www.belgeler.com](http://www.belgeler.com)

32. Chao TC, Cheng HP, Walter RJ. Somatostatin and macrophage function: modulation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, TNF, NO release. *Regul Pept.* 1995 Jul 21;58(1-2):1-10
33. Holmberg C, Tryggvason K, Kestila MK, Jalanko HJ. Glomerular disease. In: *Pediatric Nephrology*, Avner E, Eds. Fifth Edition, New York: Lippincott Williams and Wilkins, 2004:501-664.
34. International Study of Kidney Disease in Children. Nephrotic syndrome in children: prediction of histology from clinical and laboratory characteristics at time of diagnosis. *Kidney Int*, 1978;13(2):159-165.
35. McKinney PA, Feltbower RG, Brocklebank JT, Fitzpatrick MM. Time trends and ethnic patterns of childhood nephrotic syndrome in Yorkshire, UK. *Pediatr Nephrol*, 2001;16(12):1040-1044
36. Cameron JS. Nephrotic syndrome in the elderly. *Semin Nephrol*. 1996;16:319-329.
37. Haas M, Meehan SM, Karrison TG, Spargo BH. Changing etiologies of unexplained adult nephrotic syndrome: A comparison of renal biopsy findings from 1976-1979 and 1995-1997. *Am J Kidney Dis.* 1997;30: 521-531.
38. Kitiyakara C, Eggers P, Kopp JB. Twenty-one year trends in ESRD due to FSGS in the United States. *Am J Kidney Dis.* 2004;44:815-825.
39. Bahiense-Oliveira M, Saldanha LB, Andrade Mota EL, et al. Primary glomerular disease in Brazil: 1979-1999. Is the frequency of FSGS increasing? *Clin Nephrol.* 2004;61:90-97.
40. Aggarwal N, Appel GB. Focal segmental glomerulosclerosis. In: Greenberg A, ed. *Primer on Kidney Diseases*. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders; 2009:165-170.
41. Haas M, Meehan S, Karrison TG, Spargo BH. Changing etiologies of unexplained adult nephrotic syndrome: A comparison of renal biopsy findings from 1976-1979 and 1995-1997. *Am J Kidney Dis.* 1997;30: 621-631.

42. Jefferson AJ, Couser WG. Membranous nephropathy in the pediatric population. In: Avner E, Harmon W, Niaudet P, Yoshikawa N, eds. *Pediatric Nephrology*. 6th ed. Philadelphia: Springer; 2009:799-814.
43. Cameron JS. Nephrotic syndrome in the elderly. *Semin Nephrol*. 1996;16:319-329.
44. Haas M, Meehan SM, Karison TG, Spargo BH. Changing etiologies of unexplained adult nephrotic syndrome: A comparison of renal biopsy findings from 1976-1979 and 1995-1997. *Am J Kidney Dis*. 1997;30: 621-631.
45. Salcedo JR, Thabet MA, Latta K, Chan JC. Nephrosis in childhood. *Nephron*, 1995;71(4):373-385
46. Lerma E, Berns J, Nissenson A. Glomerüler Hastalıklar .*Current Nefroloji ve Hipertansiyon Tanı ve Tedavi*. 2012; 211-255
47. Chesney R. The changing face of childhood nephrotic syndrome. *Kidney Int*, 2004;66:1294-1302
48. Eddy AA, Symons JM. Nephrotic syndrome in childhood. *Lancet*, 2003;362:629-639.
49. Schnaper, HW, Robson, AA, Kopp, JB. Nephrotic syndrome: minimal change nephropathy, focal segmental glomerulosclerosis, and collapsing glomerulopathy. In: *Diseases of the Kidney and Urinary Tract*, 8th ed, Schrier, RW (ed), Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2007. p1585.
50. Shirato I. Podocyte process effacement in vivo. *Microsc Res Tech* 2002; 57:241.
51. van den Berg JG, van den Bergh Weerman MA, Assmann KJ, et al. Podocyte foot process effacement is not correlated with the level of proteinuria in human glomerulopathies. *Kidney Int* 2004; 66:1901.
52. Shalhoub RJ. Pathogenesis of lipid nephrosis: a disorder of T-cell function. *Lancet* 1974; 2:556.

53. Yang T, Nast CC, Vo A, Jordan SC. Rapid remission of steroid and mycophenolate mofetil (mmf)-resistant minimal change nephrotic syndrome after rituximab therapy. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23:377.
54. D'Agati V. Pathologic classification of focal segmental glomerulosclerosis. *Semin Nephrol* 2003; 23:117.
55. Meyrier A. Nephrotic focal segmental glomerulosclerosis in 2004: an update. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19:2437.
56. D'Agati VD, Kaskel FJ, Falk RJ. Focal segmental glomerulosclerosis. *N Engl J Med* 2011; 365:2398.
57. Smith RJ, Alexander J, Barlow PN, et al. New approaches to the treatment of dense deposit disease. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18:2447.
58. Appel GB, Cook HT, Hageman G, et al. Membranoproliferative glomerulonephritis type II (dense deposit disease): an update. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16:1392.
59. Sethi S, Gamez JD, Vrana JA, et al. Glomeruli of Dense Deposit Disease contain components of the alternative and terminal complement pathway. *Kidney Int* 2009; 75:952.
60. Ferrario F, Rastaldi MP. Histopathological atlas of renal diseases. Membranoproliferative glomerulonephritis. *J Nephrol*, 2004;17(4):483–486.
61. Boseman P, Lewin M, Dillon J, Sethi S. Marfan syndrome, MPGN, and bacterial endocarditis. *Am J Kidney Dis* 2008; 51:697.
62. Hulton SA, Risdon RA, Dillon MJ. Mesangiocapillary glomerulonephritis associated with meningococcal meningitis, C3 nephritic factor and persistently low complement C3 and C5. *Pediatr Nephrol* 1992; 6:239.

63. Yamabe H, Johnson RJ, Gretch DR, et al. Hepatitis C virus infection and membranoproliferative glomerulonephritis in Japan. *J Am Soc Nephrol* 1995; 6:220.
64. Yamabe H, Johnson RJ, Gretch DR, et al. Membranoproliferative glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection responsive to interferon-alpha. *Am J Kidney Dis* 1995; 25:67.
65. Alpers CE, Smith KD. Cryoglobulinemia and renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2008; 17:243.
66. Vella J, Carmody M, Campbell E, et al. Glomerulonephritis after ventriculo-atrial shunt. *QJM* 1995; 88:911.
67. Adam FU, Torun D, Bolat F, et al. Acute renal failure due to mesangial proliferative glomerulonephritis in a pregnant woman with primary Sjögren's syndrome. *Clin Rheumatol* 2006; 25:75.
68. Sethi S, Zand L, Leung N, et al. Membranoproliferative glomerulonephritis secondary to monoclonal gammopathy. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5:770.
69. Weening JJ, D'Agati VD, Schwartz MM, et al. The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *Kidney Int* 2004; 65:521.
70. Sethi S, Fervenza FC, Zhang Y, et al. Proliferative glomerulonephritis secondary to dysfunction of the alternative pathway of complement. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011; 6:1009.
71. Sethi S, Fervenza FC. Membranoproliferative glomerulonephritis: pathogenetic heterogeneity and proposal for a new classification. *Semin Nephrol* 2011; 31:341.
72. Glasscock RJ, Bargman JM, Palmer BF, et al. Nephrology Quiz and Questionnaire: 2009. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5:1141.

73. Rincón B, Bernis C, Garcia A, Traver JA. Mesangiocapillary glomerulonephritis associated with hydatid disease. *Nephrol Dial Transplant* 1993; 8:783.
74. Goules A, Masouridi S, Tzioufas AG, et al. Clinically significant and biopsy-documented renal involvement in primary Sjögren syndrome. *Medicine (Baltimore)* 2000; 79:241.
75. Rennke HG. Secondary membranoproliferative glomerulonephritis. *Kidney Int* 1995; 47:643.
76. Smith RJ, Alexander J, Barlow PN, et al. New approaches to the treatment of dense deposit disease. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18:2447.
77. Cameron JS, Turner DR, Heaton J, et al. Idiopathic mesangiocapillary glomerulonephritis. Comparison of types I and II in children and adults and long-term prognosis. *Am J Med* 1983; 74:175.
78. Strife CF, Jackson EC, McAdams AJ. Type III membranoproliferative glomerulonephritis: long-term clinical and morphologic evaluation. *Clin Nephrol* 1984; 21:323.
79. Nasr SH, Valeri AM, Appel GB, et al. Dense deposit disease: clinicopathologic study of 32 pediatric and adult patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4:22.
80. Austin, HA 3d, Antonovych, TT, MacKay, K, et al. NIH Conference. Membranous nephropathy. *Ann Intern Med* 1992; 116:672.
81. Wasserstein AG. Membranous glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8:664.
82. Quigg RJ. Why study membranous nephropathy in rats? *Kidney Int* 2003; 64:2318.
83. Farquhar MG, Saito A, Kerjaschki D, Orlando RA. The Heymann nephritis antigenic complex: megalin (gp330) and RAP. *J Am Soc Nephrol* 1995; 6:35.

84. Cybulsky AV, Quigg RJ, Salant DJ. Experimental membranous nephropathy redux. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 289:F660.
85. Cunningham PN, Quigg RJ. Contrasting roles of complement activation and its regulation in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16:1214.
86. Floege J, Johnson RJ, Gordon K, et al. Altered glomerular extracellular matrix synthesis in experimental membranous nephropathy. *Kidney Int* 1992; 42:573.
87. Minto AW, Kalluri R, Togawa M, et al. Augmented expression of glomerular basement membrane specific type IV collagen isoforms (alpha3-alpha5) in experimental membranous nephropathy. *Proc Assoc Am Physicians* 1998; 110:207.
88. Kim Y, Butkowski R, Burke B, et al. Differential expression of basement membrane collagen in membranous nephropathy. *Am J Pathol* 1991; 139:1381.
89. Couser WG, Alpers CE. Membranous nephropathy. In: Neilson EG, Couser WG, eds. *Immunologic Renal Diseases*. Philadelphia: LippincottWilliams & Wilkins; 2001:1029-1036.
90. Cattran DC, Alexopoulos E, Heering P, et al. Cyclosporin in idiopathic glomerular disease associated with the nephrotic syndrome: Workshop recommendations. *Kidney Int*. 2007;72:1429-1447.
91. Guyton A.C, Hall J.E. Böbreklerde İdrar Oluşumu: Glomerüler filtrasyon, Böbrek kan akımı ve kontrolleri. *Medikal fizyoloji, onuncu edisyon*, 2001, Bölüm:26, 284-285
92. Mathieson PW. Glomerulonephritis. *Semin Immunopathol* 2007; 29:315.
93. Nangaku M, Couser WG. Mechanisms of immune-deposit formation and the mediation of immune renal injury. *Clin Exp Nephrol* 2005; 9:183.
94. Chadban SJ, Atkins RC. Glomerulonephritis. *Lancet* 2005; 365:1797.

95. Tipping PG, Kitching AR. Glomerulonephritis, Th1 and Th2: what's new? *Clin Exp Immunol* 2005; 142:207.
96. Puri TS, Quigg RJ. The many effects of complement C3- and C5-binding proteins in renal injury. *Semin Nephrol* 2007; 27:321.
97. Kurts C, Heymann F, Lukacs-Kornek V, et al. Role of T cells and dendritic cells in glomerular immunopathology. *Semin Immunopathol* 2007; 29:317.
98. Kashtan C. Autotopes and allotopes. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16:3455.
99. Tipping PG, Kitching AR. Glomerulonephritis, Th1 and Th2: what's new? *Clin Exp Immunol* 2005; 142:207.
100. Kuroki A, Iyoda M, Shibata T, Sugisaki T. Th2 cytokines increase and stimulate B cells to produce IgG4 in idiopathic membranous nephropathy. *Kidney Int* 2005; 68:302.
101. ARIKAN H., AKOGLU E, PATHOGENESIS OF GLOMERULONEPHRITIS, *Turkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2006, 2(21):1-9
102. Couser WG, Salant DJ. In situ immune complex formation and glomerular injury. *Kidney Int* 1980; 17:1.
103. Gómez-Guerrero C, Hernández-Vargas P, López-Franco O, et al. Mesangial cells and glomerular inflammation: from the pathogenesis to novel therapeutic approaches. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2005; 4:341.
104. Tipping PG, Holdsworth SR. Cytokines in glomerulonephritis. *Semin Nephrol* 2007; 27:275.
105. Adler S, Brady HR. Cell adhesion molecules and the glomerulopathies. *Am J Med* 1999; 107:371.
106. Salant DJ, Adler S, Darby C, et al. Influence of antigen distribution on the mediation of immunological glomerular injury. *Kidney Int* 1985; 27:938.

107. Nangaku M, Shankland SJ, Couser WG. Cellular response to injury in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16:1195.
108. Mackinnon B, Deighan CJ, Ferrell WR, et al. Endothelial function in patients with proteinuric primary glomerulonephritis. *Nephron Clin Pract* 2008; 109:c40.
109. Mathieson PW. Minimal change nephropathy and focal segmental glomerulosclerosis. *Semin Immunopathol* 2007; 29:415.
110. Madaio, MP, Foster, MH. Molecular structure and expression of nephritogenic autoantibodies in immune renal diseases. In: *Immunologic Renal Diseases*, 2nd ed, Neilson, EG, Couser, WG (Eds), Lippincott Williams & Wilkins Publishers, Philadelphia 2001.
111. Inal JM, Pascual M, Lesavre P, Schifferli JA. Complement inhibition in renal diseases. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18:237.
112. Quigg RJ. Why study membranous nephropathy in rats? *Kidney Int* 2003; 64:2318.
113. Kluth DC, Erwig LP, Rees AJ. Multiple facets of macrophages in renal injury. *Kidney Int* 2004; 66:542.
114. Ikezumi Y, Kanno K, Karasawa T, et al. The role of lymphocytes in the experimental progressive glomerulonephritis. *Kidney Int* 2004; 66:1036.
115. Tipping PG, Holdsworth SR. T cells in glomerulonephritis. *Springer Semin Immunopathol* 2003; 24:377.
116. Khoshnoodi J, Tryggvason K. Unraveling the molecular make-up of the glomerular podocyte slit diaphragm. *Exp Nephrol* 2001;9:355-9.
117. Harvey SJ, Miner JH: Revisiting the glomerular charge barrier in the molecular era. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2008; 17(4): 393-398

118. Henry CB, Duling BR: TNF-alpha increases entry of macromolecules into luminal endothelial cell glycocalyx. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 279: 2815-2823
119. Yoshioka T, Ichikawa I, Fogo A: Reactive oxygen metabolites cause massive, reversible proteinuria and glomerular sieving defect without apparent ultrastructural abnormality. *J Am Soc Nephrol* 1991; 2: 902-912
120. Hjalmarsson C, Johansson BR, Haraldsson B: Electron microscopic evaluation of the endothelial surface layer of glomerular capillaries. *Microvasc Res* 2004; 67(1): 9-17
121. Jeansson M, Björck K, Tenstad O, Haraldsson B: Adriamycin alters glomerular endothelium to induce proteinuria. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20(1): 114-122
122. Vega-Warner V, Ransom RF, Vincent AM, Brosius FC, Smoyer WE, Induction of antioxidant enzymes in murine podocytes precedes injury by puromycin aminonucleoside. *Kidney Int.* 2004 Nov;66(5):1881-9.
123. RYAN GP, KARNOVSKY MJ. An ultrastructural study of the mechanisms of proteinuria in aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int* 1975; 8: 219–232. | PubMed
124. NEVINS TE, GASTON T, BASGEN JM. Quantitative indexes of aminonucleoside-induced nephrotic syndrome. *Am J Pathol* 1984; 117: 30–36. | PubMed |
125. KAWAGUCHI M, YAMADA M, WADA H & OKIGAKI T. Roles of active oxygen species in glomerular epithelial cell injury in vitro caused by puromycin aminonucleoside. *Toxicology* 1992; 72: 329–340 10.1016/0300-483X(92)90183-F. | Article | PubMed |
126. KOJIMA K, MATSUI K & NAGASE M. Protection of alpha(3) integrin-mediated podocyte shape by superoxide dismutase in the puromycin aminonucleoside nephrosis rat. *Am J Kidney Dis* 2000; 35: 1175–1185. | PubMed |

127. BEAMAN M, BIRTWISTLE R, HOWIE AJ et al. The role of superoxide anion and hydrogen peroxide in glomerular injury induced by puromycin aminonucleoside in rats. *Clin Sci (Lond)* 1987; 73: 329–332. | PubMed |
128. NAKAMURA K, KOJIMA K & ARAI T et al. Dipyridamole and dilazep suppress oxygen radicals in puromycin aminonucleoside nephrosis rats. *Eur J Clin Invest* 1998; 28: 877–883 10.1046/j.1365-2362.1998.00378.x. | PubMed |
129. FARQUHAR MG, VERNIER RL & GOOD RA. An electron microscopic study of the glomerulus in nephrosis, glomerulonephritis and lupus erythematosus. *J Exp Med* 1957;106: 649–660 10.1084/jem.106.5.649.|Article |PubMed| ISI| ChemPort |
130. CAULFIELD JP, REID JJ & FARQUHAR MG. Alterations of the glomerular epithelium in acute aminonucleoside nephrosis. Evidence for formation of occluding junctions and epithelial cell detachment. *Lab Invest* 1976; 34: 43–59. | PubMed | ISI | ChemPort |
131. ITO K, GER YC & KAWAMURA S. Actin filament alterations in glomerular epithelial cells of adriamycin-induced nephrotic rats. *Acta Pathol Jpn* 1986; 36: 253–260. | PubMed
132. RYAN GP & KARNOVSKY MJ. An ultrastructural study of the mechanisms of proteinuria in aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int* 1975; 8: 219–232. | PubMed | ISI | ChemPort |
133. Baud L, Philippe C, Fouqueray B. Reactive oxygen species as glomerular autocoids. *J. Am. Soc. Nephrol.*1992;2:s132-s138
134. Kaysen GA, Gambertoglio J, Jimenez I, et al. Effect of dietary protein intake on albumin homeostasis in nephrotic patients. *Kidney Int* 1986; 29:572.
135. Kaysen GA, Kirkpatrick WG, Couser WG. Albumin homeostasis in the nephrotic rat: nutritional considerations. *Am J Physiol* 1984; 247:F192.

136. Sun X, Martin V, Weiss RH, Kaysen GA. Selective transcriptional augmentation of hepatic gene expression in the rat with Heymann nephritis. *Am J Physiol* 1993; 264:F441.
137. Pietrangelo A, Panduro A, Chowdhury JR, Shafritz DA. Albumin gene expression is down-regulated by albumin or macromolecule infusion in the rat. *J Clin Invest* 1992; 89:1755.
138. 3. Kaysen GA, Gambertoglio J, Felts J, Hutchinson FN. Albumin synthesis, albuminuria and hyperlipidemia in nephrotic patients. *Kidney Int*, 1987;31:1368–1376.
139. Muls E, Rosseneu M, Daneels R, Schurgers M, Boelaert J. Lipoprotein distribution and composition in the human nephrotic syndrome. *Atherosclerosis*, 1985;54(2): 225–237.
140. Appel G. Lipid abnormalities in renal disease. *Kidney Int*,1991;39(1):169–183
141. Kelepouris E, Rovin B.H. Overview of heavy proteinuria and the nephrotic syndrome. Up to date, Mar,2013
142. Crew RJ, Radhakrishnan J, Appel G. Complications of the nephrotic syndrome and their treatment. *Clin Nephrol* 2004; 62:245.
143. Howard AD, Moore J Jr, Gouge SF, et al. Routine serologic tests in the differential diagnosis of the adult nephrotic syndrome. *Am J Kidney Dis* 1990; 15:24.
144. Meyrier A. Treatment of minimal change disease in adults. Up to date, Dec,2012.
145. Mathieson PW. Proteinuria and immunity—an overstated relationship? *N Engl J Med* 2008; 359:2492
146. Meyrier AY. Treatment of focal segmental glomerulosclerosis with immunophilin modulation:when did we stop thinking about pathogenesis? *Kidney Int* 2009;76:487

147. Chatham WW, Kimberly RP. Treatment of lupus with corticosteroids. *Lupus* 2001; 10:140.
148. Chatham WW. Glucocorticoid effects on the immune system, Up to date, Mar,2013.
149. Schönenberger E, Ehrich JH, Haller H, Schiffer M. The podocyte as a direct target of immunosuppressive agents. *Nephrol Dial Transplant* 2011;26(1):18-24.
150. Clowse MB, Stone JH. General toxicity of cyclophosphamide and chlorambucil in inflammatory diseases ,Up to date, Mar,2013
151. Hall AG, Tilby MJ. Mechanisms of action of, and modes of resistance to, alkylating agents used in the treatment of haematological malignancies. *Blood Rev* 1992; 6:163.
152. Cupps TR, Edgar LC, Fauci AS. Suppression of human B lymphocyte function by cyclophosphamide. *J Immunol* 1982; 128:2453.
153. Stone JH. General principles of the use of cyclophosphamide in rheumatic and renal disease, Up to date, Mar,2013
154. Regan MJ, Hellmann DB, Stone JH. Treatment of Wegener's granulomatosis. *Rheum Dis Clin North Am* 2001; 27:863.
155. Haubitz M, Bohnenstengel F, Brunkhorst R, et al. Cyclophosphamide pharmacokinetics and dose requirements in patients with renal insufficiency. *Kidney Int* 2002; 61:1495.
156. Nolasco F, Cameron JS, Heywood EF, et al. Adult onset minimal change nephrotic syndrome: a long-term follow up. *Kidney Int* 1986;29:1215.
157. Mak SK, Short CD, Mallick NP. Long term outcome of adult onset minimal change nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11:2192.
158. Arneil GC, Lam CN. Long term assessment of Steroid therapy in childhood nephrosis. *Lancet* 1996;2:819

159. Tse KC, Lam MF, Yip PS, et al. Idiopathic minimal change nephrotic syndrome in older adults: Steroid responsiveness and pattern of relapses. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18:1316.
160. Waldman M, Crew RJ, Valeri A, et al. Adult minimal change disease: clinical characteristics, treatment, and outcomes. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007;2:445.
161. Cyclophosphamide treatment of Steroid dependent nephrotic syndrome: comparison of eight week with 12 week course. Report of Arbeitsgemeinschaft für Padiatrische nephrologie. *Arch Dis Child* 1987;62:1102.
162. Belmont MH. Pharmacology and side effects of azathioprine when used in rheumatic diseases, Up to date, Mar, 2013
163. Abromowicz M, Barnett HL, Edelmann CM Jr, Greifer I, Kobayashi O, Arneil GC, Baron BA, Gordillo-P G, Hallman N, Tiddens HA. Controlled trial of azathioprine in children with nephrotic syndrome. A report of the International study of Kidney Disease in children. *Lancet*, 1970;1(7654):959-961.
164. Barrat TM, Cameron JS, Chantler C, Counahan R, Ogg CS, Soothill JF. Controlled trial of azathioprine in treatment of Steroid responsive nephrotic syndrome of childhood. *Arch Dis Child*, 1977;52(6):462-463.
165. Bargman JM. Management of minimal lesion glomerulonephritis: evidence-based recommendations. *Kidney Int Suppl* 1999;70:S3.
166. Meyrier A. Treatment of idiopathic nephrosis by immunophilin modulation. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18 Suppl 6:vi79.
167. Cattran DC, Alexopoulos E, Heering P, et al. Cyclosporin in idiopathic glomerular disease associated with the nephrotic syndrome: workshop recommendations. *Kidney Int* 2007;72:1429.
168. Westhoff TH, Schmidt S, Zidek W, et al. Tacrolimus in Steroid resistant and Steroid dependent nephrotic syndrome. *Clin Nephrol* 2006;65: 393.

169. Sinha MD, MacLeod R, Rigby E, Clark AG. Treatment of severe Steroid dependent nephrotic syndrome in children with tacrolimus. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21:1848.
170. Li X, Li H, Ye H, et al. Tacrolimus therapy in adults with Steroid and cyclophosphamide resistant nephrotic syndrome and normal or mildly reduced GFR. *Am J Kidney Dis* 2009 ;54:51.
171. Li X, Li H, Chen J, et al. Tacrolimus as a Steroid-sparing agent for adults with Steroid dependent with Steroid dependent minimal change nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23:1919
172. Magee C C. Pharmacology and side effects of cyclosporine and tacrolimus, Up to date, Mar,2013.
173. Briggs WA, Choi MJ, Scheel PJ. Successful mycophenolate mofetil treatment of glomerular disease. *Am J Kidney Dis*,1998;31:213-217.
174. Novak I, Frank R, Vento S, Vergara M, Gauthier B, Trachman H. Efficacy of mycophenolate mofetil in the pediatric patients with Steroid dependent nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*,2005;20(9):1265-1268.
175. Guignonis V, Dallochio A, Baudouin V, et al. Rituximab treatment for severe Steroid or cyclosporine dependent nephrotic syndrome: a multicentric series of 22 cases. *Pediatr Nephrol* 2008; 23:1269.
176. Ravani P, Magnasco A, Edefonti A, et al. Short term effects of rituximab in children with Steroid and calcineurin dependent nephrotic syndrome: a randomized controlled trial. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011 ;6:1308
177. Sinha A, Bagga A, Gulati A, Hari P. Short term efficacy of rituximab versus tacrolimus in Steroid dependent nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2012; 27:235
178. Prytula A, Lijima K, Kamei K, et al. Rituximab in refractory nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2010;25:461.

179. Lindemann W.: Sur le mode d'action de certains poisons renaux. Annales L 'Institut Pasteur, 14: 49,1900
180. Bohrer MP, Baylis C, Robertson CR, Brenner BM, Troy JL, Willis WT. Mechanisms of the puromycin-induced defects in the transglomerular passage of water and macromolecules. J Clin. Invest, 1997;60(1):152-161.
181. Caulfield JP, Farquhar MG. Loss of anionic sites from the glomerular basement membrane in aminonucleoside nephrosis. Lab Invest, 1978;39(5):505-551.
182. Frenk S, Antonowicz I, Craig JM, Metcalf J. Experimental nephrotic syndrome induced in rats by aminonucleoside; renal lesions and body electrolyte composition. Proc Soc Exp Biol Med. 1955 Jul;89(3):424-7. Sprague Dawley rat
183. Ryan GB, Karnovsky MJ. An ultrastructural study of the mechanisms of proteinuria in aminonucleoside nephrosis. Kidney Int, 1975;8(5): 219-232.
184. VINCENT WS LEE, DAVID CH HARRIS. Review Article: Adriamycin nephropathy: A model of focal segmental glomerulosclerosis. Nephrology 16 (2011) 30–38ep\_1383 30..38
185. Adriamycin [database on the Internet]. Health Communication Network. 2010 [Cited 11 August 2010.] Available from URL:[http://www.pfizer.com.au/DisplayPI.aspx?PDFDocumentID= 2d46c4ce-308d-4b9f-8ac4-106563185b48](http://www.pfizer.com.au/DisplayPI.aspx?PDFDocumentID=2d46c4ce-308d-4b9f-8ac4-106563185b48).
186. Yesair DW, Schwartzbach E, Shuck D, Denine EP, Asbell MA. Comparative pharmacokinetics of daunomycin and adriamycin in several animal species. Cancer Res. 1972; 32: 1177–83.
187. Jeansson M, Bjorck K, Tenstad O, Haraldsson B. Adriamycin alters glomerular endothelium to induce proteinuria. J. Am. Soc. Nephrol. 2009; 20: 114–22.
188. Okasaro T, Takikawa T, Utsunomiya Y et al. Suppressive effect of superoxide dismutase on adriamycin nephropathy. Nephron 1992;60: 199-203

189. Bertani T, Poggi A, Pozzoni R, Delaini F, Sacchi G, Thoua Y, Mecca G, Remuzzi G, Donati MB. Adriamycin induced nephrotic syndrome in rats: sequence of pathologic events. *Lab Invest* 1982 ;46(1):16-23
190. Bertani T, Remuzzi G, Rocchi G, Delaini F, Sacchi G, Falchetti M, Donati MB. Steroids and adriamycin nephrosis. *Appl Pathol*, 1984;2(1):32-38.
191. Franco R, Gut A, Ferrari-Spadotto A,Georgette J, Gavras I, Gavras H. Pressor mechanismsin adriamycin induced nephropathy with hypertension in rats. *Hypertension*,1994;23(1):1246-1249.
192. Okuda S, Oh Y, Tsuruda H, Onoyama K, Fujimi S, Fujishima M.Adriamycin induced nephropathyas a model of chronic progressive glomerular disease. *Kidney Int*,1986;29(2):502-510.
193. Weening JJ, Rennke HG. Glomerular permeability and polyanion in adriamycin nephrosis in the rats. *Kidney Int*, 1983;24:152-159.
194. Odonnel MP, Michels L, Kasiske B, Rajj L, Keane WF.Adriamycin induced chronic proteinuria:a structural and functional study. *J Lab Clin Med*,1985;106:62-67.
195. Bucciarelli E, Binazzi R, Santori P, Vespasiani G. Nephrotic syndrome in rats due to adriamycin chlorhydrate. *Lav Ist Anat Istol Patol Univ Studi Perugia*. 1976;36(2):53-69.
196. Kaplan BS, Renaud L, Drummond KN. Effects of aminonucleoside, daunomycin, and adriamycin on carbon oxidation by glomeruli.*Lab Invest*. 1976 Feb;34(2):174-8.
197. Makker SP, Tramontano A. Idiopathic Membranous Nephropathy: An Autoimmune Disease , *Semin Nephrol*. 2011 July; 31(4): 333–340.
198. Heymann W, Hackel DB, Harwood S, Wilson SG, Hunter JL.Production of nephrotic syndrome in rats by Freund's adjuvants and rat kidney suspensions. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1959 Apr;100(4):660-4.

199. Seydanoğlu A, Gül M, Erdem S, Cander B , Ayan M, Toy H, Bircan M, Girişgin S. Deneysel Sepsis Modelinde Oksidan-Antioksidan Sistem ve Akciğer Histopatolojisi Üzerine Oktreotid'in Doza Bağımlı Etkileri, Selçuk Üniv. Tıp Derg 2010;26(3):90-94
200. Liddle A R. Physiology of somatostatin and its analogues, up to date, Dec,2012
201. Sandostatin( Database on the internet), www.pharma.us.novartis.com
202. Lata J, Dite P, Julinkova K, Precechtelova M, Prasek J. Effect of octreotide on the clinical course of acute pancreatitis and levels of free oxygen radicals and antioxidants. Vnitr Lek 1998 ; 44(9):524-7.
203. Wenger FA, Kilian M, Jacobi CA. Effects of octreotide on lipid peroxidation in pancreas and plasma in acute hemorrhagic necrotizing pancreatitis in rats. Pancreatology 2002;2 (3):211-6.
204. Sener G, Cetinel S, Erkanlı G, Gedik N, Yegen BC. Octreotide ameliorates sepsis-induced pelvic inflammation in female rats by a neutrophil-dependent mechanism.
205. Li W, Shi YH, Yang RL, Cui J, Xiao Y, Wang B, Le GW.Effect of somatostatin analog on high-fat diet-induced metabolic syndrome: Involvement of reactive oxygen species. Peptides. 2010 Apr;31(4):625-9.
206. Chao TC, Cheng HP, Walter RJ .Somatostatin and macrophage function:modulation of H2O2,NO,TNF. Regul Pept. 1995 Jul 21;58(1-2):1-10
207. Sener G, Erkanlı G, Çetinel Ş, Gedik N, Yeğer BÇ. Octreotide ameliorates sepsis-induced pelvic inflammation in female rats by a neutrophil-dependent mechanism. Peptides. 2005 Mar;26(3):493-9
208. Derviş E. Derleme:Oral Antioksidanlar. Dermatoz 2011 ; 2(1) : 263-267.
209. Atmaca E, Aksoy A. Oksidatif DNA Hasarı ve Kromatografik Yöntemlerle Tespit Edilmesi. YYU Veteriner Fakültesi Dergisi, 2009, 20 (2), 79 - 83 DERLEME. ISSN: 1017-8422; e-ISSN: 1308-3651

210. Akpoyraz M, Durak İ, SERBEST RADİKALLERİN BİYOLOJİK ETKİLERİ ANKARA TIP MECMUASI (THE JOURNAL OF THE FACULTY OF MEDICINE) Vol. 48 : 253-262, 1995
211. GÜRGÖZE SY, ŞAHİN T, DURAK MH. MEMELİLERDE ORTALAMA YAŞAM SÜRESİ VE YAŞLANMA SÜRECİNDE SERBEST RADİKALLERİN ROLÜ. İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg. 33 (1), 43-49, 2007
212. Eşrefoğlu M. Derleme: Hücre hasarı ve ölümü: Oksidatif stres ve antioksidan savunma sistemleri. Türkiye Klinikleri J Med Sci 2009;29(6):1660-76.
213. Kavas GÖ. REAKTİF OKSİJEN METABOLİTLERİNE FİZYOPATOLOJİK YAKLAŞIM ANKARA TIP MECMUASI (THE JOURNAL OF THE FACULTY OF MEDICINE) Vol. 47 : 579-592, 1994
214. NORDBERG, J. and ARNÉR, E.S.J., 2001. Reactive Oxygen Species, Antioxidants, and the Mammalian Thioredoxin System. Free Radical Biol. Med., 31, 1287–1312.
215. VON SONNTAG C. Free-Radical-Induced DNA Damage and Its Repair. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 2006.
216. WINTERBOURN, C.C., 1995. Toxicity of Iron and Hydrogen Peroxide: The Fenton Reaction. Toxicol. Lett., 82–83, 969–974.
217. Koca N, Karadeniz F. Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve vücuttaki antioksidan savunma sistemleri. Gıda mühendisliği dergisi
218. Robbins KC. Hücre zedelenmesi ölümü ve adaptasyonu. Temel Patoloji, 2000, 6. edisyon, sayfa: 8-11
219. THORNALEY, P.J. and VASAK M., 1985. Possible Role of Metallothionein in Protection against Radiation-Induced Oxidative Stress: Kinetics and Mechanism of Its Reaction with Superoxide and Hydroxyl Radicals, Biochem. Biophys. Acta., 827, 35–44.

220. KARIHTALA P, SOINI Y. Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. *APMIS* 2007; 115: 81-103.
221. COOKE MS, OLINSKI R, EVANS MD. Does measurement of oxidative damage to DNA have clinical significance? *Clin Chim Acta* 2006;365: 30-49.
222. 65. BLOKHINA, O., VIROLAINEN, E. and FAGERSTEDT, K.V., 2003. Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress: A Review. *Ann. Bot.*, 91,179–194.
223. DAT J, VANDENABEELE S, VRANOVÁ E, VAN MONTAGU M, INZÉ D, VAN BREUSEGEM F. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cell Mol Life Sci* 2000; 57: 779-795.
224. 13. HALLIWELL, B. and GUTTERIDGE, J.M.C., 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Third Edition, Oxford University Press. Inc., New York, 936s.
225. CNUBBEN, N.H.P., RIETJENS, I.M.C.M., WORTELBOER, H., VANZANDEN, J. and VAN BLADEREN, P.J., 2001. The Interplay of Glutathione Related Processes in Antioxidant Defense. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 10, 141-152.
226. URSO ML, CLARKSON PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology* 2003;189: 41-54.
227. LAWRANCE R.A. and BURK R.F., 1976. Glutathion Peroxidase Activity in Selenium Deficient Rat Liver, *Biochem. Biophys. Res. Com.*, 71(4), 952–958.
228. Pekiner BD, E vitaminin antioksidan rolü. *Ankara Ecz. Fak. Derg.* 32 (4) 243-267,2003
229. CHOW, C.K., 1991. Vitamin E and Oxidative Stress. *Free Radic. Biol. Med.*, 11(2),215-232.
230. AYDIN, A., SAYAL, A. ve İŞİMER, A., 2001. *Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemi*, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Ayın Kitabı.

231. LUNEC, J. and BLAKE, D., 1990. Oxygen Free Radicals: Their Relevance to Disease Processes. In: Cohen R.D., Lewis, B., Albert, K.G.M.M. The Metabolic and Molecular Basis of Acquired Disease. Balliere Tindall, London, 189-212.
232. MURRAY, R.K., MAYES, P.A., GRANNER, D.K. and RADWELL, V.W., 1993. Harper'in Biyokimyası. Çevirenler: Prof. Dr. Gülriz Mentec, Prof.Dr. Biltan Ersöz. Baris Kitabevi.
233. EREL O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. Clin Biochem 2004; 37: 112-119.
234. AYCICEK A, EREL O, KOCYIGIT A. Increased oxidative stress in infants exposed to passive smoking. Eur J Pediatr 2005;164: 775-778.
235. Gilbert DL, Colton CA. Reactive oxygen species in biological systems: An interdisciplinary approach. Kluwer Academic Publishers,2002.
236. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. Lab Invest 1982;47:412-426.
237. Tanaka H, Waga S, Sugimoto K, Kakizaki Y, Yokoyama M. Capacity of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> release from monocytes in steroid-sensitive nephrotic syndrome. Tohoku J Exp Med. 1996 Mar;178(3):271-7.
238. Kamireddy R, Kavuri S, Devi S, Vemula H, Chandana D, Harinarayanan S, James R, Rao A. Oxidative stress in pediatric nephrotic syndrome. Clin Chim Acta. 2002 Nov;325(1-2):147-50
239. Yazıcı C, Köse K. Derleme: Kronik böbrek yetmezliğinde oksidatif stres biyomarkırları. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi, 2004, Cilt 13, Sayı 3, Sayfa(lar) 117-124.
240. Öztürk H,Eren N.Diabetes mellitusta paraoksonaz aktivitesi ve AOPP düzeyleri. Tıbbi biyokimya uzmanlık tezi 2008.

241. Mishra OP, Gupta AK, Prasad R, Ali Z, Upadhyah RS, Mishra SP, Tiwary NK, Schaefer FS. Antioxidant status of children with idiopathic nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 2011 Feb;26(2):251-6.
242. Davutoğlu M, Koçyiğit Y, Tutan M. Paraoxonase, total antioxidant response, and peroxide levels in children with steroid sensitive nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 2005 Sep;20(9):1279-84.
243. Bulucu F, Vural A, Aydın A, Sayal A. Oxidative stress status in adults with nephrotic syndrome. *Clin Nephrol.* 2000 Mar;53(3):169-73
244. Kinugasa S, Tojo A, Sakai T, Tsumura H, Takahashi M, Hirata Y, Fujita T. Selective albuminuria via podocyte albumin transport in puromycin nephrotic rats is attenuated by an inhibitor of NADPH oxidase. *Kidney Int.* 2011 Dec;80(12):1328-38
245. Matsumura H, Ashida A, Hirano K, Nakakura H, Tamai H. Protective effect of radical scavenger edaravone against puromycin nephrosis. *Clin Nephrol.* 2006 Dec;66(6):405-10.
246. Zima T, Tesar V, Crkovska J, Stejskalova A, Platenik J, Teminova J, Nemecek K, Janebova M, Stipek S. ICRF-187(Dexrazoxan) protects from adriamycin-induced nephrotic syndrome in rats. *Nephrol Dial Transplant.* 1998 Aug;13(8):1975-9
247. Zima T, Tesar V, Rychlik I, Nemecek K, Poledne R, Teminova J, Stipek S, Merta M. The influence of pefloxacin on experimental adriamycin-induced nephrotic syndrome in rats. *Ren Fail.* 1996 Mar;18(2):195-9
248. Seydanoğlu A. Uzmanlık tezi: Deneysel sepsis modelinde oksidan-antioksidan sistem ve akciğer histopatolojisi üzerine oktreotidin doza bağımlı etkileri.Konya,2006.
249. Niedermühlbichler M, Wiedermann CJ. Suppression of superoxide release from human monocytes by somatostatin-related peptides. *Regul Pept.*1992 Sep 3;41(1):39-47

250. Czako L, Hegyi P, Takacs T, Gog C, Farkas A, Mandy Y, Varga IS, Lonovics J. Effects of octreotide on acute necrotizing pancreatitis in rabbits. *World J Gastroenterol.* 2004 Jul 15;10(14):2082-6
251. Fydryk J, Jacobson E, Kurzawska O, Malecka G, Gonet B, Urasinski T, Brodkiewicz A, Bukowska H. Antioxidant status of children with steroid sensitive nephrotic syndrome.